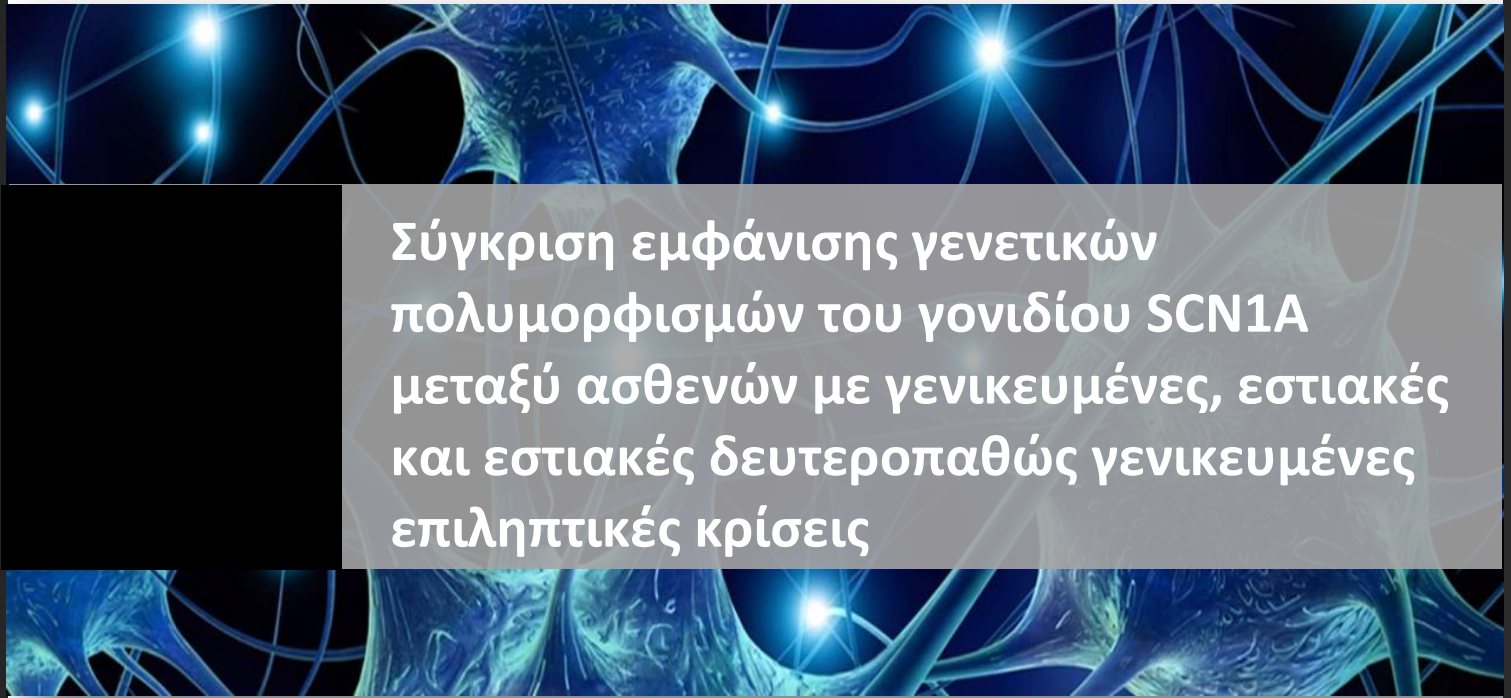




ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ - ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

ΜΔΕ: ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΝΕΩΝ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ
ΕΝΩΣΕΩΝ - ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ «ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑ»



Σύγκριση εμφάνισης γενετικών
πολυμορφισμών του γονιδίου SCN1A
μεταξύ ασθενών με γενικευμένες, εστιακές
και εστιακές δευτεροπαθώς γενικευμένες
επιληπτικές κρίσεις

Τσικρικά Δανάη

ΑΘΗΝΑ 2019

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

1. Δρακούλης Νικόλαος, Αναπληρωτής Καθηγητής του τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (Επιβλέπων)
2. Ανδρεάδου Ιωάννα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του τομέα Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
3. Παπαπετρόπουλος Ανδρέας, Καθηγητής του τομέα Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε το ακαδημαϊκό έτος 2018-2019, 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 Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Καταρχάς, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιστημονικό υπεύθυνο της εργασίας μου, τον Αναπληρωτή Καθηγητή Νικόλαο Δρακούλη, για την ευκαιρία που μου έδωσε να εργαστώ στη συγκεκριμένη ομάδα, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και τις συμβουλές του κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας.

Ακόμη, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην Ομάδα Α΄ Νευροχειρουργικής Κλινικής του Γενικού Νοσοκομείου «Ο Ευαγγελισμός» για την παραχώρηση ασθενών για τη διεξαγωγή της παρούσας μελέτης. Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στον Αναπληρωτή Καθηγητή και Νευρολόγο της Α΄ Νευροχειρουργικής Κλινικής, Στέργιο-Στυλιανό Γκατζώνη, για την πολύτιμη βοήθειά του και την επιστημονική του καθοδήγηση.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη μεταδιδακτορική ερευνήτρια Μάρθα-Σπυριδούλα Κατσαρού για τις συμβουλές και υποδείξεις της που ήταν πολύ σημαντικές για την ολοκλήρωση της εργασίας μου. Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω την υποψήφια διδάκτορα Μαρία Λάγιου για την υποστήριξή της, την επίβλεψη στο πειραματικό κομμάτι της εργασίας και τη βοήθειά της κατά τη διαμόρφωση του κειμένου.

Επιπλέον, δε θα μπορούσα να παραλείψω τα υπόλοιπα μέλη της ερευνητικής ομάδας, τα οποία θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά για την άριστη συνεργασία που είχαμε.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στους φίλους και στην οικογένειά μου, για την αμέριστη και ανιδιοτελή υποστήριξή τους σε κάθε μου βήμα.

Πίνακας Περιεχομένων

Ευρετήριο Εικόνων	7
Ευρετήριο Πινάκων.....	9
Περίληψη	13
Abstract.....	15
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	17
1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	18
1.1 Ιστορική αναδρομή.....	18
1.2 Ορισμός επιληψίας και επιληπτικών κρίσεων	20
1.3 Ταξινόμηση Επιληπτικών Κρίσεων και Συνδρόμων	21
1.3.1 Ταξινόμηση Επιληπτικών Κρίσεων	21
1.3.2 Ταξινόμηση Επιληπτικών Συνδρόμων	24
1.4 Γενικευμένη Επιληψία	26
1.5 Εστιακή Επιληψία	29
1.5.1 Σύνθετες εστιακές κρίσεις	30
1.5.2 Εστιακές κρίσεις με δευτεροπαθή γενίκευση	30
1.6 Επιδημιολογία της επιληψίας	32
1.7 Αιτιολογία της επιληψίας	34
1.8 Επιληπτογένεση	36
1.8.1 Κυτταρικοί μηχανισμοί επιληπτογένεσης	38
1.8.2 Μοριακοί μηχανισμοί επιληπτογένεσης	39
1.8.3 Βιοδείκτες Επιληπτογένεσης	40
1.8.3.1 Μοριακοί βιοδείκτες	41
1.8.3.2 Ηλεκτρογραφικοί βιοδείκτες.....	41
1.8.3.3 Απεικονιστικοί βιοδείκτες	41
1.9 Αντιεπιληπτικά Φάρμακα (ΑΕΦ)	41
1.9.1 Ιστορία Αντιεπιληπτικών Φαρμάκων	41
1.9.2 Μηχανισμός Δράσης Αντιεπιληπτικών Φαρμάκων	44
1.9.2.1 Ενίσχυση της ανασταλτικής δράσης του GABA	44
1.9.2.2 Μείωση της διεγερτικής δράσης του γλουταμινικού οξέος.....	46
1.9.2.3 Τροποποίηση της ιοντικής αγωγιμότητας στα κανάλια νατρίου	46

1.9.2.4 Τροποποίηση της ιοντικής αγωγιμότητας στα κανάλια ασβεστίου	48
1.9.2.5 Σύνδεση με την SV2A συναπτική πρωτεΐνη	49
1.9.2.6 Τροποποίηση της ιοντικής αγωγιμότητας στα κανάλια καλίου	49
1.9.2.7 Τροποποίηση της ιοντικής αγωγιμότητας στα κανάλια HCN	50
1.9.2.8 Φάρμακα με πολλαπλό μηχανισμό δράσης	50
1.9.3 Ανθεκτική Επιληψία	52
1.9.4 Ανεπιθύμητες Ενέργειες Αντιεπιληπτικών Φαρμάκων	52
1.10 Φαρμακογονιδιοματική	55
1.10.1 Σημειακοί Νουκλεοτιδικοί Πολυμορφισμοί (ΣΝΠ)	57
1.10.2 Γονίδιο <i>SCN1A</i>	58
1.10.2.1 Δομή τασεοευαίσθητων καναλιών νατρίου	58
1.10.2.2 Μεταλλάξεις στο γονίδιο <i>SCN1A</i>	60
1.10.3 Πολυμορφισμός rs3812718	61
1.10.4 Πολυμορφισμός rs2298771	64
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	67
1.11 Σκοπός εργασίας	68
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	69
2.1 Δείγματα ασθενών	69
2.1.1 Κριτήρια εισαγωγής	70
2.1.2 Κριτήρια αποκλεισμού	70
2.1.3 Δημογραφικά στοιχεία ασθενών	71
2.2 Λήψη δείγματος και μεταφορά	74
2.3 Επεξεργασία αίματος	74
2.3.1 Αρχή μεθόδου	74
2.3.2 Αντιδραστήρια-Υλικά-Εξοπλισμός	75
2.3.3 Πρωτόκολλο	75
2.4 Απομόνωση DNA	76
2.4.1 Αρχή μεθόδου	76
2.4.2 Αντιδραστήρια-Υλικά-Εξοπλισμός	77
2.4.3 Πρωτόκολλο	77
2.5 Φωτομέτρηση δειγμάτων	78
2.5.1 Αρχή μεθόδου	78

2.5.2 Αντιδραστήρια-Υλικά-Εξοπλισμός	79
2.5.3 Πρωτόκολλο	80
2.6 Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης - PCR.....	80
2.6.1 Αρχή μεθόδου PCR.....	80
2.6.2 Αρχή μεθόδου Real-Time PCR.....	82
2.6.2.1 Διαδικασία Real-Time PCR με LightSNiP	83
2.6.2.2 Αντιδραστήρια-Υλικά-Εξοπλισμός.....	84
2.6.2.3 Πρωτόκολλο	85
2.7 Στατιστική ανάλυση	86
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	87
3.1 Κατανομή συχνοτήτων για τους πολυμορφισμούς rs2298771 και rs3812718 στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό	87
3.1.1 Κατανομή συχνοτήτων του πολυμορφισμού rs2298771	87
3.1.2 Κατανομή συχνοτήτων του πολυμορφισμού rs3812718	88
3.2 Συσχέτιση των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 με την εμφάνιση επιληψίας.....	90
3.2.1 Συσχέτιση του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση επιληψίας	90
3.2.2 Συσχέτιση του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση επιληψίας	91
3.3 Κατανομή συχνοτήτων για τους πολυμορφισμούς rs2298771 και rs3812718 μεταξύ διαφορετικών επιληπτικών φαινοτύπων	93
3.3.1 Κατανομή γονοτύπων των πολυμορφισμών μεταξύ διαφορετικών επιληπτικών φαινοτύπων	93
3.3.2 Κατανομή αλληλομόρφων των πολυμορφισμών μεταξύ διαφορετικών επιληπτικών φαινοτύπων	95
3.4 Συσχέτιση των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 με την εμφάνιση διαφορετικών επιληπτικών φαινοτύπων	96
3.4.1 Συσχέτιση των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης επιληψίας	97
3.4.2 Συσχέτιση των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας	99
3.5 Σύγκριση εμφάνισης των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 μεταξύ διαφορετικών επιληπτικών φαινοτύπων.....	101
3.5.1 Σύγκριση εμφάνισης των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 μεταξύ γενικευμένης και εστιακής επιληψίας.....	101

3.5.2 Σύγκριση εμφάνισης των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 μεταξύ εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης και εστιακής επιληψίας.....	103
3.5.3 Σύγκριση εμφάνισης των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 μεταξύ γενικευμένης και εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας	106
3.6 Κατανομή συχνοτήτων για το συνδυασμό γονοτύπων των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό	109
3.7 Συσχέτιση συνδυασμού γονοτύπων των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 με την εμφάνιση επιληψίας	111
3.8 Κατανομή συχνοτήτων για το συνδυασμό γονοτύπων των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 στους διάφορους επιληπτικούς φαινοτύπους	112
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	114
4.1 Συσχέτιση των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 με την εμφάνιση επιληψίας.....	114
4.2 Συσχέτιση των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 με την εμφάνιση διαφορετικών επιληπτικών φαινοτύπων.....	116
4.3 Σύγκριση εμφάνισης των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 μεταξύ διαφορετικών επιληπτικών φαινοτύπων.....	117
4.4 Συσχέτιση συνδυασμού γονοτύπων των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 με την εμφάνιση επιληψίας	118
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	119
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	120
Παράρτημα Α.....	129
Παράρτημα Β	134

Ευρετήριο Εικόνων

Εικόνα 1.1: Χρονοδιάγραμμα με ιστορική αναδρομή της επιληψίας	20
Εικόνα 1.2: Πρότυπο ταξινόμησης επιληπτικών κρίσεων σύμφωνα με την ILAE 1989	22
Εικόνα 1.3: Διευρυμένη έκδοση της ταξινόμησης επιληπτικών κρίσεων σύμφωνα με την ILAE 2017	24
Εικόνα 1.4: Χαρακτηριστικά ασθενούς κατά τη διάρκεια αφαιρετικής κρίσης.....	27
Εικόνα 1.5: Χαρακτηριστικό πρότυπο αιχμής-κύματος στο ΗΕΓ ασθενούς με αφαιρετική κρίση	27
Εικόνα 1.6: Χαρακτηριστικά ασθενούς κατά τη διάρκεια μιας τονικοκλονικής κρίσης	28
Εικόνα 1.7: Χαρακτηριστικά ασθενούς με σύνθετη εστιακή κρίση	31
Εικόνα 1.8: Διαφορές στον επιπολασμό, στην επίπτωση και στο έλλειμμα θεραπείας της επιληψίας σε διάφορες αναπτυγμένες και αναπτυσσόμενες χώρες	33
Εικόνα 1.9: Διαφορετικές θεωρήσεις της επιληπτογένεσης	38
Εικόνα 1.10: Σχηματική απεικόνιση των βασικών γεγονότων που συμβάλλουν στην επιληπτογένεση	39
Εικόνα 1.11: Χρονολογική απεικόνιση εισαγωγής αντιεπιληπτικών φαρμάκων στην αγορά	43
Εικόνα 1.12: Σχηματική αναπαράσταση της ανασταλτικής νευρικής σύναψης του GABA-A υποδοχέα και τρόπος δράσης διάφορων αντιεπιληπτικών φαρμάκων σε αυτήν	45
Εικόνα 1.13: Φυσιολογία τασεοεξαρτώμενων καναλιών νατρίου	47
Εικόνα 1.14: Σχηματική αναπαράσταση μιας διεγερτικής νευρικής σύναψης και τρόπος δράσης διάφορων αντιεπιληπτικών φαρμάκων σε αυτήν	51
Εικόνα 1.15: Τα διάφορα στάδια της πορείας ενός αντιεπιληπτικού φαρμάκου στον οργανισμό και η πιθανότητα διαφοροποίησής τους λόγω ύπαρξης κάποιου πολυμορφισμού	57
Εικόνα 1.16: Θέση γονιδίου <i>SCN1A</i> πάνω στο χρωμόσωμα	58
Εικόνα 1.17: Σχηματική απεικόνιση της α-υπομονάδας της Nav1.1 ισομορφής του τασεοευαίσθητου καναλιού νατρίου σε σύνδεση με τις β_1 και β_2 υπομονάδες	61
Εικόνα 1.18: Σχηματική αναπαράσταση της επίδρασης του πολυμορφισμού rs3812718.....	62
Εικόνα 2.1: Ποσοστό συμμετοχής ασθενών με γενικευμένη επιληψία ανάλογα με το φύλο	71
Εικόνα 2.2: Ποσοστό συμμετοχής ασθενών με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία ανάλογα με το φύλο	71
Εικόνα 2.3: Ηλικιακή κατανομή ασθενών με γενικευμένη επιληψία	71
Εικόνα 2.4: Ηλικιακή κατανομή ασθενών με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία	72

Εικόνα 2.5: Κατανομή ποσοστού εμφάνισης οικογενειακού ιστορικού της νόσου σε ασθενείς με γενικευμένη επιληψία	72
Εικόνα 2.6: Κατανομή ποσοστού εμφάνισης οικογενειακού ιστορικού της νόσου σε ασθενείς με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία.....	72
Εικόνα 2.7: Κατανομή ποσοστού καπνιστών, μη καπνιστών και πρώην καπνιστών στο δείγμα των ασθενών με γενικευμένη επιληψία	73
Εικόνα 2.8: Κατανομή ποσοστού καπνιστών, μη καπνιστών και πρώην καπνιστών στο δείγμα των ασθενών με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία	73
Εικόνα 2.9: Σχηματική απεικόνιση φυγοκεντρημένου αίματος με προσθήκη αντιπηκτικού EDTA	75
Εικόνα 2.10: Διαδικασία απομόνωσης DNA με τη χρήση ειδικών στηλών με μεμβράνη	76
Εικόνα 2.11: Σχηματική αναπαράσταση ενός κύκλου της μεθόδου PCR	82
Εικόνα 2.12: Διαδικασία ανάλυσης καμπυλών τήξης	84
Εικόνα 2.13: Θερμικός κυκλοποιητής Light Cycler 480	85
Εικόνα 3.1: Κατανομή των γονοτύπων του πολυμορφισμού rs2298771 σε επιληπτικούς ασθενείς και σε γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό	87
Εικόνα 3.2: Κατανομή των αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs2298771 σε επιληπτικούς ασθενείς και σε γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό	88
Εικόνα 3.3: Κατανομή των γονοτύπων του πολυμορφισμού rs3812718 σε επιληπτικούς ασθενείς και σε γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό	89
Εικόνα 3.4: Κατανομή των αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs3812718 σε επιληπτικούς ασθενείς και σε γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό	90
Εικόνα 3.5: Διάγραμμα κατανομής γονοτύπων του πολυμορφισμού rs2298771 για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους	93
Εικόνα 3.6: Διάγραμμα κατανομής γονοτύπων του πολυμορφισμού rs3812718 για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους	94
Εικόνα 3.7: Διάγραμμα κατανομής αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs2298771 για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους	95
Εικόνα 3.8: Διάγραμμα κατανομής αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs3812718 για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους	96
Εικόνα 3.9: Κατανομή συνδυασμού γονοτύπων των πολυμορφισμών rs2298771: rs3812718 σε επιληπτικούς ασθενείς και σε γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό	109
Εικόνα 3.10: Διάγραμμα κατανομής συνδυασμού γονοτύπων των πολυμορφισμών rs2298771: rs3812718 κατά αύξουσα σειρά σε επιληπτικούς ασθενείς και σε γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό.....	110
Εικόνα 3.11: Διάγραμμα κατανομής συνδυασμού γονοτύπων των πολυμορφισμών rs2298771:rs3812718 για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους	113

Ευρετήριο Πινάκων

Πίνακας 1.1: Αντιεπιληπτικές δραστικές ουσίες και τα αντίστοιχα ονόματα των εμπορικών σκευασμάτων που δρουν ενισχύοντας την ανασταλτική δράση του GABA	45
Πίνακας 1.2: Αντιεπιληπτικές δραστικές ουσίες και τα αντίστοιχα ονόματα των εμπορικών σκευασμάτων που δρουν μειώνοντας την διεγερτική δράση του γλουταμινικού οξέος	46
Πίνακας 1.3: Αντιεπιληπτικές δραστικές ουσίες και τα αντίστοιχα ονόματα των εμπορικών σκευασμάτων που δρουν τροποποιώντας την ιοντική αγωγιμότητα καναλιών νατρίου	48
Πίνακας 1.4: Αντιεπιληπτικές δραστικές ουσίες και τα αντίστοιχα ονόματα των εμπορικών σκευασμάτων που δρουν τροποποιώντας την ιοντική αγωγιμότητα καναλιών ασβεστίου	49
Πίνακας 1.5: Ανεπιθύμητες ενέργειες αντιεπιληπτικών φαρμάκων, ταξινομημένες ανά κατηγορία	54
Πίνακας 2.1: Αναλογία αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε αντίδραση PCR	86
Πίνακας 2.2: Πρόγραμμα Real-Time PCR με τον θερμικό κυκλοποιητή Light Cyclor 480	86
Πίνακας 3.1: Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs2298771 στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό	87
Πίνακας 3.2: Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs2298771 στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό	88
Πίνακας 3.3: Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs3812718 στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό	89
Πίνακας 3.4: Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs3812718 στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό	89
Πίνακας 3.5: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου AA έναντι των GG+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση επιληψίας	90
Πίνακας 3.6: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου GG έναντι των AA+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση επιληψίας	91
Πίνακας 3.7: Έλεγχος συσχέτισης των αλληλομόρφων A και G του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση επιληψίας	91
Πίνακας 3.8: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου CC έναντι των TT+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση επιληψίας	92
Πίνακας 3.9: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου TT έναντι των CC+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση επιληψίας	92
Πίνακας 3.10: Έλεγχος συσχέτισης των αλληλομόρφων C και T του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση επιληψίας	92

Πίνακας 3.11: Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs2298771 για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους	93
Πίνακας 3.12: Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs3812718 για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους	94
Πίνακας 3.13: Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs2298771 για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους	95
Πίνακας 3.14: Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs3812718 για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους	96
Πίνακας 3.15: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου AA έναντι των GG+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης επιληψίας	97
Πίνακας 3.16: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου GG έναντι των AA+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης επιληψίας	97
Πίνακας 3.17: Έλεγχος συσχέτισης των αλληλομόρφων A και G του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης επιληψίας	97
Πίνακας 3.18: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου CC έναντι των TT+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης επιληψίας	98
Πίνακας 3.19: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου TT έναντι των CC+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης επιληψίας	98
Πίνακας 3.20: Έλεγχος συσχέτισης των αλληλομόρφων C και T του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης επιληψίας	98
Πίνακας 3.21: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου AA έναντι των GG+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας	99
Πίνακας 3.22: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου GG έναντι των AA+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας	99
Πίνακας 3.23: Έλεγχος συσχέτισης των αλληλομόρφων A και G του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας	99
Πίνακας 3.24: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου CC έναντι των TT+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας	100
Πίνακας 3.25: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου TT έναντι των CC+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας	100
Πίνακας 3.26: Έλεγχος συσχέτισης των αλληλομόρφων C και T του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας	100
Πίνακας 3.27: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου AA έναντι των GG+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας	101

Πίνακας 3.28: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου GG έναντι των AA+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας	101
Πίνακας 3.29: Έλεγχος συσχέτισης των αλληλομόρφων A και G του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας	102
Πίνακας 3.30: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου CC έναντι των TT+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας	102
Πίνακας 3.31: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου TT έναντι των CC+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας	103
Πίνακας 3.32: Έλεγχος συσχέτισης των αλληλομόρφων C και T του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας	103
Πίνακας 3.33: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου AA έναντι των GG+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας	104
Πίνακας 3.34: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου GG έναντι των AA+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας	104
Πίνακας 3.35: Έλεγχος συσχέτισης των αλληλομόρφων A και G του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας	104
Πίνακας 3.36: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου CC έναντι των TT+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας	105
Πίνακας 3.37: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου TT έναντι των CC+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας	105
Πίνακας 3.38: Έλεγχος συσχέτισης των αλληλομόρφων C και T του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας	106
Πίνακας 3.39: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου AA έναντι των GG+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας	106
Πίνακας 3.40: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου GG έναντι των AA+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας	107
Πίνακας 3.41: Έλεγχος συσχέτισης των αλληλομόρφων A και G του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας.....	107

Πίνακας 3.42: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου CC έναντι των TT+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας.....	107
Πίνακας 3.43: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου TT έναντι των CC+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας	108
Πίνακας 3.44: Έλεγχος συσχέτισης των αλληλομόρφων C και T του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας.....	108
Πίνακας 3.45: Συχνότητα εμφάνισης των συνδυασμών γονοτύπων για τους πολυμορφισμούς rs2298771 και rs3812718 στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό	109
Πίνακας 3.46: Έλεγχος συσχέτισης των διάφορων πιθανών συνδυασμών γονοτύπων των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 με την εμφάνιση επιληψίας	111
Πίνακας 3.47: Συχνότητα εμφάνισης των συνδυασμών γονοτύπων για τους πολυμορφισμούς rs2298771 και rs3812718 στους διάφορους επιληπτικούς φαινοτύπους	112

Περίληψη

Η επιληψία είναι μια από τις πιο κοινές χρόνιες νευρολογικές διαταραχές, αφού επηρεάζει το 1 με 2% του παγκόσμιου πληθυσμού. Χαρακτηρίζεται από επαναλαμβανόμενες, απρόβλεπτες και μαζικές εκφορτίσεις εγκεφαλικών νευρώνων που διακόπτουν τη φυσιολογική λειτουργία του εγκεφάλου.

Σύμφωνα με τη Διεθνή Οργάνωση κατά της Επιληψίας (ILAE), οι επιληπτικές κρίσεις ταξινομούνται κυρίως με βάση τον τύπο έναρξης της κρίσης (γενικευμένης, εστιακής, άγνωστης έναρξης) αλλά και το επίπεδο συνείδησης που επηρεάζεται. Στις γενικευμένες κρίσεις γίνεται προσβολή και των δύο εγκεφαλικών ημισφαιρίων με ταυτόχρονη απώλεια συνείδησης, ενώ στις εστιακές κρίσεις οι επιληπτικοί σπασμοί ξεκινούν και περιορίζονται στα νευρωνικά δίκτυα ενός εγκεφαλικού ημισφαιρίου. Παράλληλα, μια κρίση μπορεί να είναι εστιακή με δευτεροπαθή γενίκευση, δηλαδή να έχει εστιακή έναρξη και να εξελίσσεται σε αμφοτερόπλευρη τονικοκλονική.

Σημειακοί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί σε γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες-στόχους των αντιεπιληπτικών φαρμάκων έχουν συσχετισθεί με την εμφάνιση επιληψίας, αλλά ελάχιστες είναι οι μελέτες στις οποίες γίνεται διαφοροποίηση της επίδρασης των πολυμορφισμών στις επιμέρους κατηγορίες επιληψίας.

Το γονίδιο *SCN1A* ανήκει σε μία οικογένεια γονιδίων που παρέχουν τις πληροφορίες για τη δημιουργία της α-υπομονάδας μιας συγκεκριμένης ισομορφής τασσεοευαίσθητων καναλιών νατρίου (Nav1.1). Τα κανάλια αυτά είναι απαραίτητα για τη δημιουργία και διάδοση των δυναμικών δράσης στα μυϊκά κύτταρα και τους νευρώνες, και κατ' επέκταση για τη διεγερσιμότητα των κυττάρων.

Αφού το γονίδιο αυτό είναι άρρηκτα συνδεδεμένο με την επιληπτογένεση, η παρούσα μελέτη εστιάζει στη συσχέτιση δύο πολυμορφισμών του τόσο με την εμφάνιση επιληψίας όσο και με τη διαφοροδιάγνωση μεταξύ διαφορετικών επιληπτικών φαινοτύπων: του rs3812718 (C>T - δημιουργεί μια εναλλακτική θέση ματίσματος) και του rs2298771 (A>G - προκαλεί αντικατάσταση ενός αμινοξέος).

Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν 52 ασθενείς με γενικευμένη επιληψία και 50 ασθενείς με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία, οι οποίοι γονοτυπήθηκαν με Real-Time PCR (LightSNiP Assay) για τους πολυμορφισμούς rs2298771 και rs3812718 του γονιδίου *SCN1A*. Παράλληλα, χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα για 114 ασθενείς με σύνθετη εστιακή επιληψία από προηγούμενη εργασία και για γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό από τη διαδικτυακή βάση Ensembl. Έγινε ανωνυμοποίηση και αποταυτοποίηση όλων των δειγμάτων, ενώ είχε προηγηθεί ενυπόγραφη συγκατάθεση των ασθενών για τη συμμετοχή τους στη μελέτη. Η στατιστική ανάλυση έγινε με έλεγχο χ^2 σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05, μέσω του λογισμικού SPSS.

Αρχικά, διερευνήθηκε η συσχέτιση των δύο πολυμορφισμών με την εμφάνιση επιληψίας και βρέθηκε ότι οι γονότυποι GG+AG του rs2298771 εμφανίζονται 1,65 φορές συχνότερα από τον AA στους ασθενείς με επιληψία σε σχέση με το γενικό πληθυσμό (OR=1,65, 95%CI=1,19-2,28, $p=0,003$), με το αλληλόμορφο G να εμφανίζεται 1,36 φορές συχνότερα από το A (OR=1,36, 95%CI=1,07-1,72, $p=0,01$). Παράλληλα, ο συνδυασμός γονοτύπων AG/CT των rs2298771/rs3812718 εμφανίζεται 1,65 φορές συχνότερα από τους υπόλοιπους συνδυασμούς στο συνολικό δείγμα ασθενών με επιληψία σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό (OR=1,65, 95%CI=1,19-2,29, $p=0,003$), ενώ ο συνδυασμός AA/CT εμφανίζεται κατά 1,86 φορές συχνότερα από τους υπόλοιπους συνδυασμούς στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό σε σχέση με τους επιληπτικούς ασθενείς (OR=0,537, 1/OR=1,86, 95%CI=0,323-0,892, $p=0,015$).

Όσον αφορά τη διαφοροποίηση μεταξύ των επιληπτικών φαινοτύπων, παρατηρήθηκε μια τάση επικράτησης των γονοτύπων TT+CT του rs3812718 κατά 2,3 φορές στη γενικευμένη επιληψία (OR=2,3, 95%CI=0,93-5,65, $p=0,065$) και του αλληλομόρφου T κατά 1,5 φορές στην εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία (OR=1,54, 95%CI=0,96-2,48, $p=0,073$) σε σχέση με την εστιακή επιληψία.

Επομένως, υπάρχει υψηλή συσχέτιση μεταξύ του G αλληλομόρφου του rs2298771 και της εμφάνισης επιληψίας στο δείγμα μας, ενώ το αλληλόμορφο T του rs3812718 φαίνεται να σχετίζεται με την εμπλοκή δικτύων που υπόκεινται της γενίκευσης της επιληπτικής δραστηριότητας, είτε πρωτοπαθώς είτε δευτεροπαθώς. Η αύξηση του αριθμού του δείγματος θα οδηγήσει στην επικύρωση των εξαγόμενων συμπερασμάτων αλλά και πιθανόν στην εύρεση ενός δείκτη διαφοροδιάγνωσης μεταξύ των διάφορων επιληπτικών φαινοτύπων.

Abstract

Epilepsy is one of the most common chronic neurological disorders, since it affects 1 to 2% of the world's population. It is characterized by repeated, unpredictable, abnormal and massive discharges of neurons that disrupt the normal brain function.

According to the International League Against Epilepsy (ILAE), the key criterion for the classification of seizures is the type of onset (generalized, focal, unknown onset) and the level of consciousness that is affected. In generalized seizures, epileptic activity spreads to both brain hemispheres with loss of consciousness, whereas in focal seizures it is confined to the neural networks of one brain hemisphere. Moreover, an epileptic seizure can be focal secondarily generalized, with a focal onset and development into a bilateral tonic-clonic seizure.

Single nucleotide polymorphisms in genes that encode target proteins of antiepileptic drugs have been associated with epilepsy, but there are only a few studies that differentiate the effect of polymorphisms on different epilepsy groups.

The *SCN1A* gene belongs to a family of genes that provides instructions for generating the α -subunit of a sodium channel's isoform, which is called Nav1.1. These channels are necessary for the production and dissemination of action potentials in muscle cells and neurons, and therefore they play a crucial role on cell excitability.

Since this gene is undoubtedly linked to epileptogenesis, the present study focuses on the association of two genetic polymorphisms of *SCN1A* with epilepsy and with differential diagnosis between several epileptic phenotypes: rs3812718 (C>T – it creates an alternative splice site) and rs2298771 (A>G – it causes an amino acid substitution).

This study involved 52 patients with generalized epilepsy and 50 patients with focal secondarily generalized epilepsy, which were genotyped with Real-Time PCR (LightSNiP Assay) for the rs2298771 and rs3812718 polymorphisms of the *SCN1A* gene. At the same time, data of 114 patients with complex partial epilepsy were used from a previous study and data of the general european population from the Ensembl website. All participant patients signed an informed consent for the study and their samples were anonymised. Statistical analysis was performed with χ^2 test (chi-square test) at a significance level of 0.05, via SPSS software.

First of all, the possible correlation of the two genetic polymorphisms with epilepsy was investigated and the GG+AG genotypes of rs2298771 were found to be 1.65 times more common than AA in epilepsy patients compared to the general

population (OR=1,65, 95%CI=1,19-2,28, p=0,003), with G allele appearing 1.36 times more often than A (OR=1,36, 95%CI=1,07-1,72, p=0,01).

At the same time, the genotypic combination AG/CT of rs2298771/rs3812718 was found to be 1.65 times more common in epilepsy patients compared to the general population (OR=1,65, 95%CI=1,19-2,29, p=0,003), while the combination AA/CT appeared 1.86 times more often in the general population compared to epileptic patients (OR=0,537, 1/OR=1,86, 95%CI=0,323-0,892, p=0,015).

Furthermore, the appearance of the two genetic polymorphisms was compared between different epileptic phenotypes. A prevalence of TT+CT genotypes of rs3812718 was observed 2.3 times more often in generalized epilepsy (OR=2,3, 95%CI=0,93-5,65, p=0,065) and 1.5 times more often for T allele in focal secondarily generalized epilepsy (OR=1,54, 95%CI=0,96-2,48, p=0,073) compared to focal epilepsy.

Therefore, there is a high correlation between the polymorphic G allele of rs2298771 and the appearance of epilepsy in our sample. Moreover, the polymorphic T allele of rs3812718 appears to be associated with the generalization of epileptic activity, either primarily or secondarily. Increasing the number of the sample will not only lead to the validation of these conclusions, but also to the possible discovery of a differential diagnosis marker between the different epileptic phenotypes.

.

•ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ•

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ιστορική αναδρομή

Η ιστορία της επιληψίας έχει ρίζες πολύ βαθιά μέσα στο χρόνο. Ήδη από το 2000 π.Χ. στην περιοχή της Μεσοποταμίας εντοπίζεται η πρώτη αναφορά επιληπτικής κρίσης. Συγκεκριμένα, γίνεται αναφορά για έναν ασθενή ο οποίος έχει τα μάτια του ανοιχτά, τεταμένα χέρια και πόδια και έλλειψη συνείδησης, χωρίς βέβαια η κατάσταση αυτή να μπορεί να αιτιολογηθεί επιστημονικά. Στη συνέχεια, το 1700 π.Χ. αναφέρεται η έννοια της επιληψίας στον κώδικα του Χαμουραμπί, ενώ 700 χρόνια αργότερα παρουσιάζονται στοιχεία για την πρόγνωση, τη διάγνωση και τη θεραπεία της ασθένειας σε ένα από τα αρχαιότερα Βαβυλωνιακά ιατρικά κείμενα. Μέχρι τότε, η άγνοια γύρω από την αιτιολογία της ασθένειας είχε οδηγήσει στην πεποίθηση ότι συνδέεται με υπερφυσικές δυνάμεις που κυριεύουν το ανθρώπινο σώμα.^{1,2}

Η λέξη *επιληψία* έχει τις ρίζες της στην Αρχαία Ελλάδα (600-200 π.Χ.) και προέρχεται από το ελληνικό ρήμα *επιλαμβάνω*, που σημαίνει «αδράττω, κατέχω ή προσβάλλω». Παλαιότερα, διαφορετικοί συγγραφείς αναφέρονταν στην πάθηση αυτή με πολλά ονόματα: σεληνιασμός, δαιμονισμός, ιερά νόσος και Ηράκλεια νόσος (διότι επηρέασε τον γνωστό από τη μυθολογία Ηρακλή). Γενικά, κυριαρχούσε η υπερφυσική θεώρηση της επιληψίας: θεωρείται ως τιμωρία από τους θεούς, είναι μεταδοτική και θεραπεύεται μόνο με θυσία του προσβεβλημένου προσώπου.³

Η μετάβαση από τη μυστικιστική στην επιστημονική υπόσταση της ασθένειας έγινε από τον Ιπποκράτη (460-390 π.Χ.), ο οποίος στο έργο του «Περί Ιερής Νόσου» ορίζει την επιληψία ως μια κληρονομική νόσο που προσβάλλει τον εγκέφαλο, ενώ στην ίδια κατεύθυνση στράφηκαν ο Πλάτωνας (428–348 π.Χ.) και ο Αριστοτέλης (384–322 π.Χ.).^{1,3}

Βέβαια, παρά την σαφή κλινική οντότητα που αποδόθηκε στην επιληψία, συνέχισαν να κυριαρχούν μυστικιστικές αντιλήψεις για πολλούς αιώνες, μέχρι και την περίοδο του Μεσαίωνα (5^{ος} – 15^{ος} αιώνες). Οι επιληπτικοί ασθενείς χαρακτηρίζονταν ως «μάγοι» ή «κυριευμένοι» και μπορούσαν να θεραπευθούν μόνο με ακραίες πρακτικές (πχ. εξορκισμός, διάνοιξη του κρανίου) αφού πρώτα υποβληθούν σε διαρκή προσευχή και υποστούν την κοινωνική περιθωριοποίηση.^{1,3}

Η Ιπποκρατική θεώρηση της επιληψίας άρχισε να έρχεται ξανά στο προσκήνιο κατά τον 16^ο αιώνα, ενώ μέχρι τον 18^ο αιώνα η επιληψία είχε αποκοπεί πλήρως από το θρησκευτικό στοιχείο. Σημαντική ήταν η συνεισφορά του Samuel August Tissot (1728-1797) ο οποίος έγραψε το πρώτο σύγχρονο βιβλίο για την επιληψία «Traite de l'Épilepsie», περιγράφοντας για πρώτη φορά τις κρίσεις *grand mal* και τις

αφαιρέσεις, ενώ λίγο αργότερα ο William Cullen (1710-1790) περιέγραψε τις εστιακές επιληπτικές κρίσεις.³

Κατά τον 19^ο αιώνα, το επιστημονικό ενδιαφέρον για την επιληψία αυξήθηκε και οδήγησε σε αποδοχή των επιληπτικών ασθενών από την κοινωνία. Ορόσημο αποτέλεσε το έργο του John Hughlings-Jackson (1835–1911), ο οποίος θεωρείται ο πατέρας της σύγχρονης νευρολογίας και επιλησιολογίας. Αυτός έδωσε έναν πρώτο ορισμό της επιληψίας, χαρακτηρίζοντάς την ως μια αιφνίδια, ταχεία και μαζική εκφόρτιση νευρώνων. Εκτός αυτού, στο τέλος του 19^{ου} αιώνα έγινε η ανακάλυψη του ηλεκτροεγκεφαλογραφήματος (ΗΕΓ), κάτι που αποτέλεσε σημείο ορόσημο για τη διάγνωση της ασθένειας.³

Κατά τον 20^ο αιώνα, η έρευνα πάνω στην επιληψία εντατικοποιήθηκε ενώ εισήχθη για πρώτη φορά ο όρος «επιληπτολόγος» από τον William Spratling (1863–1915), για την περιγραφή ενός γιατρού που ειδικεύεται στην επιληψία. Εκτός αυτού, έγιναν αρκετές μελέτες για την ανάπτυξη του ηλεκτροεγκεφαλογραφήματος, με βασικότερη αυτή των Pavel Yurevich Kaufman (1877–1951) και Vladimir Vladimirovich Pravdich-Neminsky (1879–1952), η οποία διεξήχθη το 1912. Αυτοί παρατήρησαν ηλεκτρικές αλλαγές στον εγκέφαλο κατά τη διάρκεια πειραματικά επαγόμενων κρίσεων, ενώ ήταν οι πρώτοι που συνέδεσαν τις επιληπτικές κρίσεις με μη φυσιολογικές ηλεκτρικές εκκενώσεις στο ηλεκτροεγκεφαλογράφημα. Βέβαια, η πρόσθηση του ηλεκτροεγκεφαλογραφήματος στην κλινική διάγνωση της επιληψίας έγινε περίπου 10 χρόνια αργότερα, μετά από τα πειράματα του γερμανού ψυχιάτρου Hans Berger (1873-1941), ο οποίος κατάφερε να αποδείξει τις νευρωνικές ταλαντώσεις που συμβαίνουν σε έναν επιληπτικό εγκέφαλο.³

Παράλληλα, το πρώτο μισό του 20^{ου} αιώνα, ιδρύθηκαν επιστημονικοί οργανισμοί για την επιληψία, όπως η Διεθνής Επιτροπή κατά της Επιληψίας (International League Against Epilepsy - ILAE) και η Αμερικάνικη Κοινωνία της Επιληψίας (American Epilepsy Society - AES).³

Σημαντικό ήταν και το έργο του γάλλου νευρολόγου Henri Gastaut (1915-1995), ο οποίος μεταξύ άλλων, περιέγραψε τα εξής βασικά επιληπτικά σύνδρομα: το σύνδρομο Gastaut (ένα είδος φωτοευαίσθητης επιληψίας) και το σύνδρομο Lennox-Gastaut (μια σοβαρή παιδική εγκεφαλοπάθεια).³

Τέλος, η εφεύρεση νέων νευροαπεικονιστικών μεθόδων στα τέλη του 20^{ου} αιώνα, όπως η αξονική τομογραφία (CT), η μαγνητική τομογραφία (MRI) αλλά και η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET), οδήγησε σε ραγδαία βελτίωση της διάγνωσης των διάφορων επιληπτικών συνδρόμων.³ (Εικόνα 1.1)



Εικόνα 1.1: Χρονοδιάγραμμα με ιστορική αναδρομή της επιληψίας

1.2 Ορισμός επιληψίας και επιληπτικών κρίσεων

Η επιληψία αποτελεί μια διαταραχή του εγκεφάλου που χαρακτηρίζεται κυρίως από επαναλαμβανόμενες και απρόβλεπτες διακοπές της φυσιολογικής λειτουργίας του, που ονομάζονται επιληπτικές κρίσεις. Ωστόσο, η επιληψία δεν αποτελεί μια μεμονωμένη ασθένεια, αλλά μια ποικιλία συνδρόμων που αντικατοπτρίζουν την υποκείμενη δυσλειτουργία του εγκεφάλου, η οποία μπορεί να προκύψει από πολλές διαφορετικές αιτιολογίες. Σημαντική βέβαια είναι η διαφοροποίηση των όρων «επιληπτική κρίση» και «επιληψία». ⁴

Ως επιληπτική κρίση ορίζεται μια παροδική εμφάνιση σημείων ή/και συμπτωμάτων, που οφείλονται σε απρόβλεπτη, μη φυσιολογική, υπερβολική και μαζική εκφόρτιση εγκεφαλικών νευρώνων. Αρχικά, μια κρίση είναι παροδική και χρονικά οριοθετημένη, αφού έχει ξεκάθαρη αρχή και τέλος, ενώ μπορεί να επιβεβαιωθεί είτε με κλινική εξέταση είτε με ηλεκτροεγκεφαλογράφημα. Οι επιληπτικές κρίσεις επηρεάζουν κυρίως την αισθητική και κινητική λειτουργία είτε τη λειτουργία του αυτόνομου νευρικού συστήματος, αλλά μπορούν και να επιδράσουν στο επίπεδο συνείδησης, στη μνήμη, στη συναισθηματική κατάσταση, στη γνωστική λειτουργία και στη συμπεριφορά του ασθενούς. Δεν είναι απαραίτητο μια επιληπτική κρίση να επηρεάσει όλους αυτούς τους παράγοντες, αλλά αρκεί να επηρεαστεί τουλάχιστον ένας. ⁴

Η επιληψία είναι μια διαταραχή του εγκεφάλου που χαρακτηρίζεται από μια διαρκή προδιάθεση για τη δημιουργία επιληπτικών κρίσεων, αλλά και από τις νευροβιολογικές, γνωστικές, ψυχολογικές και κοινωνικές συνέπειες αυτής της κατάστασης. Πιθανή γενετική προδιάθεση που στηρίζεται σε οικογενειακό ιστορικό επιληψίας ή στην παρουσία συγκεκριμένων μεταβολών στο

ηλεκτροεγκεφαλογράφημα, δεν επαρκούν για τον προσδιορισμό της επιληψίας, αλλά απαιτείται η ύπαρξη τουλάχιστον μιας επιληπτικής κρίσης.⁴

Ως επιληπτικό σύνδρομο ορίζεται η μη τυχαία συνύπαρξη σημείων και συμπτωμάτων που δε συνδέονται μεταξύ τους σε υψηλό αριθμό ασθενών. Η αναγνώριση του επιληπτικού συνδρόμου γίνεται από τον καθορισμό του τύπου των κρίσεων, από την ηλικία εμφάνισης, από τα ηλεκτροεγκεφαλογραφικά ευρήματα, από τα συνοδά συμπτώματα και από το οικογενειακό ιστορικό. Όπως είναι προφανές, η διάγνωση ενός επιληπτικού συνδρόμου παρέχει πιο εξειδικευμένες πληροφορίες απ' ό,τι η διάγνωση ενός τύπου επιληψίας για έναν ασθενή.⁵

Το 2014 η Διεθνής Οργάνωση κατά της Επιληψίας (ILAE) όρισε έναν πιο πρακτικό ορισμό της επιληψίας, με σκοπό τη διευκόλυνση της κλινικής διάγνωσης. Σύμφωνα με αυτόν, η επιληψία είναι μια ασθένεια του εγκεφάλου που ορίζεται από οποιαδήποτε από τις ακόλουθες συνθήκες:⁶

- i. Τουλάχιστον δύο μη προκλητές (ή αντανάκλαστικές) επιληπτικές κρίσεις που απέχουν μεταξύ τους περισσότερο από 24 ώρες.
- ii. Μια μη προκλητή (ή αντανάκλαστική) επιληπτική κρίση και η πιθανότητα περαιτέρω κρίσεων για την επόμενη δεκαετία τουλάχιστον 60%, ανάλογη με τον γενικό κίνδυνο υποτροπής μετά από δύο απρόκλητες κρίσεις.
- iii. Διάγνωση επιληπτικού συνδρόμου.

Ως μη προκλητή κρίση υποδηλώνεται η επιληπτική κρίση που έχει προκύψει απουσία κάποιου παράγοντα που μειώνει τον επιληπτικό ουδό.⁶

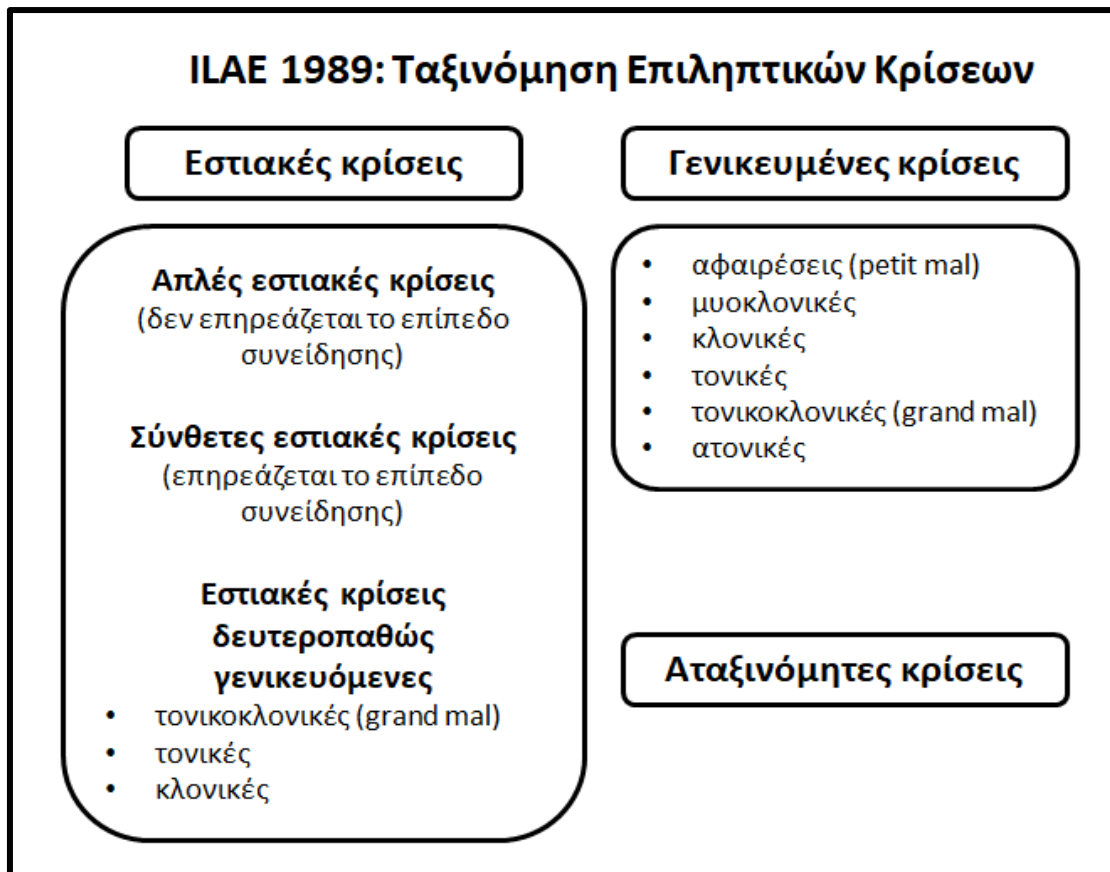
Σύμφωνα με τον αναθεωρημένο κλινικό ορισμό της επιληψίας, ένας ασθενής θεωρείται ότι δεν πάσχει πλέον από την ασθένεια στις παρακάτω περιπτώσεις:⁵

- ✓ Εάν είναι ελεύθερος κρίσεων για δέκα χρόνια, ενώ δε λαμβάνει αντιεπιληπτική αγωγή τα τελευταία πέντε χρόνια.
- ✓ Εάν έπασχε από επιληπτικό σύνδρομο εξαρτημένο από την ηλικία, αλλά πλέον βρίσκεται εκτός της αντίστοιχης ηλικιακής τάξης.

1.3 Ταξινόμηση Επιληπτικών Κρίσεων και Συνδρόμων

1.3.1 Ταξινόμηση Επιληπτικών Κρίσεων

Έχουν γίνει πολλές προσπάθειες ταξινόμησης των επιληπτικών κρίσεων, με την πρώτη σύγχρονη ταξινόμηση να προτίθεται το 1964, ενώ πριν από τότε δε γινόταν ιδιαίτερη διάκριση μεταξύ τους.⁷ Η προσπάθεια κατηγοριοποίησής τους συνεχίστηκε, με τη Διεθνή Οργάνωση κατά της Επιληψίας (ILAE) να προτείνει συχνά νέα πρότυπα ταξινόμησης.⁸⁻¹⁰ Η ταξινόμηση εκείνη που επικράτησε τα περισσότερα χρόνια, μέχρι να αναθεωρηθεί πρόσφατα, παρουσιάζεται παρακάτω. (Εικόνα 1.2)



Εικόνα 1.2: Πρότυπο ταξινόμησης επιληπτικών κρίσεων σύμφωνα με την ILAE 1989 ¹⁰

Σύμφωνα με την ταξινόμηση του 1989, ορίζονται τρεις βασικές κατηγορίες επιληπτικών κρίσεων: ¹¹

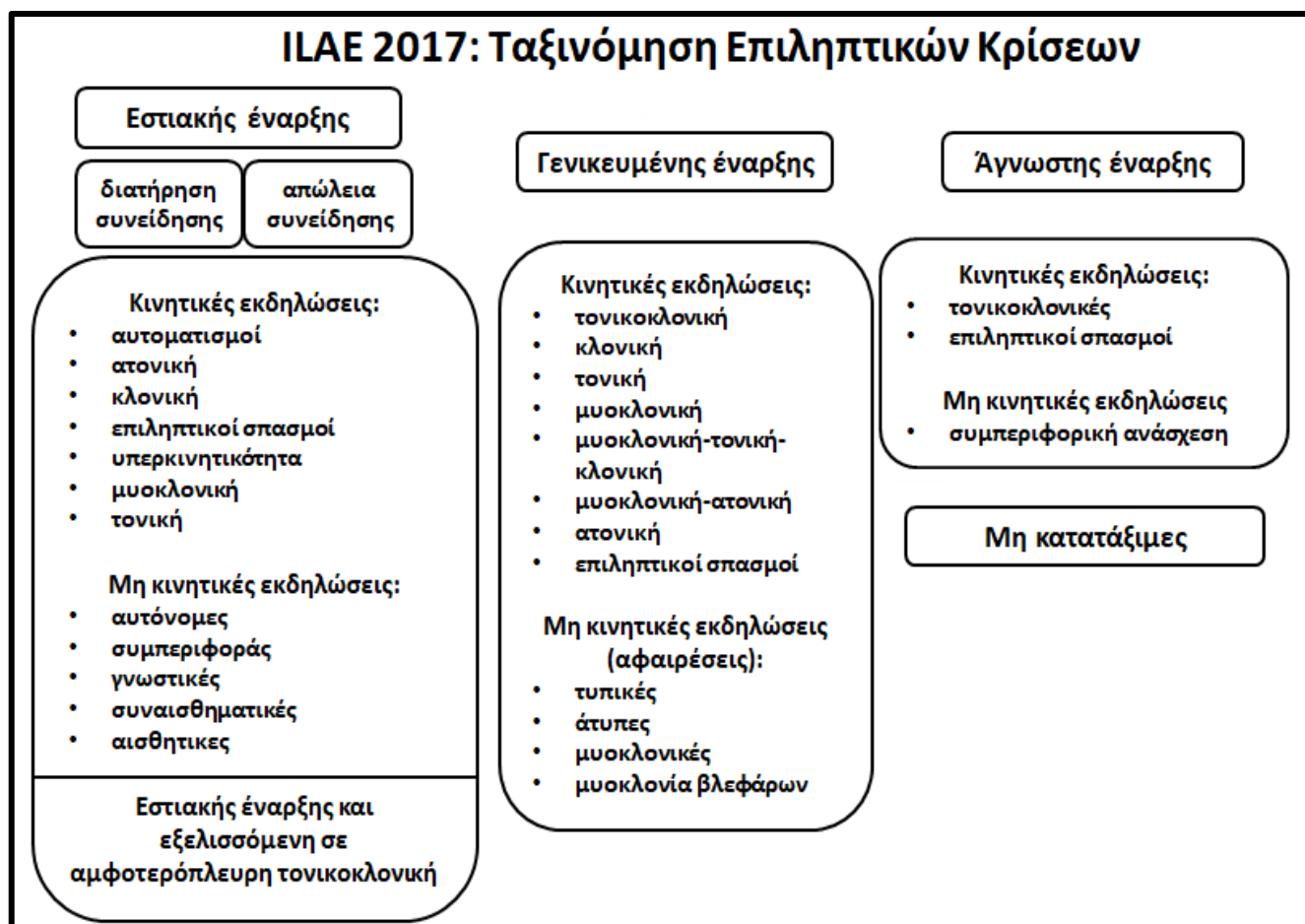
- **Γενικευμένες κρίσεις:** Οι επιληπτικοί σπασμοί ξεκινούν τοπικά αλλά γρήγορα εξαπλώνονται και προκαλούν ανώμαλη ηλεκτρική εκφόρτιση σε όλη την έκταση και των δύο ημισφαιρίων του εγκεφάλου. Οι γενικευμένοι επιληπτικοί παροξυσμοί μπορεί να συνοδεύονται ή όχι από σπασμούς, ενώ παρουσιάζεται αμέσως απώλεια συνείδησης.
- **Εστιακές κρίσεις:** Οι επιληπτικοί σπασμοί ξεκινούν και περιορίζονται στα νευρωνικά δίκτυα ενός εγκεφαλικού ημισφαιρίου. Η συμπτωματολογία κάθε τύπου κρίσης εξαρτάται από τον εντοπισμό της νευρωνικής εκφόρτισης και από το βαθμό εξάπλωσης της ηλεκτρικής δραστηριότητας που διαδίδεται σε άλλους εγκεφαλικούς νευρώνες.
- **Αταξινόμητες κρίσεις:** Δεν υπάρχει πληροφορία για το είδος της έναρξης των κρίσεων άρα δε μπορούν να καταταχθούν σε κάποια από τις παραπάνω κατηγορίες.

Με την πάροδο των χρόνων συνέχισαν να προκύπτουν νέα δεδομένα για την επιληψία, κάτι που ώθησε την ILAE να συγκροτήσει μια νέα ομάδα εργασίας, την Επιτροπή Ταξινόμησης και Ονοματολογίας Επιληπτικών Κρίσεων και Συνδρόμων, η οποία ανέπτυξε και δημοσίευσε ένα νέο κοινώς αποδεκτό σύστημα ταξινόμησης.⁵

Η νέα ταξινόμηση έχει μια βασική και μια διευρυμένη έκδοση, ανάλογα με τις ανάγκες και την τεχνογνωσία του ατόμου που την χρησιμοποιεί, ενώ ουσιαστικά η βασική αποτελεί συμπυκνωμένη μορφή της διευρυμένης. Ισχύει για επιληπτικές κρίσεις τόσο σε ενήλικες όσο και σε παιδιά, ενώ δεν περιλαμβάνει τις νεογνικές κρίσεις για τις οποίες υπάρχει ξεχωριστή ταξινόμηση. Επίσης, αυτή η ταξινόμηση δεν αφορά υποκλινικές ηλεκτρογραφικές κρίσεις.⁵

Βασικά κριτήρια για την ταξινόμηση των επιληπτικών κρίσεων είναι ο τύπος έναρξης της κρίσης αλλά και το επίπεδο συνείδησης που επηρεάζεται. Σύμφωνα με τον τύπο έναρξης, οι επιληπτικές κρίσεις διακρίνονται σε: γενικευμένης, εστιακής και άγνωστης έναρξης (Εικόνα 1.3). Υπάρχουν ορισμένα επιληπτικά σύνδρομα στα οποία παρατηρείται συνδυασμός γενικευμένων και εστιακών επιληπτικών κρίσεων (όπως στο σύνδρομο Dravet και στο σύνδρομο Lennox-Gastaut).⁵

Σύμφωνα με τη νέα κατάταξη, έχει εγκαταληφθεί ο όρος «απλές και σύνθετες εστιακές κρίσεις» και έχει αντικατασταθεί από τον όρο «εστιακές» με αναλυτική περιγραφή της συμπτωματολογίας. Επίσης, ο όρος «δευτεροπαθώς γενικευόμενη κρίση» αντικαταστάθηκε από τον όρο «εξελισσόμενη σε αμφοτερόπλευρη κρίση με σπασμούς».⁵ (Εικόνα 1.3)



Εικόνα 1.3: Διευρυμένη έκδοση της ταξινόμησης επιληπτικών κρίσεων σύμφωνα με την ILAE 2017.⁵

1.3.2 Ταξινόμηση Επιληπτικών Συνδρόμων

Η κατάταξη των επιληπτικών συνδρόμων διαμορφώνεται ως εξής:¹²

- Ηλεκτροκλινικά σύνδρομα, ανάλογα με την τυπική ηλικία εμφάνισής τους
- Διακριτές ομάδες – Χειρουργικά αντιμετωπίσιμα σύνδρομα
- Σύνδρομα που δεν πληρούν τα κριτήρια ένταξης στις δύο προηγούμενες κατηγορίες

Τα ηλεκτροκλινικά σύνδρομα της κατηγορίας I ανάλογα με την ηλικία εμφάνισής τους ομαδοποιούνται ως εξής:¹²

Ηλεκτροκλινικά σύνδρομα νεογνικής ηλικίας :

- Καλοήθεις νεογνικές κρίσεις
- Καλοήθης οικογενής νεογνική επιληψία (BFNE)
- Σύνδρομο Ohtahara
- Πρώιμη Μυοκλονική Εγκεφαλοπάθεια (EME)

Ηλεκτροκλινικά σύνδρομα βρεφικής ηλικίας :

- Πυρετικοί σπασμοί και Επιπλεγμένοι πυρετικοί σπασμοί
- Καλοήθης βρεφική επιληψία
- Καλοήθης οικογενής 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

Ηλεκτροκλινικά σύνδρομα παιδικής ηλικίας :

- Πυρετικοί σπασμοί και Επιπλεγμένοι πυρετικοί σπασμοί
- Πρώιμης έναρξης ινιακή επιληψία της παιδικής ηλικίας (σύνδρομο Παναγιωτοπούλου)
- Επιληψία με μυοκλονικές ατονικές (πρώην αστατικές) κρίσεις
- Αφαιρετική επιληψία της παιδικής ηλικίας (CAE)
- Καλοήθης 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)

Ηλεκτροκλινικά σύνδρομα εφηβικής/ενήλικης περιόδου :

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

Ηλεκτροκλινικά σύνδρομα με ποικίλη ηλικία έναρξης :

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

Στην Κατηγορία II περιλαμβάνονται τα εξής: ¹²

- Επιληψία έσω κροταφικού λοβού με σκλήρυνση υποκάμπτου (MTLE με HS)
- Σύνδρομο Rasmussen
- Γελαστικές κρίσεις με υποθαλαμικό αμάρτωμα
- Ημισπασμώδη-Ημιπληγική επιληψία

Τα σύνδρομα που δεν πληρούν τα κριτήρια ένταξης στις προηγούμενες κατηγορίες περιλαμβάνουν: ¹²

- Επιληψίες οφειλόμενες σε δομικές-μεταβολικές αιτίες
- Δυσπλασίες φλοιώδους ανάπτυξης (ημιμεγαλεγκεφαλία, ετεροτοπίες κλπ.)
- Νευροεπιδερμικά σύνδρομα (οζώδης σκλήρυνση, σύνδρομο Sturge-Weber κλπ.)
- Όγκοι, λοιμώξεις, τραύματα, αγγειώματα, περιγεννητικά συμβάματα, εγκεφαλικά επεισόδια
- Επιληψίες αγνώστου αιτιολογίας

1.4 Γενικευμένη Επιληψία

Ως γενικευμένες κρίσεις αναφέρονται οι επιληπτικές κρίσεις στις οποίες γίνεται εξαρχής ταυτόχρονη προσβολή και των δύο εγκεφαλικών ημισφαιρίων. Στις περισσότερες περιπτώσεις συνοδεύονται με απώλεια συνείδησης, όμως κάποιες φορές μπορεί να είναι τόσο σύντομες (πχ. μυοκλονικές κρίσεις) ώστε η διαταραχή συνειδητότητας να μη μπορεί να εκτιμηθεί. Οι γενικευμένες επιληπτικές κρίσεις καλύπτουν ένα ευρύ φάσμα κλινικών παρουσιάσεων, από τις φαινομενικά ήπιες αφαιρετικές κρίσεις μέχρι τις πιο δραματικές τονικοκλονικές κρίσεις. ¹³

Σύμφωνα με επιδημιολογικές μελέτες, οι γενικευμένες επιληπτικές κρίσεις είναι λιγότερο συχνές από τις εστιακές κρίσεις, με τις γενικευμένες να αποτελούν το 30% ενώ τις εστιακές κρίσεις να αποτελούν το 70% των εκδηλώσεων επιληψίας. Από τις γενικευμένες επιληπτικές κρίσεις, φαίνεται ότι οι τονικοκλονικές είναι οι πιο συχνές, ενώ ακολουθούν οι αφαιρέσεις και οι μυοκλονικές κρίσεις. ¹³

Με την ανάπτυξη νέων διαγνωστικών μεθόδων τις τελευταίες δεκαετίες, ερευνητές έχουν αποδείξει ότι οι περισσότερες κρίσεις, που παλαιότερα θεωρούνταν γενικευμένες, είναι κρίσεις εστιακής έναρξης που τελικά εξελίσσονται αμφοτερόπλευρα και καταλήγουν σε γενικευμένες κρίσεις. ¹³

Οι βασικότερες κατηγορίες γενικευμένων κρίσεων είναι οι εξής:

A) Μυοκλονικές κρίσεις

Χαρακτηρίζονται από σύντομες, αιφνίδιες μυϊκές συσπάσεις. Συνήθως συμβαίνουν λίγο μετά το περπάτημα ή πριν το άτομο κοιμηθεί, όταν είναι καταπονημένο. Στην γενικευμένη κρίση υπάρχει απώλεια των αισθήσεων, αλλά είναι πολύ σύντομη και περνά σχεδόν απαρατήρητη. Στο ΗΕΓ εμφανίζονται με μορφή γενικευμένων πολυαιχμών κύματος 4-6 Hz. ¹⁴

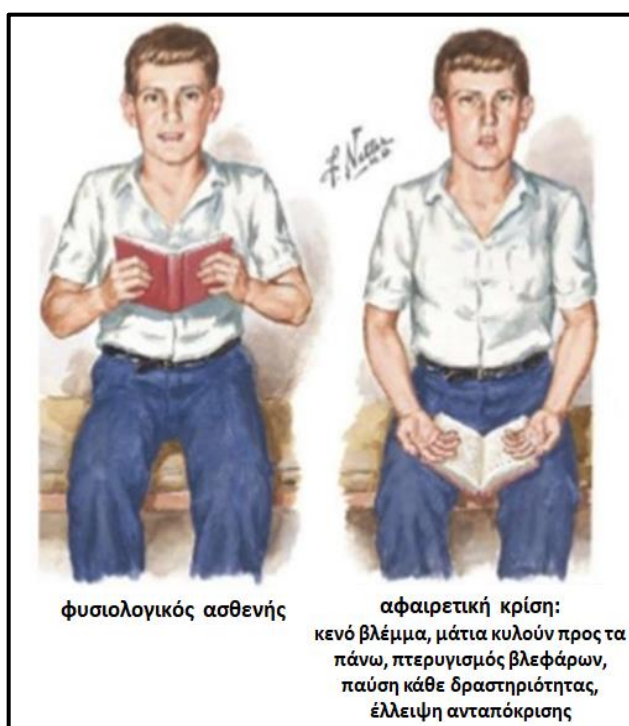
B) Κλονικές κρίσεις

Οι κλονικές κρίσεις εμφανίζονται σχεδόν αποκλειστικά στην πρώιμη παιδική ηλικία. Η κρίση ξεκινά με απώλεια ή έκπτωση του επιπέδου συνείδησης, που συνοδεύεται

από αιφνίδια υποτονία ή από ένα σύντομο γενικευμένο τονικό σπασμό. Ακολουθούν ένα ή περισσότερα λεπτά με αμφοτερόπλευρα τινάγματα, τα οποία συχνά είναι ασύμμετρα και μπορεί να εμφανίζονται κυρίως στο ένα άκρο. Κατά τη διάρκεια της κρίσης, το εύρος, η συχνότητα και η χωρική κατανομή αυτών των τιναγμάτων μπορεί να ποικίλλει πολύ από στιγμή σε στιγμή. Σε άλλα παιδιά, κυρίως σε ηλικίες 1-3 ετών, τα τινάγματα παραμένουν αμφοτερόπλευρα και συγχρονισμένα σε όλη τη διάρκεια της κρίσης. Η μετακριτική φάση μπορεί να είναι μια σύντομη ή παρατεταμένη περίοδος σύγχυσης ή μπορεί να εμφανιστεί και κώμα.¹⁴

Γ) Αφαιρέσεις (Petit mal)

Σχετίζονται με ολόκληρο τον εγκέφαλο και είναι συνηθέστερες σε παιδιά. Εκδηλώνονται για πρώτη φορά στην ηλικία των 5-12 ετών και συχνά σταματούν αυτόματα στην εφηβεία. Χαρακτηρίζονται από αιφνίδια έναρξη και παύση της διαταραχής της απαντητικότητας, που συνοδεύεται από ένα μοντέλο αιχμής-κύματος 3 Hz στο ΗΕΓ. Δεν υπάρχει αύρα και εμφανίζονται ελάχιστα ή καθόλου μετακριτικά συμπτώματα. Κατά την διάρκειά τους, το άτομο δεν αντιλαμβάνεται αυτά που συμβαίνουν γύρω του. Η πλειοψηφία των αφαιρέσεων διαρκεί μέχρι 10 δευτερόλεπτα, ενώ μπορεί να συνοδεύονται από ήπιο κλονικό, ατονικό ή τονικό στοιχείο και αυτοματισμούς.¹⁴ (Εικόνες 1.4 και 1.5)



Εικόνα 1.4: Χαρακτηριστικά ασθενούς κατά τη διάρκεια μιας αφαιρετικής κρίσης¹¹⁸



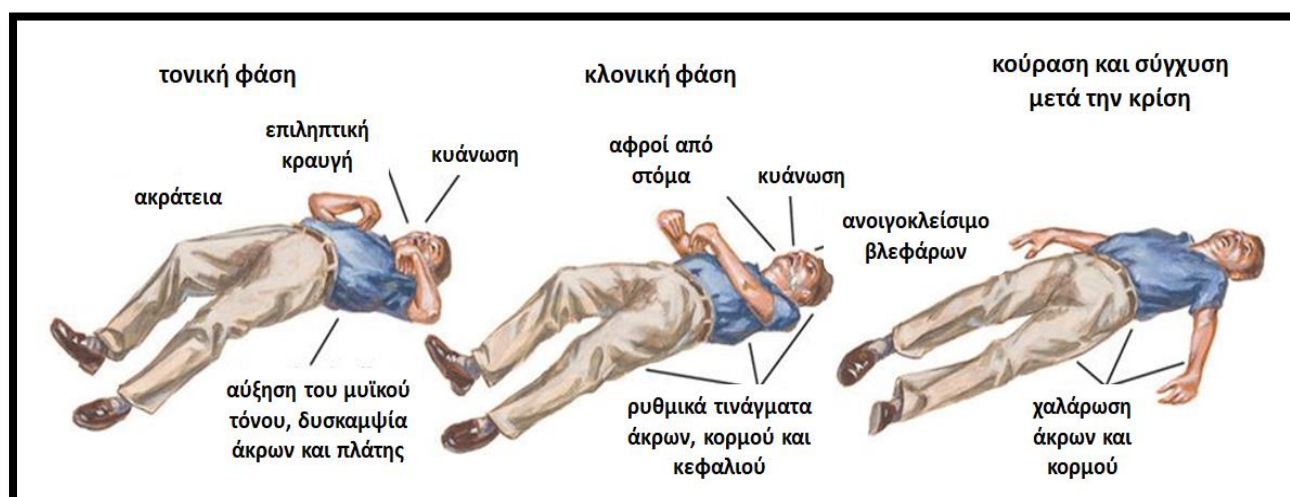
Εικόνα 1.5: Χαρακτηριστικό πρότυπο αιχμής-κύματος στο ΗΕΓ ασθενούς με αφαιρετική κρίση¹¹⁷

Δ) Τονικές κρίσεις

Οι τονικές κρίσεις είναι σχετικά σπάνιες και συνήθως ξεκινούν στην ηλικία μεταξύ 1 και 7 ετών. Χαρακτηρίζονται από μια αιφνίδια αύξηση του μυϊκού τόνου των μυών του κορμού ή των άκρων ή και των δύο, προκαλώντας διάφορες χαρακτηριστικές θέσεις. Λόγω της μυϊκής ακαμψίας που προκαλούν, αν το άτομο είναι σε όρθια θέση σωριάζεται στο πάτωμα. Η συνείδηση συνήθως χάνεται μερικώς ή πλήρως. Εμφανίζονται επίμονα συμπτώματα από το αυτόνομο.¹⁴

Ε) Τονικοκλονικές κρίσεις (Grand Mal)

Οι τονικοκλονικές κρίσεις είναι γενικευμένες κρίσεις που σχετίζονται με ολόκληρο τον εγκέφαλο. Οι ασθενείς μπορεί να έχουν προειδοποιητικά συμπτώματα, πριν αρχίσει η κρίση. Η έναρξη της κρίσης χαρακτηρίζεται από απώλεια της συνείδησης και αύξηση του μυϊκού τόνου (τονική φάση), η οποία οδηγεί σε μια δύσκαμπτη θέση κάμψης και στη συνέχεια σε μια δύσκαμπτη θέση έκτασης. Ακολουθούν αμφοτερόπλευρα ρυθμικά τινάγματα (κλονική φάση), όπου τα άκρα του ασθενή αρχίζουν να συσπώνται με δυνατές, συμμετρικές και ρυθμικές κινήσεις. Τόσο κατά τη διάρκεια της τονικής όσο και της κλονικής φάσης γίνονται ορατά έντονα συμπτώματα από το αυτόνομο, όπως σιελόρροια, απώλεια ούρων και σπάνια απώλεια κοπράνων. Παράλληλα, το άτομο μπορεί να εμφανίσει εμετούς ή να τραυματίσει τη γλώσσα του, δαγκώνοντας την. Μερικές φορές δύναται να προκληθούν σωματικές κακώσεις, αν προσκρούσει σε κοντινά αντικείμενα, κατά την πτώση ή το τράνταγμα. Η κρίση συνήθως σταματά μετά από λίγα λεπτά. Ο ασθενής ξυπνά περνώντας από τα στάδια του κώματος, της συγχυτικής κατάστασης και της υπνηλίας.¹⁴ (Εικόνα 1.6)



Εικόνα 1.6: Χαρακτηριστικά ασθενούς κατά τη διάρκεια μιας τονικοκλονικής κρίσης¹⁵

ΣΤ) Ατονικές κρίσεις

Χαρακτηρίζονται από μια αιφνίδια απώλεια του μυϊκού τόνου. Αυτή η απώλεια μπορεί να περιορίζεται σε μια ομάδα μυών, όπως του αυχένα, προκαλώντας πτώση της κεφαλής. Σε άλλες περιπτώσεις, οι ατονικές κρίσεις μπορεί να επηρεάζουν όλους τους μύες του κορμού, οδηγώντας σε πτώση στο έδαφος.¹⁴

1.5 Εστιακή Επιληψία

Ως εστιακές επιληπτικές κρίσεις αναφέρονται οι κρίσεις κατά τις οποίες οι επιληπτικοί σπασμοί ξεκινούν και περιορίζονται στα νευρωνικά δίκτυα ενός εγκεφαλικού ημισφαιρίου. Η συμπτωματολογία κάθε τύπου κρίσης εξαρτάται από τον εντοπισμό της νευρωνικής εκφόρτισης και από το βαθμό εξάπλωσης της ηλεκτρικής δραστηριότητας που διαδίδεται σε άλλους εγκεφαλικούς νευρώνες.¹¹

Οι εστιακές επιληπτικές κρίσεις χωρίζονται στις εξής κατηγορίες:^{11,14}

- i. **Απλές εστιακές κρίσεις (χωρίς διαταραχή της συνείδησης)**
Η ηλεκτρική διαταραχή δεν εξαπλώνεται, οπότε ο ασθενής δεν παρουσιάζει απώλεια συνείδησης και συχνά εμφανίζει ανώμαλη κινητική ή αισθητική δραστηριότητα σε ένα μόνο μέλος του σώματος, το οποίο ελέγχεται από την περιοχή του εγκεφάλου που παρουσιάζει τη διαταραχή. Οι κρίσεις αυτές εκδηλώνονται με κινητικά ή σωματοαισθητικά συμπτώματα. Επίσης, μπορεί να υπάρξουν συμπτώματα από το αυτόνομο νευρικό σύστημα ή την ψυχική σφαίρα.
- ii. **Σύνθετες εστιακές κρίσεις (με διαταραχή της συνείδησης)**
 - **χωρίς διαταραχή της συνείδησης κατά την έναρξη**
Μπορεί να εμφανιστούν με συμπτώματα όπως των απλών εστιακών κρίσεων και στην εξέλιξη της κρίσης να εμφανιστεί διαταραχή του επιπέδου συνείδησης. Επίσης, μπορεί να εμφανιστούν με αυτοματισμούς.
 - **με διαταραχή της συνείδησης κατά την έναρξη**
Με διαταραχή της συνείδησης από την έναρξη. Μπορεί να εμφανιστούν με συμπτώματα όπως αυτά των απλών εστιακών κρίσεων ή με αυτοματισμούς.
- iii. **Εστιακές κρίσεις δευτεροπαθώς γενικευμένες**
Πρόκειται για απλές εστιακές κρίσεις εξελισσόμενες σε σύνθετες και τελικά σε γενικευμένες.

Η παρούσα ερευνητική εργασία θα εστιάσει κυρίως στις σύνθετες εστιακές κρίσεις και στις εστιακές κρίσεις με δευτεροπαθή γενίκευση.

1.5.1 Σύνθετες εστιακές κρίσεις

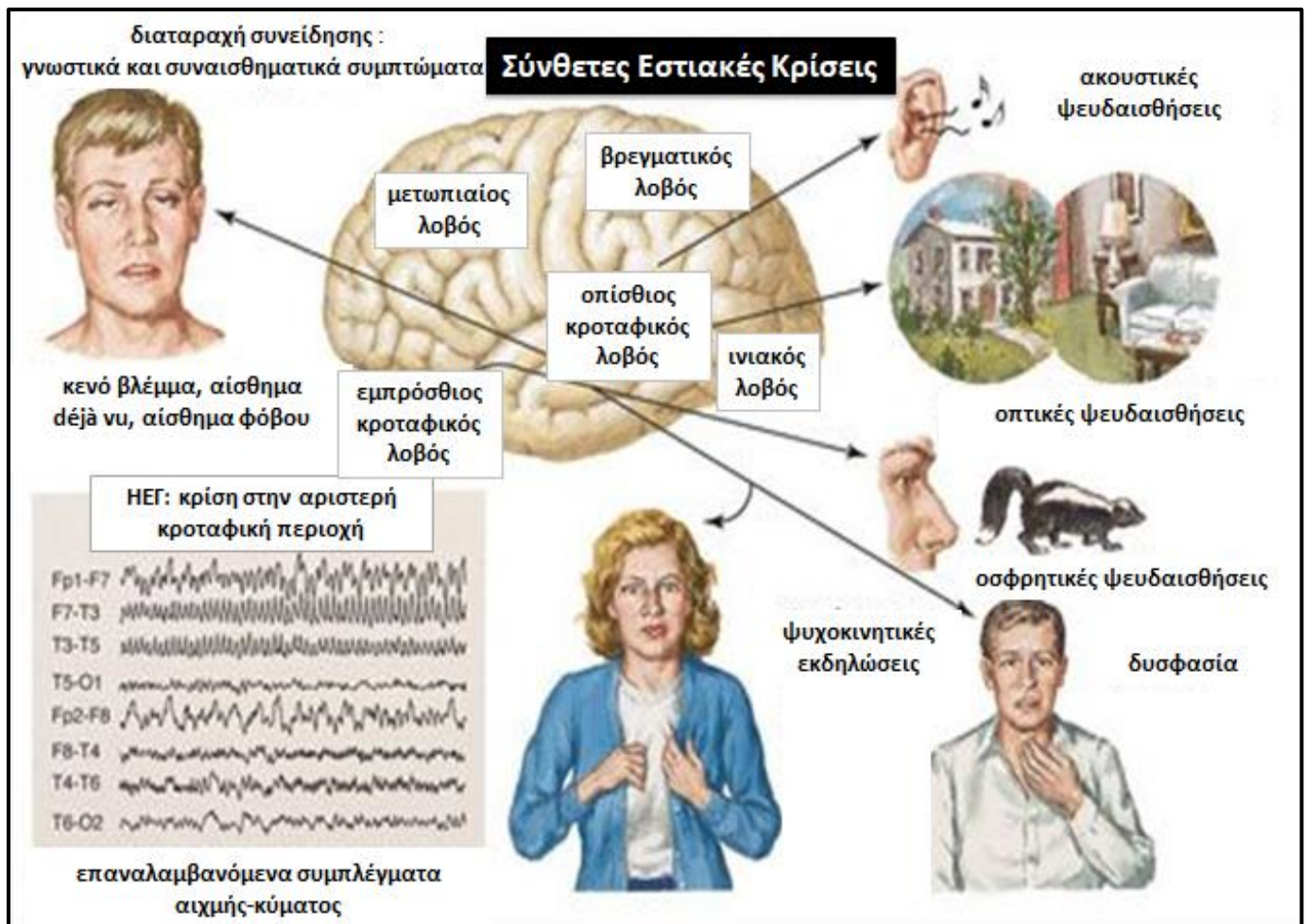
Το βασικό τους χαρακτηριστικό είναι η έκπτωση της συνείδησης, η οποία ορίζεται ως η ανικανότητα φυσιολογικής απάντησης σε εξωτερικά ερεθίσματα, λόγω μεταβολής της αντίληψης ή της αντιδραστικότητας. Η αντιδραστικότητα αναφέρεται στην ικανότητα του ασθενούς να εκτελέσει απλές εντολές ή εκούσιες κινήσεις, ενώ η αντίληψη αναφέρεται στην επαφή του ασθενούς με τα γεγονότα κατά τη διάρκεια της περιόδου της κρίσης και στην ανάκλησή τους. Η περίοδος έκπτωσης της συνείδησης μπορεί ή όχι να προηγείται των συμπτωμάτων μιας απλής εστιακής κρίσης. Κατά τη διάρκεια της έκπτωσης της συνείδησης μπορεί να μην εμφανιστούν άλλες εκδηλώσεις ή να εμφανιστούν αυτοματισμοί (δηλαδή μη αντανakλαστικές πράξεις που γίνονται αυτόματα, χωρίς συνειδητή θέληση, και τις οποίες ο ασθενής δε μπορεί να ανακαλέσει).¹² (Εικόνα 1.7)

Παράλληλα, οι ασθενείς με σύνθετες εστιακές κρίσεις εμφανίζουν διάφορα νευροσυμπεριφορικά χαρακτηριστικά, λόγω της επίδρασης που έχουν οι κρίσεις στο μεταιχμιακό σύστημα. Κάποια από αυτά είναι: συναισθηματική ενεργοποίηση, βίαιη συμπεριφορά, απώλεια μνήμης, ψύχωση και επεισόδια άσκοπης περιπλάνησης.¹² (Εικόνα 1.7)

Ακόμη, πολλοί ερευνητές έχουν περιγράψει μια «μεσοκριτική προσωπικότητα» των ασθενών με σύνθετες εστιακές κρίσεις, που χαρακτηρίζεται από: δυστροφία, έλλειψη χιούμορ, εξάρτηση, ψυχαναγκασμό, θρησκοληψία, θυμό, υπεραμοραλισμό και αλλαγή του σεξουαλικού ενδιαφέροντος (υποσεξουαλικότητα και υπερσεξουαλικότητα).¹²

1.5.2 Εστιακές κρίσεις με δευτεροπαθή γενίκευση

Αυτή η κατηγορία κρίσεων ξεκινά με εστιακή επιληπτική δραστηριότητα και μπορεί να συνοδεύεται από κλινικές ή ΗΕΓφικές ενδείξεις απλών ή σύνθετων εστιακών κρίσεων ή και συνδυασμό τους. Βασικά χαρακτηριστικά της κρίσης είναι: τονική και κλονική φάση, φαινόμενα από το αυτόνομο, άμεση μετακριτική φάση και όψιμη μετακριτική φάση. Επίσης, είναι αυξημένη η παρουσία επιπλοκών που εμφανίζονται κατά τις τονικοκλονικές κρίσεις, όπως τραυματισμός προσώπου ή κεφαλής, πνευμονία από εισρόφηση και μετακριτικό πνευμονικό οίδημα.¹²



Εικόνα 1.7: Χαρακτηριστικά ασθενή με σύνθετες εστιακές κρίσεις. Φαίνεται ότι οι κλινικές εκδηλώσεις εξαρτώνται από την περιοχή προέλευσης της κρίσης και μπορεί να διακρίνονται σε ψυχοκινητικές εκδηλώσεις, ακουστικές, οπτικές ή οσφρητικές ψευδαισθήσεις και δυσφασία, ενώ μπορεί να συνυπάρχει και διαταραχή της συνείδησης.¹⁶

Παράλληλα, ιδιαίτερα σημαντική είναι η διαφοροδιάγνωση της εστιακής επιληψίας με δευτεροπαθή γενίκευση από τις πρωτοπαθώς γενικευμένες επιληπτικές κρίσεις.

Οι εστιακές επιληπτικές κρίσεις με δευτεροπαθή γενίκευση υποδηλώνονται από:¹²

- ενδείξεις δομικής βλάβης του εγκεφάλου (νευρολογική εξέταση, απεικονιστικές εξετάσεις)
- έναρξη με σημεία και συμπτώματα που υποδηλώνουν απλή εστιακή ή σύνθετη εστιακή κρίση ή συνδυασμό τους
- εστιακή ή αιχμηρή δραστηριότητα των μεσοκριτικών ΗΕΓ

Οι πρωτοπαθώς γενικευμένες επιληπτικές κρίσεις υποδηλώνονται από:¹²

- απουσία ενδείξεων δομικής βλάβης του εγκεφάλου
- οικογενειακό ιστορικό κρίσεων
- συνύπαρξη μυοκλονικών κρίσεων και αφαιρέσεων
- εμφάνιση των κρίσεων αμέσως μετά την αφύπνιση

- αμφοτερόπλευρα μυοκλονικά τινάγματα κατά την έναρξη της κρίσης
- γενικευμένα συμπλέγματα αιχμής-κύματος ή πολυαιχμές κυμάτων στο μεσοκριτικό ΗΕΓ

1.6 Επιδημιολογία της επιληψίας

Η επιληψία είναι μια από τις πιο κοινές χρόνιες νευρολογικές διαταραχές, αφού επηρεάζει πάνω από 70 εκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως. Όσον αφορά τη συχνότητα εμφάνισης της ασθένειας, το 2-5% του γενικού πληθυσμού θα εμφανίσει κάποια στιγμή επιληπτική κρίση, ενώ το ένα τρίτο των ασθενών θα αναπτύξει τελικά επιληψία. Υπάρχει άνιση κατανομή της ασθένειας σε παγκόσμιο επίπεδο, καθώς το 80% των επιληπτικών ασθενών εντοπίζονται σε αναπτυσσόμενες χώρες.^{17,18}

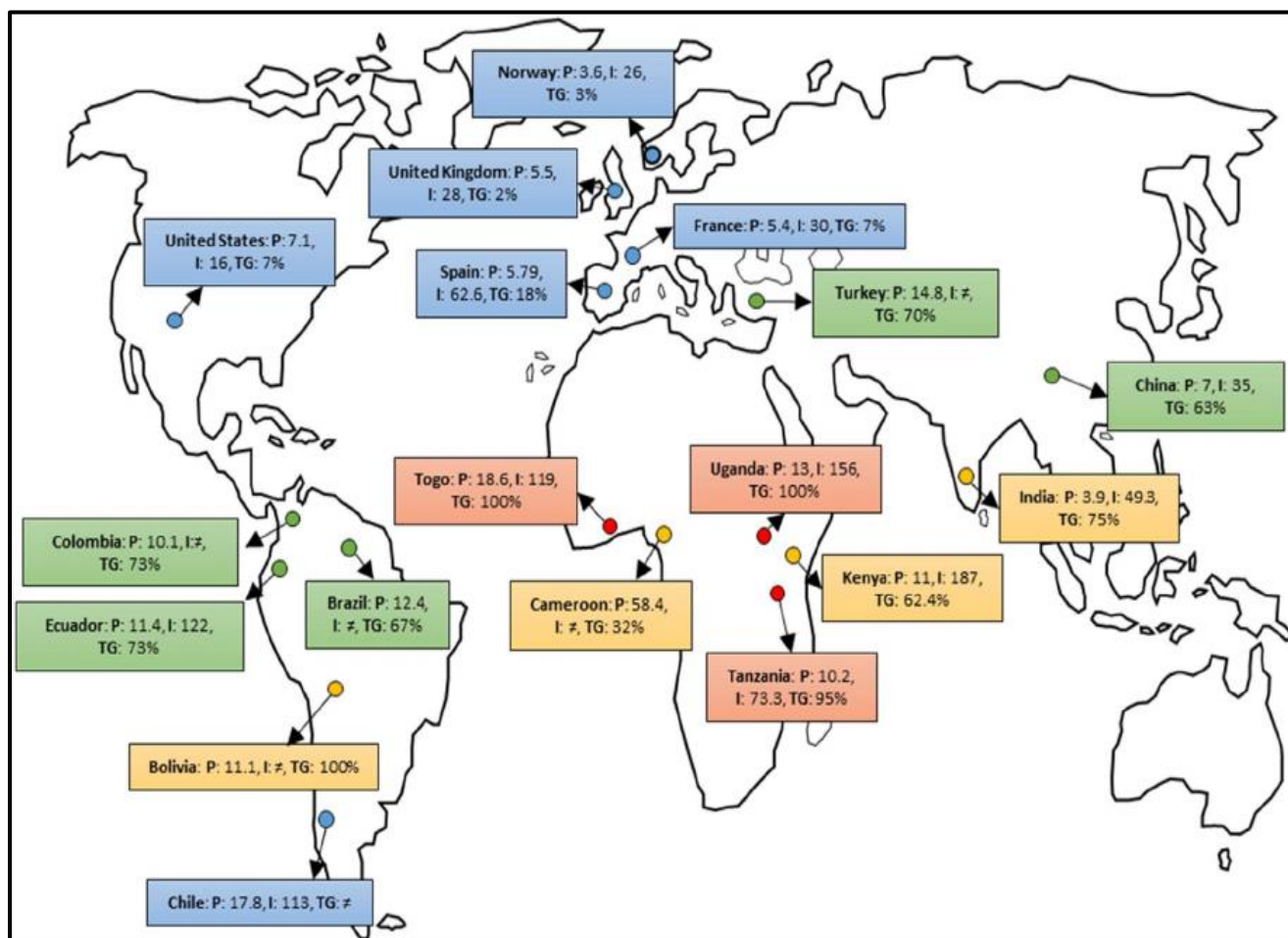
Στις επιδημιολογικές μελέτες χρησιμοποιούνται οι όροι επιπολασμός και επίπτωση, έτσι ώστε να υπολογιστεί η συχνότητα εμφάνισης μιας ασθένειας. Ως επιπολασμός (prevalence) ορίζεται ο αριθμός των ασθενών σε μια δεδομένη χρονική στιγμή και εκφράζεται ως το ποσοστό των ασθενών με ενεργό μορφή της νόσου ανά 1.000 άτομα. Από την άλλη, ως επίπτωση (incidence) ορίζεται ο αριθμός των νεοδιαγνωσθέντων ασθενών κάθε χρόνο ανά 100.000 άτομα.¹⁹

Στην Ευρώπη, η επιληψία επηρεάζει 2,6-6 εκατομμύρια ανθρώπους και ως εκ τούτου αποτελεί σημαντική ανησυχία για τις υπηρεσίες δημόσιας υγείας. Πρέπει να σημειωθεί ότι παρατηρούνται σημαντικές διαφορές μεταξύ της επίπτωσης και του επιπολασμού της επιληψίας, οι οποίες οφείλονται κυρίως στην ύφεση της ασθένειας και λιγότερο στη θνησιμότητα. Οπότε, από τη μία πλευρά, η επίπτωση της ασθένειας στην Ευρώπη κυμαίνεται από 24-82 επιληπτικούς ανά 100.000 άτομα ετησίως. Από την άλλη πλευρά, ο επιπολασμός της στην Ευρώπη ποικίλλει μεταξύ των διαφόρων χωρών και ηλικιακών πληθυσμών από 3.3-7.8 ασθενείς ανά 1.000 άτομα του γενικού πληθυσμού και 3.4-5.8 παιδιατρικούς ασθενείς ανά 1.000 ανήλικα άτομα.¹⁸

Παράλληλα, παρατηρείται ένα τεράστιο χάσμα τόσο στην εμφάνιση της ασθένειας όσο και στη θεραπευτική προσέγγισή της, μεταξύ ανεπτυγμένων και αναπτυσσόμενων χωρών.

Ως προς την εμφάνιση της ασθένειας, μελέτες δείχνουν ότι σε χώρες υψηλού εισοδήματος, οι ετήσιες νέες περιπτώσεις (επίπτωση) κυμαίνονται μεταξύ 30-50 ανά 100.000 άτομα, ενώ σε χώρες χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος, ο αριθμός αυτός μπορεί να είναι έως δύο φορές υψηλότερος (Εικόνα 1.8). Αυτό πιθανότατα οφείλεται στον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης λοιμωδών νοσημάτων (πχ. ελονοσία, νευροκυστικέρκωση), στην υψηλότερη συχνότητα τραυματισμών από οδικά ατυχήματα είτε τραυματισμών σχετιζόμενων με τη γέννηση, αλλά και σε διαφορές στην ιατρική υποδομή και στα προγράμματα υγείας.²⁰

Επίσης, στις ανεπτυγμένες χώρες, η επίπτωση της επιληψίας σχηματίζει μια καμπύλη σχήματος U, με υψηλότερα ποσοστά στα παιδιά και τους ηλικιωμένους. Αντίθετα, η επίπτωσή της στις αναπτυσσόμενες χώρες εμφανίζει μέγιστο κατά την περίοδο της πρώιμης ενηλικίωσης.²⁰



Εικόνα 1.8: Διαφορές στον επιπολασμό, στην επίπτωση και στο έλλειμμα θεραπείας της επιληψίας σε διάφορες ανεπτυγμένες και αναπτυσσόμενες χώρες. Το χρώμα αντιπροσωπεύει την ταξινόμηση της χώρας σύμφωνα με το ακαθάριστο εθνικό εισόδημα, ως εξής: κόκκινο = χαμηλό εισόδημα, κίτρινο = χαμηλότερο μεσαίο εισόδημα, πράσινο = υψηλότερο μεσαίο εισόδημα, μπλε = υψηλό εισόδημα. Επίσης, ορίζονται οι όροι: P = επιπολασμός επιληψίας, I = επίπτωση επιληψίας, TG = θεραπευτικό έλλειμμα.¹⁹

Ως προς τη θεραπευτική προσέγγισή της, φαίνεται ότι το 73,3% των ασθενών με ενεργό επιληψία σε αγροτικές περιοχές χωρών με χαμηλό ή μεσαίο εισόδημα, λαμβάνουν είτε ακατάλληλη είτε καθόλου θεραπευτική αγωγή. Αυτό το θεραπευτικό έλλειμμα (treatment gap) σχετίζεται με πολλές ψυχοκοινωνικές συνέπειες όπως υποβάθμιση της ποιότητας ζωής, κοινωνικό στίγμα και εργασιακές διακρίσεις. Η μειωμένη πρόσβαση στη σωστή θεραπεία σχετίζεται και με υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας. Για παράδειγμα, σε ορισμένες χώρες της Αφρικής, ο τυποποιημένος δείκτης θνησιμότητας λόγω επιληψίας μπορεί να είναι

έως και έξι φορές υψηλότερος από ότι στις ανεπτυγμένες χώρες. Σύμφωνα με τα παραπάνω, και όπως φαίνεται και στην εικόνα 1.8, η επιτυχημένη θεραπευτική προσέγγιση της επιληψίας σχετίζεται άρρηκτα με το κατά κεφαλήν εισόδημα, με σημαντική τάση θεραπευτικού ελλείμματος να παρουσιάζεται σε χώρες με χαμηλότερα εισοδήματα.²¹ (Εικόνα 1.8)

1.7 Αιτιολογία της επιληψίας

Η Διεθνής Οργάνωση κατά της Επιληψίας (ILAE) πρότεινε το 1989 μια αιτιολογική κατάταξη των επιληψιών, που παρουσιάζεται ως εξής:^{10,11}

- **Συμπτωματική:** Οι επιληπτικές κρίσεις πυροδοτούνται από συγκεκριμένο ανατομικό αίτιο, οπότε χορηγείται αντιεπιληπτική αγωγή μέχρι να αντιμετωπιστεί η πρωταρχική αιτία που προκαλεί τις κρίσεις. Χαρακτηριστικοί εκλυτικοί παράγοντες επιληπτικών κρίσεων είναι οι εξής: κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις, αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια, όγκοι, λοίμωξη μηνίγγων, αγγειακή ή φλοιώδης δυσπλασία, πυρετός, συστηματικές λοιμώξεις, μεταβολικές και ηλεκτρολυτικές διαταραχές.
- **Ιδιοπαθής:** Οι επιληπτικές κρίσεις προκαλούνται από μια κληρονομική ανωμαλία του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ). Στην περίπτωση αυτή, η αντιεπιληπτική θεραπεία είναι χρόνια και συνήθως εφ'όρου ζωής.
- **Κρυπτογενής:** Δεν υπάρχει δυνατότητα εύρεσης του αιτιολογικού παράγοντα της επιληπτικής κρίσης.

Περίπου 30 χρόνια αργότερα, το 2017, η ILAE όρισε έξι βασικές αιτιολογικές κατηγορίες, οι οποίες αναλύονται παρακάτω. Ένας ασθενής μπορεί να βρίσκεται ταυτόχρονα σε περισσότερες από μία αιτιολογικές ομάδες.²²

- i. **Δομική αιτιολογία:** Σχετίζεται με τα ευρήματα που προκύπτουν από τη νευροαπεικόνιση του ασθενούς, δηλαδή την εικόνα του ηλεκτροεγκεφαλογραφήματος, πάντα σε συνδυασμό με την κλινική εικόνα.²³ Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται αναπτυξιακές είτε επίκτητες καταστάσεις ως εξής:²⁴

- Δυσπλασίες της φλοιώδους ανάπτυξης
- Εστιακή φλοιϊκή δυσπλασία
- Υποθαλαμικό αμάρτωμα
- Οζώδης σκλήρυνση
- Αγγειακές δυσπλασίες
- Σκλήρυνση υποκάμπου
- Αγγειακά εγκεφαλικά συμβάντα
- Όγκοι
- Άλλη επίκτητη εγκεφαλική ανωμαλία

- ii. **Λοιμώδης αιτιολογία:** Πρέπει να γίνεται διαφοροποίηση μεταξύ ενός επιληπτικού ασθενή και ενός ασθενή με οξεία λοίμωξη, η οποία μπορεί να ευθύνεται για τις επιληπτικές κρίσεις. Διάφορες λοιμώδεις αιτιολογίες (όπως νευροκυστικέρκωση, HIV, CMV, τοξοπλάσμωση εγκεφάλου) λόγω των δομικών επιπτώσεων που έχουν στον εγκέφαλο μπορεί ορισμένες φορές να θεωρηθούν ως δομικής αιτιολογίας παράγοντες πρόκλησης επιληψίας. Βέβαια η εξακρίβωση πιθανής λοιμώδους αιτιολογίας είναι μείζονος σημασίας καθώς τότε θα υπάρξει και διαφοροποίηση στη θεραπεία.²⁵

Οι λοιμώδους αιτιολογίας επιληψίες οφείλονται στους κάτωθι κυριότερους λόγους:²⁴

- Βακτηριακή μηνιγγίτιδα/μηνιγγοεγκεφαλίτιδα
- Ιογενής εγκεφαλίτιδα
- Ελονοσία, τοξοπλάσμωση, νόσος Lyme, σχιστοσωμίαση
- Φυματίωση
- HIV
- Νευροκυστικέρκωση

- iii. **Γενετική αιτιολογία:** Η εύρεση μιας συγκεκριμένης μετάλλαξης ή πολυμορφισμού που σχετίζεται με την πρόκληση επιληψίας σε ένα γονίδιο ή σε έναν αριθμό γονιδίων διαμορφώνει το γενετικό υπόβαθρο της ασθένειας. Τις περισσότερες φορές, η ύπαρξη οικογενειακού ιστορικού επιληψίας και ορισμένων χαρακτηριστικών γνωρισμάτων της ασθένειας (HEΓ, σημειωματολογία επιληπτικών κρίσεων) φαίνεται να είναι επαρκή για να οριστεί η γενετική αιτιολογία της επιληψίας, χωρίς να υπάρχουν τα αντίστοιχα ευρήματα μοριακής γενετικής. Επίσης, η απόλυτη συσχέτιση μιας γενετικής μετάλλαξης με την πρόκληση της ασθένειας είναι αρκετά δύσκολη, καθώς πολλοί ασθενείς εμφανίζουν μεταλλάξεις άγνωστης σημασίας. Παράλληλα, εκτός από τις γενετικά κληρονομούμενες μεταλλάξεις, υπάρχουν πολλές μεταλλάξεις που προκύπτουν de novo. Οπότε ένας επιληπτικός ασθενής μπορεί να έχει γενετική αιτιολογία, χωρίς όμως να εμφανίζει οικογενειακό ιστορικό επιληψίας.²⁶

- iv. **Μεταβολική αιτιολογία:** Αναφέρεται σε επιληψίες οι οποίες οφείλονται σε κάποια μεταβολική διαταραχή. Βέβαια, σε έναν ασθενή με παροδική μεταβολική διαταραχή που οδηγεί σε οξείες συμπτωματικές κρίσεις, δε θα μπορούσε να εξακριβωθεί εάν οι κρίσεις του είναι προκλητές, οπότε δε θα χαρακτηριζόταν ως επιληπτικός. Επίσης, αρκετές μορφές επιληψίας με μεταβολική αιτιολογία δεν έχουν γενετικό υπόβαθρο ενώ άλλες είναι ιδιοπαθείς.²⁷

Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται συγκεκριμένες μεταβολικές διαταραχές και ανεπάρκειες όπως: ²⁴

- Ανεπάρκεια βιοτινιδάσης και σύνθεσης ολοκαρβοξυλάσης
- Ανεπάρκεια B9 στον εγκέφαλο
- Διαταραχές της κρεατίνης
- Ανεπάρκεια του μεταφορέα 1 της γλυκόζης (GLUT1)
- Μιτοχονδριακές διαταραχές
- Ανεπάρκεια PNPO – Επιληψία εξαρτώμενη από την πυριδοξίνη

- ν. **Ανοσολογική αιτιολογία:** Αναφέρεται σε μορφές επιληψίας που οφείλονται σε κάποια αυτοάνοση ασθένεια. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί μια μορφή αυτοάνοσης εγκεφαλίτιδας, η οποία μπορεί να προκαλέσει επιληπτικές κρίσεις. Στη συγκεκριμένη περίπτωση μπορούν να χρησιμοποιηθούν ειδικά νευρωνικά αντισώματα ως διαγνωστικοί παράγοντες, τα οποία στοχεύουν είτε ενδοκυτταρικά αντιγόνα είτε μεμβρανικά αντιγόνα επιφανείας νευρωνικών κυττάρων. ²⁸

Οι ανοσολογικής αιτιολογίας επιληψίες περιλαμβάνουν τα εξής: ²⁴

- Σύνδρομο Rasmussen
- Καταστάσεις που μεσολαβούν αντισώματα
- Εγκεφαλίτιδα με αντισώματα έναντι του υποδοχέα του NMDA
- Αντισώματα έναντι των διαύλων καλίου
- Εγκεφαλοπάθεια αντιδρώσα στα στεροειδή σχετιζόμενη με θυρεοειδοπάθεια
- Σύνδρομο κοιλιοκάκης-επιληψίας-εγκεφαλικών επασβεστώσεων

- νι. **Άγνωστη αιτιολογία:** Αναφέρεται σε ασθενείς που ο αιτιολογικός παράγοντας πρόκλησης των επιληπτικών τους κρίσεων παραμένει ασαφής. ²⁴

Ο παλαιότερα χρησιμοποιούμενος όρος «ιδιοπαθής επιληψία» έχει αντικατασταθεί από τον όρο «γενετικής αιτιολογίας επιληψία», η «συμπτωματική επιληψία» από τον όρο «δομικής/μεταβολικής αιτιολογίας επιληψία» και η «κρυπτογενής επιληψία» αναφέρεται ως «αγνώστου αιτιολογίας επιληψία». ²⁴

1.8 Επιληπτογένεση

Η επιληπτογένεση είναι μια χρόνια διαδικασία που μπορεί να προκληθεί από γενετικούς ή επίκτητους παράγοντες και που μπορεί να συνεχιστεί ακόμα και μετά τη διάγνωση της επιληψίας. ²⁹

Σε μηχανιστικό πλαίσιο, η επιληπτογένεση είναι η διαδικασία με την οποία ένα εγκεφαλικό δίκτυο, που ήταν προηγουμένως φυσιολογικό, τροποποιήθηκε

λειτουργικά προς την αύξηση της ευαισθησίας κατά την κρίση, με αποτέλεσμα να υπάρχει αυξημένη πιθανότητα δημιουργίας αυθόρμητων επαναλαμβανόμενων επιληπτικών κρίσεων.²⁹

Μεταξύ των πολλών προτεινόμενων μηχανισμών επιληπτογένεσης οι πιο σημαντικοί είναι οι εξής: οξειδωτικό στρες, βραχυπρόθεσμες και μακροπρόθεσμες προσαρμοστικές αλλαγές στην ευαισθησία της GABAεργικής νευροδιαβίβασης μέσω GABA-A υποδοχέων, εξασθένηση της ρύθμισης που προκαλείται από τον υποδοχέα ντοπαμίνης, φλεγμονή και φλεγμονώδεις διεργασίες που επηρεάζουν το εξωκυτταρικό νευρωνικό πλέγμα, νευρωνικός κυτταρικός θάνατος, επίδραση ορμονών κ.ά.³⁰

Παράλληλα, έχουν προταθεί αρκετές θεωρίες σχετικά με τους μηχανισμούς που συμβάλλουν στην εξέλιξη της επιληψίας, όπως επέκταση των βλαβών, προσδευτική νευροεκφυλίωση και ανάπτυξη φαρμακολογικής ανοχής.³¹

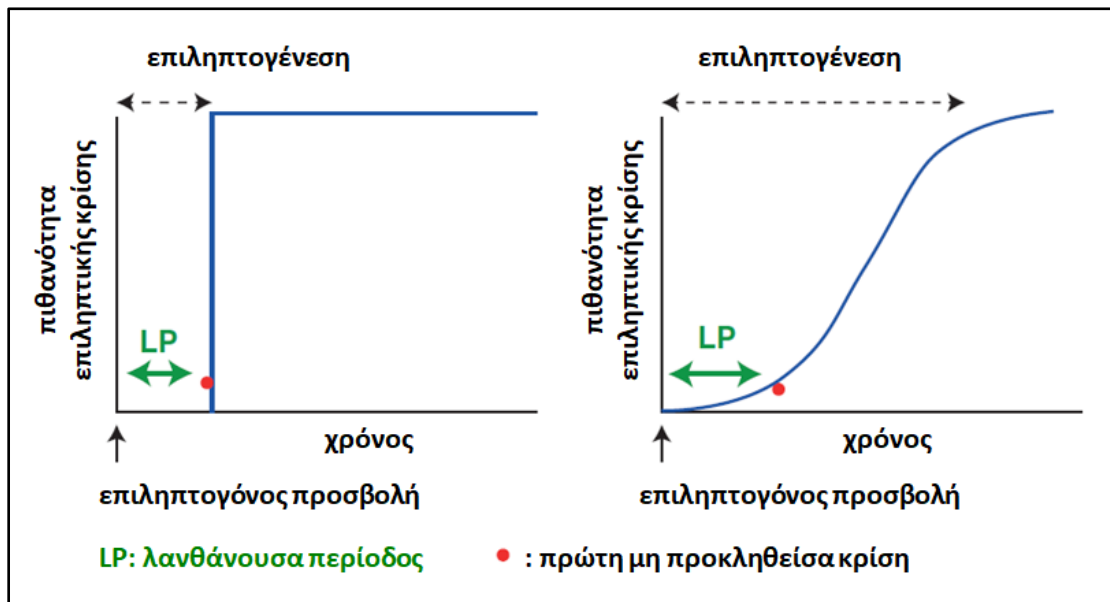
Η επιληπτογένεση θεωρείται ότι περιλαμβάνει τα εξής τρία στάδια:³¹

1. αρχικό γεγονός επιληπτογόνου προσβολής
2. λανθάνουσα περίοδος
3. φάση χρόνιας επιληψίας

Μέχρι πρόσφατα θεωρούνταν ότι η επιληπτογένεση εξαρτάται αποκλειστικά από την λανθάνουσα περίοδο, δηλαδή τη χρονική περίοδο μεταξύ της επιληπτογόνου προσβολής και της εμφάνισης της πρώτης κλινικής κρίσης. Με βάση αυτό βέβαια υπονοείται ότι η εμφάνιση της επίκτητης επιληψίας, όπου η λανθάνουσα περίοδος ορίζεται ως το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από τη στιγμή του τραυματισμού ως την πρώτη επιληπτική κρίση, είναι μια απλή συνάρτηση του χρόνου.^{32,33}

Σύγχρονες μελέτες όμως δείχνουν ότι η επιληπτογένεση εκτείνεται πέρα από την λανθάνουσα περίοδο. Συγκεκριμένα, αναφέρουν ότι η συχνότητα και η σοβαρότητα των επιληπτικών κρίσεων συνεχίζουν να αυξάνονται μετά την πρώτη μη προκληθείσα κρίση, υποδηλώνοντας έτσι ότι η επιληπτογένεση είναι μια συνεχής και παρατεταμένη διαδικασία. Ακόμη, στην εξέλιξη της επιληπτικής κατάστασης μπορεί να συνεισφέρουν και διάφοροι μοριακοί και κυτταρικοί μηχανισμοί, οι οποίοι θα αναλυθούν στη συνέχεια.^{32,33}

Επομένως, ο όρος "επιληπτογένεση" δεν αναφέρεται πλέον μόνο στη χρονική περίοδο μεταξύ της επιληπτογόνου προσβολής και της διάγνωσης της επιληψίας (Εικόνα 1.9Α), αλλά περιλαμβάνει και τους μηχανισμούς εξέλιξης της ασθένειας που μπορούν να συνεχίσουν να εμφανίζονται ακόμη και μετά τη διάγνωσή της (Εικόνα 1.9Β).³⁴



Εικόνα 1.9: Διαφορετικές θεωρήσεις της επιληπτογένεσης. Το 1^ο διάγραμμα βασίζεται στη θεωρία όπου η επιληπτογένεση εξαρτάται αποκλειστικά από την λανθάνουσα περίοδο. Μετά από αυτή θα προκύπτουν επιληπτικές κρίσεις με την ίδια ένταση και συχνότητα. Αντίθετα, το 2^ο διάγραμμα βασίζεται σε νεότερες μελέτες που υποστηρίζουν ότι η επιληπτογένεση δεν εξαρτάται μόνο από τη λανθάνουσα περίοδο αλλά πυροδοτείται από αυτήν και εξελίσσεται σταδιακά.³⁴

1.8.1 Κυτταρικοί μηχανισμοί επιληπτογένεσης

Υπολογιστικά μοντέλα που έχουν προκύψει από μελέτες στον ιππόκαμπο αναφέρουν ότι απαραίτητο στοιχείο των επιληπτικών δικτύων είναι η θετική ανάδραση. Επίσης, χαρακτηριστικό των επιληπτικών νευρώνων είναι ο μετασχηματισμός, δηλαδή η ικανότητα να μεταβαίνουν μεταξύ φυσιολογικού και επιληπτικού τρόπου δράσης.^{34,35}

Έχουν προταθεί δύο βασικά μοντέλα που επιχειρούν να εξηγήσουν το μηχανισμό θετικής ανάδρασης. Το πρώτο μοντέλο υποστηρίζει ότι η θετική ανάδραση προκύπτει λόγω της απώλειας των ανασταλτικών κυκλωμάτων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η απώλεια των κυλινδρικών βλαστικών κυττάρων που διεγείρουν τους ανασταλτικούς νευρώνες στην οδοντωτή έλικα του εγκεφάλου.^{29,36}

Το δεύτερο μοντέλο που έχει αναπτυχθεί υποστηρίζει ότι η θετική ανάδραση προκύπτει λόγω της δημιουργίας νέων συναπτικών συνδέσεων μεταξύ των επιζώντων νευρώνων που απομένουν μετά από μια εγκεφαλική βλάβη. Η βλάστηση του νευράξονα είναι μια συχνή αντίδραση σε μια ποικιλία εγκεφαλικών τραυματισμών και έχει συσχετιστεί με την επιληπτογένεση. Αν και η μοριακή σηματοδότηση που ρυθμίζει τη βλάστηση του νευράξονα διερευνάται ενεργά στον νωτιαίο μυελό, δεν γνωρίζουμε τον ακριβή μηχανισμό της διαδικασίας, για παράδειγμα δεν είναι γνωστό αν υπερισχύει η βλάστηση GABAεργικών ή γλουταμινεργικών νευραξόνων.³⁷⁻³⁹

	αρχική προσβολή	επιληπτογένεση	χρόνια επιληψία
Χρονοδιάγραμμα:	λεπτά - εβδομάδες	εβδομάδες - χρόνια	χρόνια
Επιληπτικές κρίσεις:	+++	- / +	+++
Παθολογία:	• <i>status epilepticus</i> • τραυματισμός • οξεία εγκεφαλίτιδα	• κυτταρική πλαστικότητα • νευροεκφυλισμός • κυτταρική αναδιοργάνωση • βλάβη αιματοεγκεφαλικού φραγμού • ενεργοποίηση μικρογλοίας	• σκλήρυνση του υποκάμπου • τμηματική απώλεια νευρικών κυττάρων • ινώδης γλοιώση

Εικόνα 1.10: Σχηματική απεικόνιση των βασικών γεγονότων που συμβάλλουν στην επιληπτογένεση και διαφοροποίηση αρχικής προσβολής με τη χρόνια επιληπτική κατάσταση.⁴⁰

1.8.2 Μοριακοί μηχανισμοί επιληπτογένεσης

Η εξακρίβωση των μοριακών μηχανισμών επιληπτογένεσης θα μπορούσε να συμβάλει στην αντιμετώπιση της ασθένειας, αποκαλύπτοντας νέους θεραπευτικούς στόχους. Βέβαια, οι περισσότερες έρευνες βασίζονται σε μελέτες "omics" (transcriptomics, epigenomics, proteomics, metabolomics), οι οποίες όμως περιγράφουν οξείες μοριακές παθολογίες που εμφανίζονται μέσα σε λίγες ημέρες μετά από μια επιληπτική κρίση και, ως εκ τούτου, είναι δύσκολο να ερμηνευθεί εάν όντως αντιπροσωπεύουν μηχανισμούς που οδηγούν σε επιληπτογένεση ή είναι απλώς αποτελέσματα τραυματισμού λόγω της κρίσης.³⁴

Η πλειοψηφία των μελετών "omics" σχετίζεται με την αξιολόγηση αλλαγών στην έκφραση γονιδίων και έπειτα γίνεται πιθανός συσχετισμός της αλλαγής με την εκδήλωση επιληψίας. Γενικά, έχουν αναφερθεί μεταβολές στην έκφραση εκατοντάδων γονιδίων σε διάφορα ζωϊκά μοντέλα, όμως πολύ λίγα από αυτά τα γονίδια έχουν βρεθεί να έχουν ανώμαλη ρύθμιση σε περισσότερες από μία μελέτες ή μοντέλα.⁴¹

Παράλληλα, μελέτες στις οποίες η δειγματοληψία του ιστού διεξήχθη σε διάφορα χρονικά διαστήματα μετά την επιληπτική προσβολή υποδεικνύουν ότι τα μεμονωμένα γονίδια παρουσιάζουν διαφορετικά χρονικά προφίλ έκφρασης. Ταυτόχρονα, είναι δυνατόν να εντοπιστούν ομάδες γονιδίων που μεταβάλλουν τα επίπεδα έκφρασής τους με συντονισμένο τρόπο. Τα παραπάνω δεδομένα υποδεικνύουν ότι οι μεταβολές στο μεταγράψωμα κατά τη διάρκεια της επιληπτογένεσης είναι χρονικές και δυναμικές, κάτι που είναι ιδιαίτερα σημαντικό για τη θεραπευτική προσέγγιση της ασθένειας. Για παράδειγμα, η θεραπευτική αγωγή θα μπορούσε να προσαρμοστεί ανάλογα με το χρόνο εμφάνισης και τον τύπο της επιληπτογόνου προσβολής.^{34,41,42}

Αναλύσεις μεγάλου όγκου δεδομένων έχουν οδηγήσει στην ταυτοποίηση διάφορων μοριακών γονιδιακών και πρωτεϊνικών δικτύων τα οποία επηρεάζονται άμεσα ή

έμμεσα από την διαδικασία της επιληπτογένεσης. Μερικά από αυτά είναι τα εξής: συμμετοχή πρωτεολυτικών καταρρακτών, μετασχηματισμός του αυξητικού παράγοντα TGF- β , σηματοδότηση ινσουλινοειδούς αυξητικού παράγοντα 1 (IGF-1), ενεργοποίηση του συμπληρώματος και η τροποποίηση της γονιδιακής έκφρασης που σχετίζεται με το οξειδωτικό στρες και τη διακίνηση συναπτικών κυστιδίων.³⁴

Επιπρόσθετα, η έντονη δυναμική του μεταγραφώματος οδήγησε τους ερευνητές να αναζητήσουν τους παράγοντες που ελέγχουν τη γονιδιακή έκφραση. Φαίνεται ότι καθοριστικός είναι ο ρόλος των μεταγραφικών παραγόντων, καθώς αυτοί είναι υπεύθυνοι για τον έλεγχο της έκφρασης πολλών γονιδίων. Για παράδειγμα, ο CREB ελέγχει τη διαφορική έκφραση των γονιδίων στον ανθρώπινο επιληπτικό φλοιό, ενώ ο NRSF καταστέλλει την επιληπτογένεση και ρυθμίζει γονίδια-στόχους που σχετίζονται με την αναδιαμόρφωση του νευρωνικού δικτύου.^{43,44}

Ένα άλλο επίπεδο ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης είναι η επιγενετική ρύθμιση, η οποία μπορεί να παρουσιαστεί είτε ως μεταβολή στη μεθυλίωση του DNA, είτε ως τροποποίηση στις ιστόνες, είτε ως ρύθμιση της μεταγραφής από miRNAs. Έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον φαίνεται να έχει η ρύθμιση μέσω miRNAs, καθώς και αυτά εμφανίζουν δυναμικές και εξαρτώμενες από το χρόνο μεταβολές στην έκφρασή τους όπως και το mRNA. Οποιοσδήποτε αλλαγές στο επίπεδο των miRNAs κατά την επιληπτογένεση μπορούν να μελετηθούν αναλύοντας την έκφραση των αντίστοιχων mRNAs στόχων τους.^{45,46}

1.8.3 Βιοδείκτες Επιληπτογένεσης

Ως βιοδείκτης ορίζεται ένα αντικειμενικά μετρήσιμο χαρακτηριστικό μιας φυσιολογικής ή παθολογικής βιολογικής διεργασίας.⁴⁷

Η εύρεση πιθανών βιοδεικτών της επιληπτογένεσης θα ήταν καθοριστικής σημασίας καθώς αυτοί θα μπορούσαν:⁴⁷

- i. να προβλέψουν την εκδήλωση της ασθένειας
- ii. να αναγνωρίσουν την παρουσία ιστών ικανών να προκαλέσουν αυθόρμητες επιληπτικές κρίσεις
- iii. να μετρήσουν την εξέλιξη της επιληψίας, αφού αυτή έχει εγκαθιδρυθεί
- iv. να χρησιμοποιηθούν για τη δημιουργία ζωικών μοντέλων στα οποία θα εξετάζεται η εύρεση του κατάλληλου αντιεπιληπτικού φαρμάκου
- v. να μειώσουν το κόστος των κλινικών μελετών για πιθανές αντιεπιληπτικές παρεμβάσεις, εμπλουτίζοντας τον πληθυσμό της δοκιμής με ασθενείς με υψηλό κίνδυνο εμφάνισης επιληψίας

1.8.3.1 Μοριακοί βιοδείκτες

Η ύπαρξη μοριακών βιοδεικτών, ιδιαίτερα εκείνων που είναι εύκολα ανιχνεύσιμοι στα σωματικά υγρά, έχει ιδιαίτερη σημασία για τη διάγνωση ασθενών που αναπτύσσουν επιληψία μετά από εγκεφαλική προσβολή. Βέβαια, η ανακάλυψη μοριακών βιοδεικτών επιληπτογένεσης παρεμποδίζεται σημαντικά από τη δυναμική φύση αυτής της διαδικασίας.⁴⁰

Τόσο απεικονιστικά όσο και μοριακά δεδομένα υποδεικνύουν ότι οι παθολογικές αλλαγές που σχετίζονται με την επιληπτογένεση (γλοίωση, δυσλειτουργία φραγμού αίματος-εγκεφάλου, νευροεκφυλισμός, ανώμαλη πλαστικότητα) εμφανίζονται διαδοχικά και παράλληλα και πιθανόν να εξαρτώνται από την εκάστοτε αιτιολογία της ασθένειας. Διαφορετικά σύνολα βιοδεικτών μπορεί να είναι απαραίτητα για διαφορετικά στάδια και αιτιολογίες της επιληπτογένεσης. Κοινός παρανομαστής βέβαια για όλους τους βιοδείκτες θα πρέπει να είναι η υψηλή ειδικότητα και ευαισθησία τους αλλά και η εύκολη ανιχνευσιμότητά τους.⁴⁰

1.8.3.2 Ηλεκτρογραφικοί βιοδείκτες

Μετά από μια μη προκληθείσα επιληπτική κρίση, οι ασθενείς συνήθως αξιολογούνται με διεξαγωγή ηλεκτροεγκεφαλογραφήματος (ΗΕΓ). Η παρουσία ηλεκτρογραφικών παρεμβολικών σημείων σε μια τέτοια καταγραφή οδηγεί στη διάγνωση επιληψίας, όμως δεν εξετάζει αν προηγείται η εμφάνιση των αιχμών ή των επιληπτικών κρίσεων. Εάν οι αιχμές αναπτύσσονται πριν από τις κρίσεις, θα μπορούσαν να αποτελέσουν σημαντικό βιοδείκτη επιληπτογένεσης.³⁴

1.8.3.3 Απεικονιστικοί βιοδείκτες

Η μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου (MRI) αποτελεί μια σημαντική προσέγγιση για την παρακολούθηση της επιληπτογένεσης με την πάροδο του χρόνου και για τον εντοπισμό βιοδεικτών με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα. Δεδομένα από πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι η επιληπτογένεση που προκαλείται από διαφορετικές δομικές αιτιολογίες μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη διαφορετικών βιοδεικτών.³⁴

1.9 Αντιεπιληπτικά Φάρμακα (ΑΕΦ)

1.9.1 Ιστορία Αντιεπιληπτικών Φαρμάκων

Η σύγχρονη θεραπεία της επιληψίας ξεκινάει το 1857 από τον Sir Charles Locock, ο οποίος χρησιμοποίησε βρωμιούχο κάλιο για την αντιμετώπιση επιληπτικών κρίσεων σε γυναίκες με υστερική επιληψία που σχετίζεται με την έμμηνο ρύση. Παρόλο που δεν υπάρχουν τυχαιοποιημένες δοκιμές με βρωμιούχο κάλιο, υπάρχουν επαρκή κλινικά δεδομένα για να υποστηριχθεί ο ισχυρισμός ότι πρόκειται για το πρώτο αποτελεσματικό αντιεπιληπτικό φάρμακο.⁴⁸

Το επόμενο σημείο ορόσημο για την ιστορία των αντιεπιληπτικών φαρμάκων ήταν η ανακάλυψη της φαινοβαρβιτάλης και των αντισπασμωδικών ιδιοτήτων της, το 1912 από τον ψυχίατρο Alfred Hauptmann. Αυτός έκανε την παρατήρηση ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για την αντιμετώπιση της επιληψίας, καθώς μέχρι τότε κυκλοφορούσε στο εμπόριο ως υπνωτικό φάρμακο. Η παρατήρησή του δημοσιεύτηκε και η φαινοβαρβιτάλη έγινε το πιο δημοφιλές αντιεπιληπτικό φάρμακο της εποχής, ενώ συνεχίζει να συνταγογραφείται ακόμα και σήμερα λόγω του μετρίου κόστους της.⁴⁹

Με την πάροδο των χρόνων όμως, δημιουργήθηκε η ανάγκη για την ανάπτυξη ενός αντιεπιληπτικού φαρμάκου με χαμηλότερη ηρεμιστική δράση. Το 1934, ο Tracy Putnam και ο Frederic Gibbs άρχισαν να εξετάζουν μια σειρά μη κατασταλτικών φαινυλικών ενώσεων. Μόνο μία από αυτές, η φαινυτοΐνη, είχε υψηλή αποτελεσματικότητα και χαμηλή τοξικότητα, οπότε μπόρεσε να κυκλοφορήσει στην αγορά. Μάλιστα, η επιτυχία της ήταν τόσο μεγάλη, που ακόμα και σήμερα θεωρείται το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο φάρμακο στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής.⁵⁰

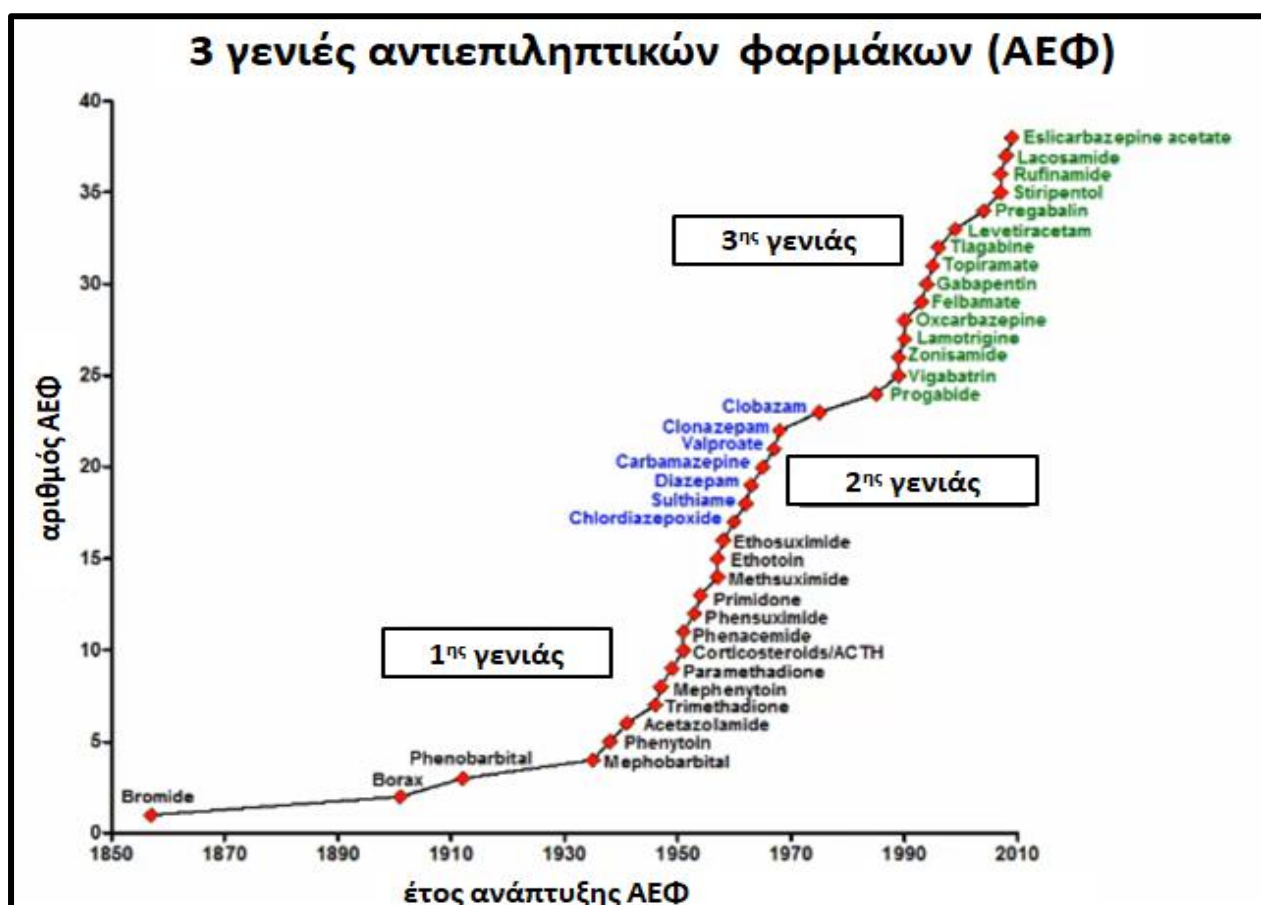
Το επόμενο φάρμακο που κυκλοφόρησε ήταν η τριμεθαδιόνη, η οποία το 1946 καθιερώθηκε για τη θεραπεία των *petit mal* κρίσεων. Λίγα χρόνια αργότερα δημιουργήθηκε η ανάγκη για ένα λιγότερο τοξικό φάρμακο με την παραπάνω ένδειξη, οπότε το 1958 δόθηκε αδειοδότηση για την εθουσιξιμίδα.⁵¹

Στη συνέχεια, το επόμενο σημαντικό φάρμακο που κυκλοφόρησε ήταν η καρβαμαζεπίνη, η οποία έγινε ευρέως διαθέσιμη στα μέσα της δεκαετίας του 1960. Η σύνθεσή της έγινε το 1953 από τον Schindler, ο οποίος έψαχνε κάποιον πιθανό ανταγωνιστή για το τότε πιο πρόσφατο αντιψυχωτικό φάρμακο, τη χλωροπρομαζίνη. Η πρώτη μελέτη για τη χορήγηση καρβαμαζεπίνης στην επιληψία δεν διεξήχθη μέχρι το 1963, ενώ κυκλοφόρησε ως αντισπασμωδικό στο Ηνωμένο Βασίλειο το 1965. Την ίδια χρονιά, ο Pierre Eymard ανακαλύπτει την αντισπασμωδική δράση του βαλπροϊκού οξέος, το οποίο αφού υποβλήθηκε σε εκτεταμένη κλινική έρευνα, κυκλοφόρησε τελικά το 1967 στη Γαλλία ως αντιεπιληπτικό φάρμακο.^{51,52}

Τέλος, η αξία των βενζοδιαζεπινών για τη θεραπεία της επιληψίας αναγνωρίστηκε αμέσως μετά τη σύνθεσή τους από τον Leo Sternbach, τη δεκαετία του 1960. Παράλληλα, το 1965 δημοσιεύτηκε μια εργασία του Henry Gastaut σχετικά με την αποτελεσματικότητα της διαζεπάμης για την αντιμετώπιση του *status epilepticus*, ενώ λίγα χρόνια αργότερα αποδείχθηκε ότι η κλοναζεπάμη είναι καταλληλότερη. Πλέον, η κλοβαζάμη είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη από του στόματος βενζοδιαζεπίνη για μια σειρά ανθεκτικών επιληψιών, ενώ η διαζεπάμη, η μιδαζολάμη και η λοραζεπάμη χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση επαναλαμβανόμενων κρίσεων και για το *status epilepticus*.^{51,53}

Για την ανάπτυξη των σύγχρονων αντιεπιληπτικών φαρμάκων, σημείο ορόσημο αποτέλεσε η δημιουργία του «Προγράμματος ανάπτυξης αντισπασμωδικών φαρμάκων» το 1975 από το Εθνικό Ινστιτούτο Νευρολογικών Διαταραχών και Εγκεφαλικού επεισοδίου στις ΗΠΑ. Έκτοτε έχουν εξεταστεί πάνω 28.000 νέες χημικές ενώσεις με αποτέλεσμα την αδειοδότηση ενός αυξανόμενου αριθμού νέων αντιεπιληπτικών φαρμάκων, καλύτερα ανεκτών και με βελτιωμένη φαρμακοκινητική. Οι παραπάνω ενώσεις ταυτοποιήθηκαν μέσω προσανατολισμένου σχεδιασμού, δομικής τροποποίησης ήδη υπάρχοντων μορίων και συστηματικής διαλογής σε συγκεκριμένα μοντέλα επιληπτικών κρίσεων σε ποντίκια.^{54,55}

Παρά την επιστημονική πρόοδο στην κατανόηση της παθοφυσιολογίας της επιληψίας και παρά τον μεγάλο αριθμό των αντιεπιληπτικών φαρμάκων πρώτης και δεύτερης γενιάς, περίπου το 30% των επιληπτικών ασθενών δε θεραπεύεται επαρκώς. Για αυτούς τους ασθενείς, η καταλληλότερη θεραπευτική αντιμετώπιση είναι είτε η συνδυασμένη χορήγηση δύο ή περισσότερων αντιεπιληπτικών φαρμάκων είτε η χορήγηση νέων αντιεπιληπτικών φαρμάκων τρίτης γενιάς.⁵⁶ (Εικόνα 1.11)



Εικόνα 1.11: Χρονολογική απεικόνιση εισαγωγής αντιεπιληπτικών φαρμάκων στην αγορά (από το 1853 έως το 2009)⁵⁴

1.9.2 Μηχανισμός Δράσης Αντιεπιληπτικών Φαρμάκων

Η εκδήλωση της επιληψίας οφείλεται στη διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ διέγερσης και αναστολής του νευρώνα. Τα διάφορα αντιεπιληπτικά φάρμακα προκαλούν μείωση της επιληπτικής δραστηριότητας αλληλεπιδρώντας με τα μόρια στόχους τους. Επίσης, τα περισσότερα από αυτά έχουν περισσότερους από έναν μοριακούς στόχους και μηχανισμούς δράσης.¹²

1.9.2.1 Ενίσχυση της ανασταλτικής δράσης του GABA

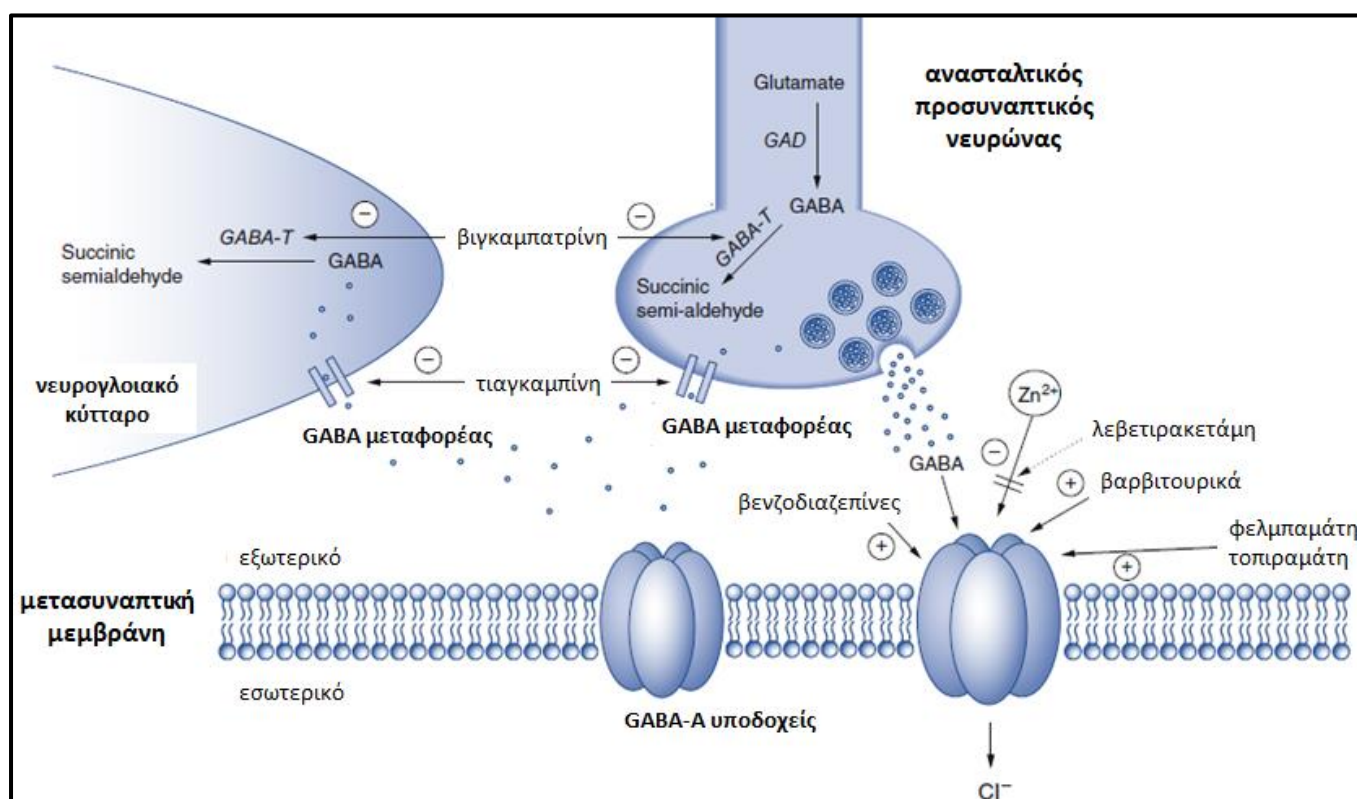
Το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) είναι ο πιο άφθονος και σημαντικός ανασταλτικός νευροδιαβιβαστής. Η ενίσχυση της ανασταλτικής του δράσης αποτελεί το βασικό μηχανισμό δράσης μιας πληθώρας αντιεπιληπτικών φαρμάκων.⁵⁷

Η σύνδεση του γ-αμινοβουτυρικού οξέος με τους υποδοχείς του διευκολύνει την είσοδο των ιόντων χλωρίου μέσα στα κύτταρα, μέσω των διαύλων χλωρίου. Τα ιόντα χλωρίου είναι αρνητικά φορτισμένα, οπότε η είσοδός τους μέσα στα κύτταρα κάνει το δυναμικό ηρεμίας της μεμβράνης πιο αρνητικό από τη μέσα πλευρά των κυττάρων, καθιστώντας την αποπόλωσή τους πιο δύσκολη.¹²

Μερικά αντιεπιληπτικά φάρμακα δρουν ως αγωνιστές των GABA-A υποδοχέων, στοχεύοντας στην υπερπόλωση των κυττάρων και στην αναστολή πυροδότησης δυναμικών ενέργειας. Μπορεί είτε να προσδεθούν άμεσα στη θέση πρόσδεσης του GABA πάνω στον υποδοχέα του, είτε να δράσουν σε κάποια αλλοστερική θέση. Τέτοιες αλλοστερικές θέσεις πρόσδεσης έχουν οι GABA-A υποδοχείς για βενζοδιαζεπίνες και βαρβιτουρικά. Η ενεργοποίηση του υποδοχέα από βενζοδιαζεπίνες αυξάνει τη συχνότητα διάνοιξής του, ενώ η ενεργοποίησή του από τα βαρβιτουρικά αυξάνει τη διάρκεια διάνοιξής του.^{12,57,58} (Εικόνα 1.12)

Υπάρχουν επίσης φάρμακα που είτε ανταγωνίζονται την επαναπρόσληψη του GABA στους νευρώνες και τα νευρογλοιακά κύτταρα (πχ. τιαγκαμπίνη) είτε παρεμποδίζουν τη μεταβολική αποικοδόμησή του (πχ. βιγκαμπατρίνη). Επιπλέον, κάποια φάρμακα αυξάνουν τη σύνθεση και την ανακύκλωση του GABA (πχ. βαλπροϊκό, γκαμπαπεντίνη).^{12,57,58} (Εικόνα 1.12)

Αντιεπιληπτικά φάρμακα που δρουν ενισχύοντας την ανασταλτική δράση του GABA παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.1.



Εικόνα 1.12: Σχηματική αναπαράσταση της ανασταλτικής νευρικής σύναψης του GABA-A υποδοχέα και τρόπος δράσης διάφορων αντιεπιληπτικών φαρμάκων σε αυτήν. Όπως φαίνεται στην εικόνα, στον υποδοχέα μπορεί είτε να συνδεθεί απευθείας ο προσδέτης του (GABA), είτε να συνδεθούν βενζοδιαζεπίνες, βαρβιτουρικά, φελμπαμάτη και τοπιραμάτη σε αλλοστερικές θέσεις πρόσδεσης. Επίσης, κάποια αντιεπιληπτικά φάρμακα μπορούν να μη δράσουν απευθείας στον υποδοχέα. Συγκεκριμένα, η τιαγκαμπίνη εμποδίζει την επαναπρόσληψη του GABA στα νευρογλοϊκά κύτταρα, ενώ η βιγκαμπατρίνη εμποδίζει την μεταβολική αποικοδόμησή του.⁵⁸

Πίνακας 1.1: Αντιεπιληπτικές δραστικές ουσίες και τα αντίστοιχα ονόματα των εμπορικών σκευασμάτων που δρουν ενισχύοντας την ανασταλτική δράση του GABA¹²

Δραστική ουσία	Εμπορικό όνομα
βιγκαμπατρίνη	Sabril
κλομπαζάμη	Frisium
κλοναζεπάμη	Clonotril
πριμιδόνη	Mysoline
τιαγκαμπίνη	Gabitril
φαινοβαρβιτάλη	Gardenal
διαζεπάμη	Stedon
βαλπροϊκό οξύ	Depakine
γκαμπαπεντίνη	Neurontin
πρεγκαμπαλίνη	Lyrica
τοπιραμάτη	Topamac
ρετιγκαμπίνη	Trobalt

1.9.2.2 Μείωση της διεγερτικής δράσης του γλουταμινικού οξέος

Το γλουταμινικό οξύ είναι ο σημαντικότερος διεγερτικός νευροδιαβιβαστής, ο οποίος οδηγεί σε άμεση διεγερτική νευρομεταβίβαση, μέσω ενεργοποίησης των ιοντοτροπικών γλουταμινεργικών υποδοχέων. Υπάρχουν τρεις τέτοιοι τύποι υποδοχέων: οι N-μεθυλο-D-ασπαρτικοί (NMDA), οι α-αμινο-3-υδροξυ-5-μεθυλο-4-ισοξαζολικό προπιονικοί (AMPA) και οι καϊνικοί υποδοχείς. Η σύνδεση του γλουταμινικού οξέος σε αυτούς τους υποδοχείς διευκολύνει τη δίοδο του ασβεστίου και του νατρίου μέσα στο κύτταρο, ενώ ωθεί το κάλιο έξω από το κύτταρο. Οπότε, ελαττώνεται το αρνητικό δυναμικό ηρεμίας της μεμβράνης, οδηγώντας σε εκπόλωσή της και ενισχυμένη νευρωνική διεγερσιμότητα.⁵⁷

Μερικά αντιεπιληπτικά φάρμακα δρουν με τον ανταγωνισμό ενός ή περισσότερων τύπων υποδοχέων του γλουταμινικού οξέος. Για παράδειγμα, η τοπιραμάτη εξασθενεί τη ροή από τους AMPA και τους καϊνικούς υποδοχείς. Ένα άλλο φάρμακο, η φελμπαμάτη έχει διπλό μηχανισμό δράσης, αφού αποκλείει τους NMDA υποδοχείς αλλά και ενισχύει ταυτόχρονα την GABAεργική δράση.¹² (Εικόνα 1.14)

Αντιεπιληπτικά φάρμακα που δρουν μειώνοντας την διεγερτική δράση του γλουταμινικού οξέος παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.2.

Πίνακας 1.2: Αντιεπιληπτικές δραστικές ουσίες και τα αντίστοιχα ονόματα των εμπορικών σκευασμάτων που δρουν μειώνοντας την διεγερτική δράση του γλουταμινικού οξέος¹²

Δραστική ουσία	Εμπορικό όνομα
φελμπαμάτη	Felbatol
τοπιραμάτη	Topamac
λακοσαμίδη	Vimpat

1.9.2.3 Τροποποίηση της ιοντικής αγωγιμότητας στα κανάλια νατρίου

Κάθε κανάλι νατρίου περιλαμβάνει ένα σύμπλοκο πολυπεπτιδικών υπομονάδων. Συγκεκριμένα, αποτελείται από μία κύρια α-υπομονάδα και μία ή περισσότερες β-υπομονάδες, οι οποίες ρυθμίζουν τις κινητικές ιδιότητες της α-υπομονάδας.⁵⁸

Τα κανάλια νατρίου συναντώνται σε τρεις λειτουργικές καταστάσεις:

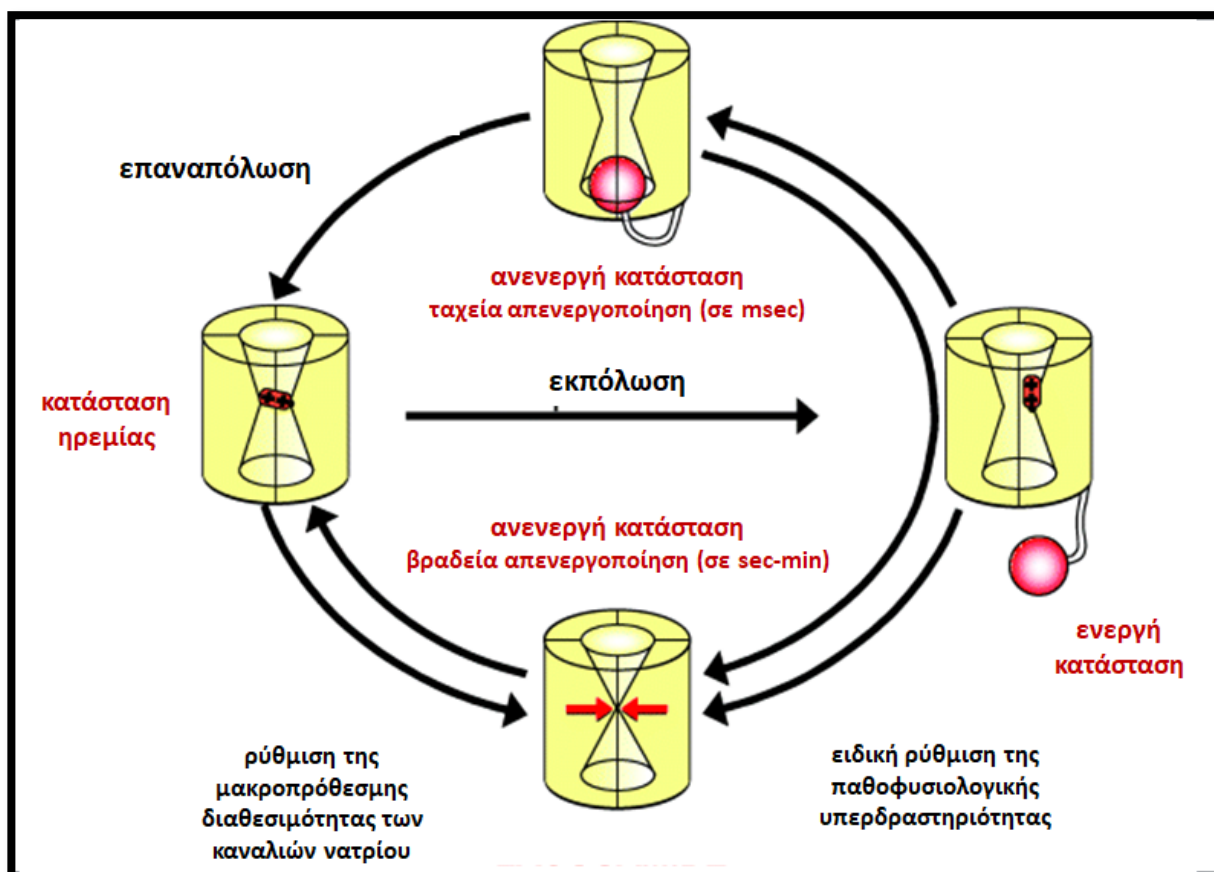
- ηρεμίας (επιτρέπουν τη δίοδο νατρίου)
- ενεργά (επιτρέπουν τη δίοδο νατρίου)
- ανενεργά (δεν επιτρέπουν τη δίοδο νατρίου)

Η πυροδότηση ενός δυναμικού δράσης από ένα νευράξονα απαιτεί τη δίοδο νατρίου μέσα από αυτόν, διαμέσου καναλιών νατρίου. Κατά την εκπόλωση της μεμβράνης, τα κανάλια νατρίου ενεργοποιούνται και ανοίγουν, υποκινώντας έτσι τη γρήγορη αύξηση του δυναμικού δράσης της μεμβράνης. Η κατάσταση ενεργοποίησης είναι αυτοπεριοριζόμενη και τα κανάλια στη συνέχεια

απενεργοποιούνται, διακόπτοντας έτσι το δυναμικό δράσης. Η επαναπόλωση της νευρωνικής μεμβράνης εκκινεί το κανάλι νατρίου για επακόλουθη ενεργοποίηση.^{57,59} (Εικόνα 1.13)

Η ανενεργή κατάσταση των καναλιών είναι πολύ σημαντική καθώς εμποδίζεται η μόνιμη μετάδοση του δυναμικού δράσης και το κανάλι δε συμβάλλει πλέον στη νευρωνική διεγερσιμότητα. Η διαδικασία απενεργοποίησης μπορεί να είναι ταχεία, δηλαδή το κλείσιμο του καναλιού να συμβαίνει μέσα σε χιλιοστά δευτερολέπτου, είτε βραδεία, όπου το κλείσιμο διαρκεί από μερικά δευτερόλεπτα μέχρι λεπτά. Καταστάσεις βραδείας απενεργοποίησης παρατηρούνται συνήθως υπό συνθήκες παρατεταμένης εκπόλωσης και επαναλαμβανόμενης ενεργοποίησης του καναλιού.^{57,59}

Πολλά αντιεπιληπτικά φάρμακα βασίζονται στην κατάσταση απενεργοποίησης, σταθεροποιώντας την ανενεργή μορφή των καναλιών νατρίου και εμποδίζοντας έτσι την επιστροφή τους στην ενεργή κατάσταση. Αυτό με τη σειρά του εμποδίζει τη σταθερή επαναλαμβανόμενη πυροδότηση του άξονα.¹² (Εικόνα 1.14)



Εικόνα 1.13: Φυσιολογία τασεοεξαρτώντων καναλιών νατρίου. Φαίνεται η χαρακτηριστική μεταπήδηση των καναλιών στις διάφορες λειτουργικές τους καταστάσεις, ανάλογα με το δυναμικό της μεμβράνης.⁵⁹

Αντιεπιληπτικά φάρμακα που δρουν τροποποιώντας την ιοντική αγωγιμότητα καναλιών νατρίου παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.3.

Πίνακας 1.3: Αντιεπιληπτικές δραστικές ουσίες και τα αντίστοιχα ονόματα των εμπορικών σκευασμάτων που δρουν τροποποιώντας την ιοντική αγωγιμότητα καναλιών νατρίου ¹²

Δραστική ουσία	Εμπορικό όνομα
φαινυτοΐνη	Epanutin
καρβαμαζεπίνη	Tegretol
οξκαρβαζεπίνη	Trileptal
λαμοτριγίνη	Lamictal
λακοσαμίδη	Vimpat
εσλικαρβαζεπίνη	Zebinix
ρουφιναμίδη	Inovelon
ζονισαμίδη	Zonegran
τοπιραμάτη	Topamac
βαλπροϊκό οξύ	Depakine

1.9.2.4 Τροποποίηση της ιοντικής αγωγιμότητας στα κανάλια ασβεστίου

Τα τασεοεξαρτώμενα κανάλια ασβεστίου είναι σύμπλοκα που σχηματίζονται από διαφορετικές υπομονάδες, με τις α_1 υπομονάδες να σχηματίζουν τον τασεοευαίσθητο πόρο που ανταλλάσσει τα ιόντα, ενώ κάποιες βοηθητικές υπομονάδες ($\alpha_2\gamma$, β και γ) να ρυθμίζουν τη διαδικασία ανοίγματος και κλεισίματος του καναλιού. Ιδιαίτερα οι $\alpha_2\delta$ βοηθητικές υπομονάδες αποτελούν σημαντικούς θεραπευτικούς στόχους λόγω της έντονης ρυθμιστικής τους δράσης. Η πρεγκαμπαλίνη δρα μέσω σύνδεσης στην $\alpha_2\delta$ βοηθητική υπομονάδα του καναλιού, τροποποιώντας την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών, όπως γλουταμινικού οξέος, νοραδρεναλίνης και ουσίας P. ⁶⁰

Ανάλογα με την τασεοευαισθησία τους, τα κανάλια ασβεστίου μπορούν να ταξινομηθούν σε ενεργοποιούμενα από χαμηλή τάση και ενεργοποιούμενα από υψηλή τάση κανάλια. Ένα είδος ενεργοποιούμενων από χαμηλή τάση καναλιών, τα κανάλια T-τύπου, συμμετέχουν έντονα στις μη φυσιολογικές ταλαντώσεις που συμβαίνουν στην περιοχή του θαλάμου κατά τις αφαιρετικές επιληπτικές κρίσεις. Φάρμακα που αναστέλλουν την T-ροή του ασβεστίου χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση των αφαιρέσεων. ⁶¹

Τα L-, N-, P-, R- και Q- κανάλια ασβεστίου ενεργοποιούνται από υψηλό δυναμικό και διαχωρίζονται από τα χαμηλού δυναμικού T-κανάλια ασβεστίου. Αυτού του είδους τα κανάλια, βρίσκονται κυρίως σε προσυναπτικά νευρωνικά τερματικά και συνδέονται λειτουργικά με την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών. Ο αποκλεισμός ενεργοποιημένων καναλιών ασβεστίου υψηλής τάσης αποτρέπει την υπερβολική απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών. Αντιεπιληπτικά φάρμακα που έχουν ως στόχο

υψηλού δυναμικού κανάλια ασβεστίου είναι η λεβετιρακετάμη, η λαμοτριγίνη, η φαινοβαρβιτάλη, η φελμπαμάτη και η τοπιραμάτη. (Εικόνα 1.14) ⁶²

Αντιεπιληπτικά φάρμακα που δρουν τροποποιώντας την ιοντική αγωγιμότητα καναλιών ασβεστίου παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.4.

Πίνακας 1.4: Αντιεπιληπτικές δραστικές ουσίες και τα αντίστοιχα ονόματα των εμπορικών σκευασμάτων που δρουν τροποποιώντας την ιοντική αγωγιμότητα καναλιών ασβεστίου ¹²

Δραστική ουσία	Εμπορικό όνομα
αιθοσουμίδη	Zarontin
λεβετιρακετάμη	Keppra
γκαμπαπεντίνη	Neurontin
πρεγκαμπαλίνη	Lyrica
λαμοτριγίνη	Lamictal
τοπιραμάτη	Topamac
οξκαρβαζεπίνη	Trileptal
φαινοβαρβιτάλη	Gardenal

1.9.2.5 Σύνδεση με την SV2A συναπτική πρωτεΐνη

Η SV2A είναι μια συναπτική πρωτεΐνη που εντοπίζεται στους νευρώνες και σχετίζεται με τη μεμβράνη των συναπτικών κυστιδίων. Υπάρχουν διάφορες υποθέσεις σχετικά με τη λειτουργία της, όπως παγίδευση μορίων νευροδιαβιβαστών, μείωση ωσμωτικής πίεσης εντός του κυστιδίου, συμμετοχή στην διαδικασία εξωκύττωσης του κυστιδίου και ρύθμιση της μορφής και της διακίνησης των κυστιδίων. Ωστόσο, καμία από αυτές τις υποθέσεις δεν έχει επιβεβαιωθεί. ⁶²

Το αντιεπιληπτικό φάρμακο λεβετιρακετάμη αλληλεπιδρά με την συναπτική πρωτεΐνη SV2A, με τη σύνδεση του φαρμάκου με την SV2A να αυξάνει το θεραπευτικό του αποτέλεσμα, χωρίς όμως να έχει αναγνωριστεί ο ακριβής μηχανισμός της διαδικασίας. ⁶³ (Εικόνα 1.14)

1.9.2.6 Τροποποίηση της ιοντικής αγωγιμότητας στα κανάλια καλίου

Τα κανάλια καλίου λειτουργούν επαναπολώνοντας τη μεμβράνη στο τέλος του δυναμικού ενέργειας. Ορισμένα αντιεπιληπτικά φάρμακα έχουν αναπτυχθεί ως αγωνιστές των καναλιών καλίου, μειώνοντας έτσι την αυξημένη διεγερσιμότητα του εγκεφαλικού ιστού. ⁶⁴

Ένα χαρακτηριστικό φάρμακο που δρα ως αγωνιστής στα κανάλια καλίου είναι η ρετιγκαμπίνη. Το φάρμακο αυτό επιτρέπει τη δημιουργία ενός αρχικού δυναμικού ενέργειας, αλλά βοηθά το νευρώνα να αντισταθεί στην επαναλαμβανόμενη

πυροδότηση, που είναι χαρακτηριστικό των επιληπτικών κρίσεων.⁶⁴ (Εικόνα 1.14)

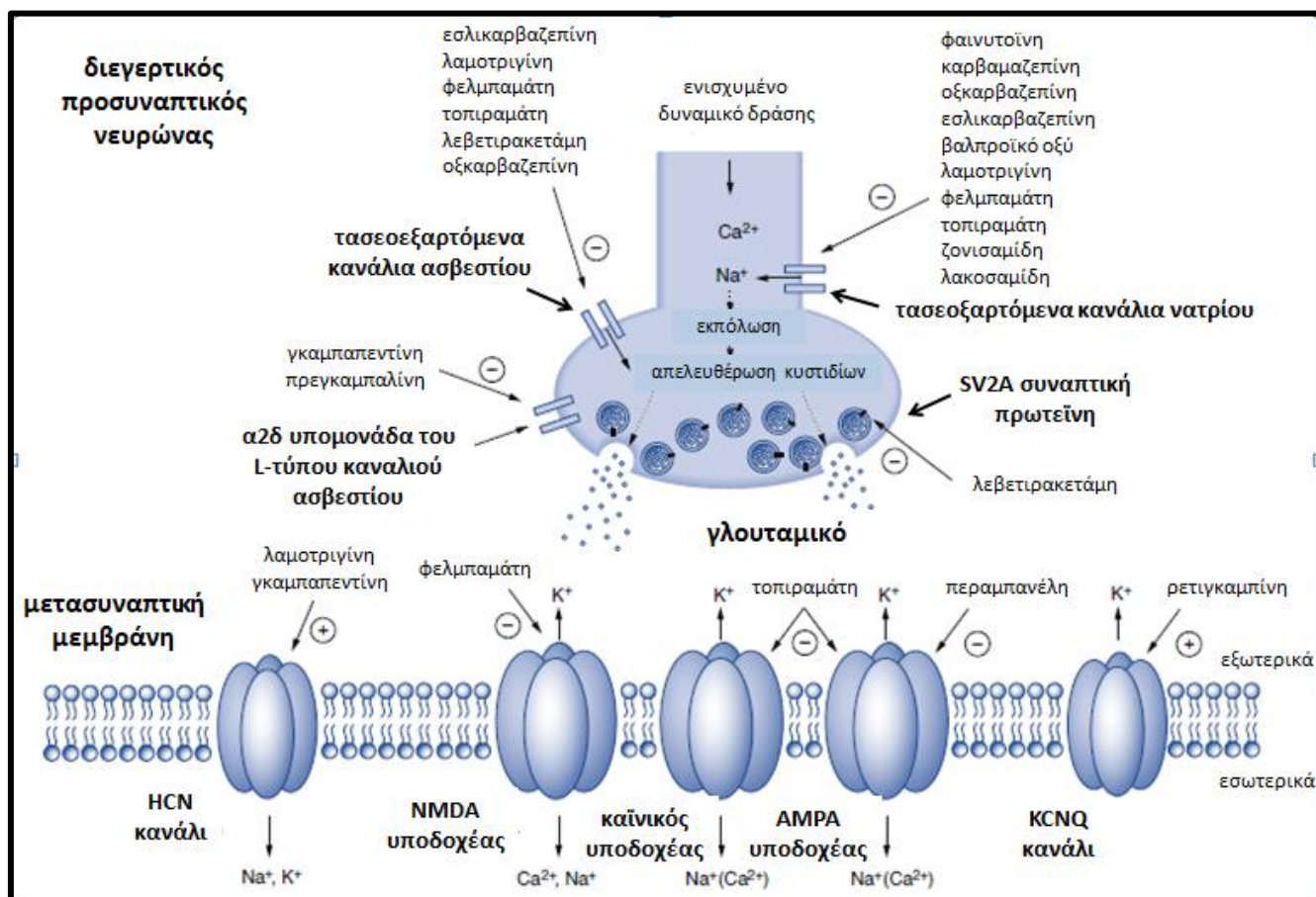
Κατά τη δράση των καναλιών καλίου, μετά την υπερπόλωση, δημιουργείται το ρεύμα-M, το οποίο σταθεροποιεί το δυναμικό της μεμβράνης, αποτρέποντας έτσι την επαναλαμβανόμενη διεγερσιμότητα του κυττάρου. Η ενίσχυση του ρεύματος-M αποτελεί μια προσέγγιση για τη μείωση της νευρωνικής διέγερσης στον επιληπτικό εγκέφαλο.⁶²

1.9.2.7 Τροποποίηση της ιοντικής αγωγιμότητας στα κανάλια HCN

Τα κανάλια HCN (Hyperpolarization-activated Cyclic Nucleotide-gated channels - HCN) είναι τασεοεξαρτώμενα, όπως και όλα τα προηγούμενα είδη καναλιών στα οποία αναφερθήκαμε. Δομικά μοιάζουν με τα κανάλια καλίου, όμως η συγγενειά τους με τα ιόντα καλίου είναι χαμηλότερη, καθώς επιτρέπουν και τη διέλευση ιόντων νατρίου. Παράλληλα, η νευρωνική εκπόλωση τείνει να οδηγεί σε απενεργοποίησή τους, ενώ η υπερπόλωση σε ενεργοποίηση των καναλιών αυτών. Χαρακτηριστικό φάρμακο που αυξάνει τη δράση των καναλιών HCN είναι η λαμοτριγίνη.⁶⁵ (Εικόνα 1.14)

1.9.2.8 Φάρμακα με πολλαπλό μηχανισμό δράσης

Υπάρχουν πολλά φάρμακα που έχουν περισσότερους του ενός μοριακούς στόχους και πολλαπλούς μηχανισμούς δράσης. Για παράδειγμα, το βαλπροϊκό και η ζονισαμίδη δρουν τροποποιώντας την αγωγιμότητα καναλιών νατρίου και ασβεστίου αλλά ενισχύουν και την ανασταλτική δράση του GABA. Η τοπιραμάτη και η φελιπαμάτη ενισχύουν και αυτά την ανασταλτική δράση του GABA, ενώ ταυτόχρονα αναστέλλουν τη διεγερτική δράση του γλουταμινικού οξέος και τροποποιούν την αγωγιμότητα των καναλιών νατρίου.¹²



Εικόνα 1.14: Σχηματική αναπαράσταση μιας διεγερτικής νευρικής σύναψης και τρόπος δράσης διάφορων αντιεπιληπτικών φαρμάκων σε αυτήν.⁵⁸

(Α) Μείωση της διεγερτικής δράσης του γλουταμινικού οξέος: Το γλουταμινικό απελευθερώνεται προσυναπτικά αλλά δεν καταφέρνει να συνδεθεί στους διάφορους τύπους υποδοχέων του (NMDA, AMPA, καϊνικό) λόγω της δράσης ΑΕΦ, όπως φελπαμάτη και τοπιραμάτη.

(Β) Τροποποίηση της ιοντικής αγωγιμότητας στα κανάλια νατρίου: Πολλά ΑΕΦ σταθεροποιούν την ανενεργή κατάσταση του καναλιού, οδηγώντας σε απενεργοποίησή του και αποτρέποντας έτσι την είσοδο νατρίου το οποίο θα προκαλούσε νευρωνική διεγερσιμότητα.

(Γ) Τροποποίηση της ιοντικής αγωγιμότητας στα κανάλια ασβεστίου: Πολλά ΑΕΦ αποκλείουν κανάλια ασβεστίου υψηλής τάσης που βρίσκονται στον προσυναπτικό νευρώνα, αποτρέποντας έτσι την υπερβολική απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών. Παράλληλα, φάρμακα όπως η πρεγκαμπαλίνη, συνδέονται στη βοηθητική α2δ υπομονάδα του καναλιού, τροποποιώντας και αυτά την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών.

(Δ) Σύνδεση με την SV2A συναπτική πρωτεΐνη: Η λεβετιρακετάμη συνδέεται με την SV2A αυξάνοντας έτσι το θεραπευτικό της αποτέλεσμα.

(Ε) Τροποποίηση της ιοντικής αγωγιμότητας στα κανάλια καλίου: Η ρετιγκαμπίνη λειτουργεί ως αγωνιστής των καναλιών καλίου, επάγωντας την επαναπόλωση της μεμβράνης, μειώνοντας έτσι την αυξημένη διεγερσιμότητα του εγκεφαλικού ιστού.

(ΣΤ) Τροποποίηση της ιοντικής αγωγιμότητας στα κανάλια HCN: Η λαμοτριγίνη οδηγεί σε ενεργοποίηση των καναλιών αυτών, άρα και σε αύξηση της επαναπόλωσης της μεμβράνης.

1.9.3 Ανθεκτική Επιληψία

Η πρόγνωση για τους περισσότερους ενήλικες και εφήβους με νεοδιαγνωσθείσα επιληψία είναι σχετικά καλή, με το 50% αυτών να ελέγχεται με το πρώτο τους αντιεπιληπτικό φάρμακο, ακόμα και σε μέτρια δοσολογία. Περίπου το 10% των ασθενών με νεοδιαγνωσθείσα επιληψία θα χρειαστεί να πάρει δεύτερο ή τρίτο φάρμακο για να υπάρξει ύφεση των επιληπτικών κρίσεων, ενώ μόνο λίγοι θα χρειαστεί να λάβουν συνδυασμό περισσότερων αντιεπιληπτικών φαρμάκων.⁵¹

Σύμφωνα με τη Διεθνή Οργάνωση κατά της Επιληψίας (ILAE), ως ανθεκτική στα φάρμακα επιληψία ορίζεται η αποτυχία επαρκών θεραπευτικών δοκιμών με δύο ανεκτά και κατάλληλα επιλεγμένα αντιεπιληπτικά φάρμακα (τα οποία χρησιμοποιήθηκαν είτε ως μονοθεραπεία είτε συνδυαστικά με άλλα) με σκοπό τη διακοπή των επιληπτικών κρίσεων. Το 30% των επιληπτικών ασθενών φαίνεται να αναπτύσσει ανθεκτική επιληψία.⁶⁶

Η ανθεκτική επιληψία είναι ένα σύνθετο φαινόμενο στο οποίο συμβάλλουν τόσο γενετικοί όσο και περιβαλλοντικοί παράγοντες. Έχουν διατυπωθεί δύο βασικές υποθέσεις για την κατανόηση του μηχανισμού της. Η πρώτη υπόθεση αναφέρεται ως υπόθεση-στόχο. Σύμφωνα με αυτήν, ένα φάρμακο θα πρέπει να ικανοποιεί κάποιες φαρμακοδυναμικές απαιτήσεις, συμπεριλαμβανομένης της δέσμευσης και της επαγωγής ειδικών επιδράσεων στην περιοχή στόχο. Αλλαγές στην περιοχή στόχο μπορεί να μεταβάλλουν σημαντικά τη συνάφεια ή την αποτελεσματικότητά του, μειώνοντας έτσι τη συνολική ευαισθησία του φαρμάκου και οδηγώντας σε ανθεκτικότητα.⁶⁷

Η δεύτερη υπόθεση που έχει διατυπωθεί είναι η υπόθεση-μεταφορέα. Σύμφωνα με αυτή, το φάρμακο χρειάζεται να φθάσει στο σημείο στόχο σε επαρκή συγκέντρωση για να παράγει το φαρμακολογικό του αποτέλεσμα. Αυτό όμως εξαρτάται από την παροχή αίματος στον εγκέφαλο, η οποία μπορεί να περιορίζεται λόγω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Μάλιστα, έχει προταθεί ότι η αυξημένη μεταφορά εκροής του αιματοεγκεφαλικού φραγμού μπορεί να περιορίσει τη διείσδυση των αντιεπιληπτικών φαρμάκων σε επιληπτικούς νευρώνες.⁶⁷

1.9.4 Ανεπιθύμητες Ενέργειες Αντιεπιληπτικών Φαρμάκων

Οι ανεπιθύμητες ενέργειες των αντιεπιληπτικών φαρμάκων είναι ιδιαίτερα διαδεδομένες και μπορεί να είναι δυνητικά απειλητικές για τη ζωή. Συγκεκριμένα, μελέτες δείχνουν ότι το 61% των ασθενών που λαμβάνουν κοινά αντιεπιληπτικά φάρμακα, όπως φαινοytoΐνη, καρβαμαζεπίνη, βαλπροϊκό ή φαινοβαρβιτάλη, έχουν παρουσιάσει ανεπιθύμητες αντιδράσεις, οι οποίες θεωρείται ότι συμβάλλουν στην αποτυχία της θεραπείας έως και του 40% των ασθενών.⁶⁸

Ανεπιθύμητες ενέργειες έχουν σημαντικό αντίκτυπο στην ποιότητα ζωής των ασθενών. Έχει παρατηρηθεί ότι η βελτιστοποίηση του θεραπευτικού σχήματος αντιεπιληπτικών φαρμάκων, εκτός από τη μείωση της συχνότητας των επιληπτικών κρίσεων, οδηγεί και σε σημαντική βελτίωση της υποκειμενικής ποιότητας ζωής των ασθενών, μέσω της μείωσης των ανεπιθύμητων ενεργειών.⁶⁹

Τα αντιεπιληπτικά φάρμακα μπορεί να εμφανίσουν ποικίλες ανεπιθύμητες ενέργειες. Επειδή τα ποσοστά αποτελεσματικότητας δεν εμφανίζουν σημαντικές διακυμάνσεις μεταξύ των αντιεπιληπτικών φαρμάκων που στοχεύουν σε ένα συγκεκριμένο τύπο κρίσεων, συχνά η επιλογή του κατάλληλου φαρμάκου γίνεται με βάση το προφίλ ανεπιθύμητων ενεργειών του.⁶⁹

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) έχει γίνει μια ταξινόμηση των ανεπιθύμητων ενεργειών αντιεπιληπτικών φαρμάκων σε 5 κατηγορίες (Πίνακας 1.5):⁶⁹

- **Τύπου Α:** Περιλαμβάνει κοινές και οξείες αντιδράσεις που σχετίζονται με τον κύριο μηχανισμό δράσης του φαρμάκου. Αυτές οι αντιδράσεις είναι γενικά προβλέψιμες και αντιστρεπτές, οπότε ο ασθενής μπορεί να ενημερωθεί εκ των προτέρων για την πιθανότητα εμφάνισής τους.
- **Τύπου Β:** Περιλαμβάνει ιδιοσυγκρασιακές ανεπιθύμητες ενέργειες, οι οποίες προφανώς δεν σχετίζονται με τους κύριους μηχανισμούς δράσης του φαρμάκου και εμφανίζονται ως αποτέλεσμα της ατομικής ευαισθησίας του κάθε ασθενούς, πχ. λόγω ανοσολογικών, γενετικών είτε άλλων μηχανισμών.
- **Τύπου Γ:** Περιλαμβάνει χρόνιες ανεπιθύμητες ενέργειες που γίνονται πλήρως εμφανείς μετά από μια παρατεταμένη περίοδο έκθεσης σε ένα φάρμακο, από μερικούς μήνες έως αρκετά χρόνια.
- **Τύπου Δ:** Περιλαμβάνει δευτερογενείς ανεπιθύμητες ενέργειες που επηρεάζουν τους απογόνους μετά την προγεννητική έκθεση, όπως θάνατος του εμβρύου, συγγενείς δυσπλασίες, δυσμορφισμοί και αναπτυξιακή/γνωσιακή εξασθένηση στους απογόνους.
- **Τύπου Ε:** Περιλαμβάνει ανεπιθύμητες ενέργειες που προκαλούνται λόγω αλληλεπιδράσεων, ειδικά με παλαιότερης γενιάς αντιεπιληπτικά φάρμακα.

Πίνακας 1.5: Ανεπιθύμητες ενέργειες αντιεπιληπτικών φαρμάκων, ταξινομημένες ανά κατηγορία.⁶⁹

Τύπου Α	Τύπου Β	Τύπου Γ	Τύπου Δ	Τύπου Ε
υπνηλία, λήθαργος, κόπωση	δερματικά εξανθήματα	μειωμένη οστική πυκνότητα	γενετικές ανωμαλίες	αυξημένος κίνδυνος δερματικού εξανθήματος μετά την προσθήκη λαμοτριγίνης στο βαλπροϊκό
ζάλη, αστάθεια, ίλιγγος, ανισορροπία, διπλωπία, τρόμος, αταξία	σοβαρές βλεννογονο- δερματικές αντιδράσεις (εξάνθημα φαρμάκου με ηωσινοφιλία και συστηματικά συμπτώματα, τοξική επιδερμική νεκρόλυση, σύνδρομο Stevens-Johnson)	αύξηση ή απώλεια βάρους	νευροαναπτυ- ξιακή καθυστέρηση στο έμβρυο	μειωμένος έλεγχος κρίσεων μετά την προσθήκη αντισυλληπτικού χαπιού στη λαμοτριγίνη
γνωστική δυσλειτουργία	απλαστική αναιμία, ακοκκιοκυτταραιμία	ανεπάρκεια φυλλικού οξέος	ψευδο- λέμφωμα	μειωμένη αποτελεσματικότητα της βαρφαρίνης μετά την προσθήκη της καρβαμαζεπίνης
επιθετική συμπεριφορά	ηπατοτοξικές επιδράσεις, παγκρεατίτιδα	διαταραχές του συνδετικού ιστού		αυξημένος κίνδυνος νευροτοξικότητας του ΚΝΣ μετά από συνδυασμό αντιεπιληπτικών φαρμάκων που δρουν μπλοκάρωντας τα κανάλια νατρίου
κατάθλιψη	γλαύκωμα	υπερπλασία των ούλων		
συμπτώματα από γαστρεντερικό	ασηπτική μηνιγγίτιδα	αλωπεκίαση		
υπονατρίαemia		μείωση οπτικού πεδίου		
παραισθήσεις				

1.10 Φαρμακογονιδιωματική

Σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA), η Φαρμακογονιδιωματική (Pharmacogenomics) ορίζεται ως η μελέτη των παραλλαγών στην αλληλουχία του DNA και του RNA που σχετίζονται με την φαρμακευτική ανταπόκριση. Η Φαρμακογενετική (Pharmacogenetics) είναι ένα υποσύνολο της φαρμακογονιδιωματικής και ορίζεται ως η μελέτη των παραλλαγών μόνο στην αλληλουχία του DNA που σχετίζονται με τη φαρμακευτική ανταπόκριση.⁷⁰

Η φαρμακογονιδιωματική είναι ο επιστημονικός κλάδος που μελετά την επίδραση της γενετικής ποικιλομορφίας μεταξύ των ατόμων στη θεραπευτική ανταπόκριση, τόσο ως προς την αποτελεσματικότητα όσο και ως προς τις ανεπιθύμητες ενέργειες ενός φαρμάκου. Συγκεκριμένα, παρέχει τη δυνατότητα πρόβλεψης πιθανών ανεπιθύμητων ενεργειών ή έλλειψης αποτελεσματικότητας ενός φαρμάκου πριν από τη χορήγησή του στον ασθενή. Στόχος της φαρμακογονιδιωματικής είναι η παροχή ασφαλούς και αποτελεσματικής φαρμακευτικής αγωγής, μέσω εξατομικευμένης συνταγογράφησης με βάση το γενετικό προφίλ κάθε ασθενούς.⁷¹

Κατά τη διάρκεια μιας θεραπείας, συχνά παρατηρούνται διαφορές στο θεραπευτικό αποτέλεσμα ακόμα και σε ασθενείς που έχουν την ίδια διάγνωση και λαμβάνουν την ίδια θεραπευτική αγωγή. Η ολοκλήρωση του προγράμματος χαρτογράφησης του ανθρώπινου γονιδιώματος έχει προωθήσει πολλές μελέτες γονιδιακής έκφρασης και έχει επιτρέψει την περαιτέρω διερεύνηση των διαφορετικών αποκρίσεων ενός ασθενή σε ένα θεραπευτικό σχήμα, κάτι που παρατηρείται έντονα στην κλινική πράξη.⁷¹

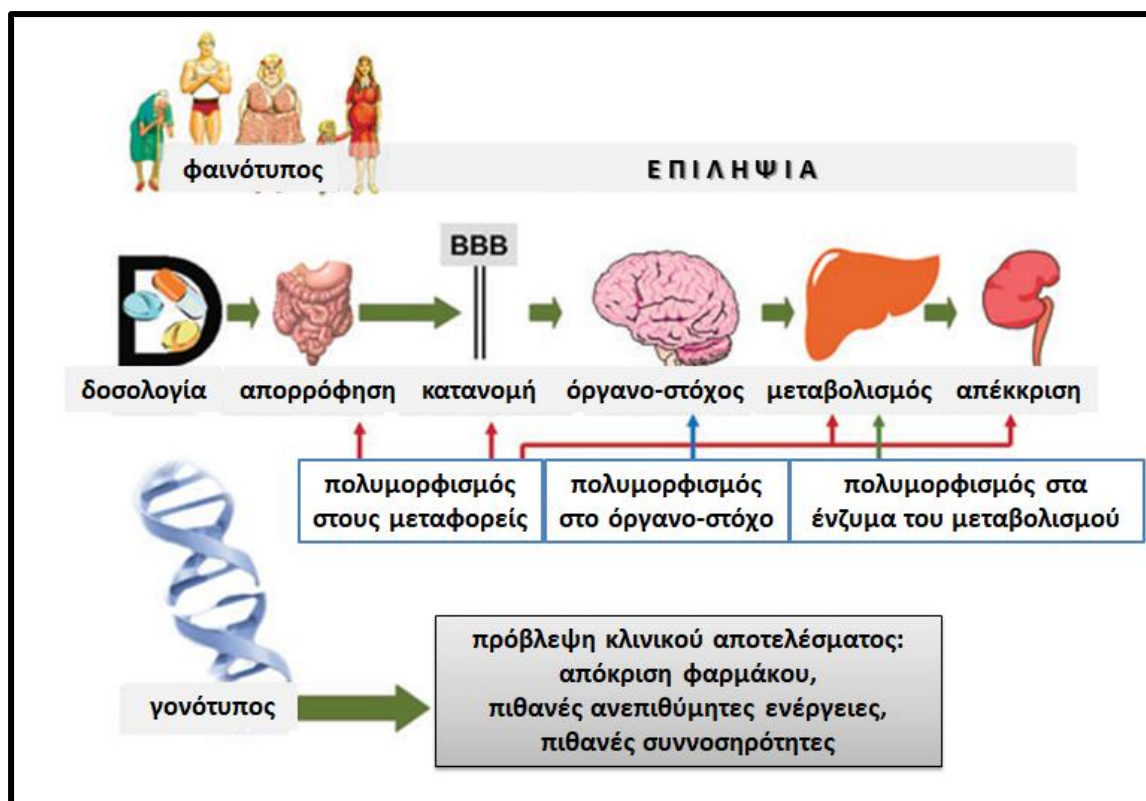
Ιδιαίτερα σημαντική είναι η επίδραση των γενετικών πολυμορφισμών στον μεταβολισμό των φαρμάκων. Πολλά από τα κύρια ένζυμα που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των φάρμακων εμφανίζουν καλώς χαρακτηρισμένες μεταλλάξεις. Για παράδειγμα, οι ομόζυγοι μεταλλαγμένοι ασθενείς στο γονίδιο *CYP2D6* θεωρούνται ότι έχουν αργό μεταβολισμό (poor metabolisers), σε αντίθεση με τους ασθενείς με τα φυσικά αλληλόμορφα οι οποίοι έχουν εκτεταμένο μεταβολισμό (extensive metabolisers). Επιπλέον, η κατάσταση υπερβολικά εκτεταμένου μεταβολισμού μπορεί να προκύψει και από ύπαρξη πολλαπλών αντιγράφων ενός φυσιολογικού γονιδίου. Ως αποτέλεσμα, αυτή η διακύμανση στο μεταβολικό ρυθμό τροποποιεί τις συγκεντρώσεις τόσο του φαρμάκου όσο και του μεταβολίτη στον ορό του ασθενή. Επίσης, η κλινική επίδραση αυτής της διακύμανσης εξαρτάται από το μέγεθος της διαφοράς μεταξύ θεραπευτικής και τοξικής δόσης. Επομένως, η τροποποίηση του δοσολογικού σχήματος ανάλογα με το γονότυπο του ασθενή καθίσταται απαραίτητη για να υπάρξει το επιθυμητό φαρμακευτικό αποτέλεσμα.⁷¹

Ένα φάρμακο δε δρα μόνο ως υπόστρωμα, αλλά μπορεί να αλληλεπιδρά με γονίδια που εμπλέκονται στο μεταβολισμό, επάγοντας ή αναστέλλοντας την έκφρασή τους. Αυτό μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή των επιπέδων του φαρμάκου αυτού στο αίμα, αλλά και άλλων ταυτόχρονα συγχωρηγούμενων φαρμάκων.⁷¹

Η νόσος της επιληψίας μπορεί να αποτελέσει ιδανική εφαρμογή της φαρμακογονιδιωματικής στην κλινική πράξη, λόγω του υψηλού επιπολασμού της, της ποικιλίας των διαφορετικών αποκρίσεων στα αντιεπιληπτικά φάρμακα μεταξύ των ασθενών και της διαθεσιμότητας επικυρωμένων κλιμάκων για την ταξινόμηση τόσο των επιληπτικών κρίσεων όσο και των ανεπιθύμητων ενεργειών των φαρμάκων. Η εφαρμογή της φαρμακογονιδιωματικής στη θεραπευτική αντιμετώπιση της επιληψίας μπορεί να οδηγήσει σε μείωση κατά 40-50% των ασθενών που λαμβάνουν αντιεπιληπτικό φάρμακο το οποίο τους προκαλεί κάποια ανεπιθύμητη ενέργεια ή δεν ελέγχει επαρκώς τις επιληπτικές τους κρίσεις.⁷¹

Γενετικοί πολυμορφισμοί παίζουν καθοριστικό ρόλο στη μεταβλητότητα τόσο της φαρμακοκινητικής όσο και της φαρμακοδυναμικής ενός αντιεπιληπτικού φαρμάκου. Οι σημειακοί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (Single Nucleotide Polymorphisms - SNPs) είναι η πιο συχνή μορφή παραλλαγών στο ανθρώπινο γονιδίωμα και μπορεί να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα, την ανεκτικότητα, την ασφάλεια αλλά και τη διάρκεια δράσης αντιεπιληπτικών φαρμάκων.⁷²

Η απορρόφηση, η κατανομή και η συνολική κλινική αποτελεσματικότητα των αντιεπιληπτικών φαρμάκων εξαρτώνται από τα φυσικοχημικά τους χαρακτηριστικά, όπως η λιποφιλία, η διαλυτότητα, το μοριακό βάρος και η ιοντική τους κατάσταση. Τα περισσότερα αντιεπιληπτικά είναι αρκετά λιπόφιλα για να διεισδύσουν στις βιολογικές μεμβράνες με παθητική διάχυση, ωστόσο ορισμένοι μεταφορείς φαρμάκων στο γαστρεντερικό σωλήνα και στον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (Blood–Brain Barrier - BBB) μπορεί να περιορίσουν την απορρόφησή τους. Η ύπαρξη συγκεκριμένων γενετικών πολυμορφισμών μπορεί να τροποποιήσει την έκφραση ή τη λειτουργικότητα τέτοιου είδους μεταφορέων και να επηρεάσει την κλινική έκβαση. Άλλοι γενετικοί πολυμορφισμοί στα όργανα-στόχους των φαρμάκων μπορεί να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητά τους. Γενετικοί πολυμορφισμοί μπορεί να επηρεάσουν επίσης και τις διαδικασίες του μεταβολισμού και της απέκκρισης του φαρμάκου, άρα να διαφοροποιήσουν το βαθμό απόκρισής του. Ο συσχετισμός συγκεκριμένων γενετικών πολυμορφισμών που μπορεί να διαθέτει ο ασθενής, με το αντίστοιχο φαρμακολογικό αποτέλεσμα που προκαλούν θα αποτελούσε καθοριστικό βήμα για μια ολοκληρωμένη και στοχευμένη θεραπευτική προσέγγιση.⁷² (Εικόνα 1.15)



Εικόνα 1.15: Τα διάφορα στάδια της πορείας ενός αντιεπιληπτικού φαρμάκου στον οργανισμό και η πιθανότητα διαφοροποίησής τους λόγω ύπαρξης κάποιου πολυμορφισμού.⁷²

1.10.1 Σημειακοί Νουκλεοτιδικοί Πολυμορφισμοί (ΣΝΠ)

Η ύπαρξη πολλαπλών αλληλομόρφων σε ένα γενετικό τόπο αναφέρεται ως γενετικός πολυμορφισμός. Κάθε γενετικός τόπος για τον οποίο υπάρχουν πολλαπλά αλληλόμορφα σε σταθερές συχνότητες μέσα στον πληθυσμό είναι εξ'ορισμού πολυμορφικός. Συνήθως ένα αλληλόμορφο θεωρείται πολυμορφικό αν απαντάται στον πληθυσμό σε συχνότητα μεγαλύτερη του 1%.⁷³

Οι διαφορετικές παραλλαγές στην αλληλουχία του DNA, που προκύπτουν λόγω της ύπαρξης ενός πολυμορφισμού, μπορεί να είναι εμφανείς, δηλαδή να επηρεάζουν το φαινότυπο, αλλά μπορεί να είναι και κρυφές, χωρίς δηλαδή να έχουν ορατές συνέπειες στο φαινότυπο.⁷³

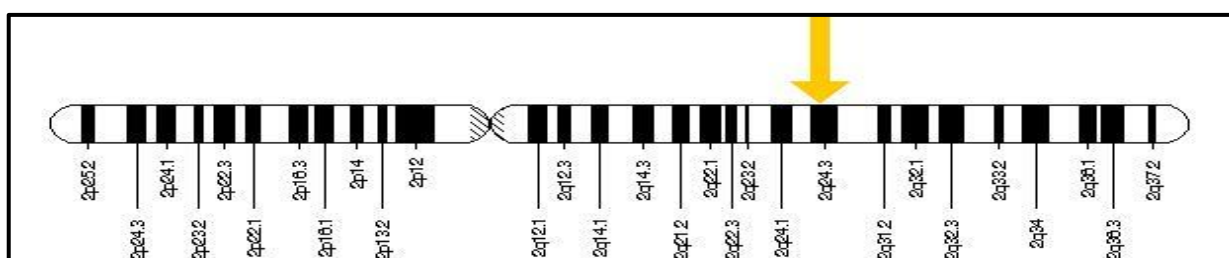
Οι σημειακοί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (Single Nucleotide Polymorphisms – SNPs) ορίζονται ως μια αλλαγή σε ένα ζεύγος βάσεων σε ένα συγκεκριμένο γενετικό τόπο του γονιδιώματος. Πρόκειται για τον πιο συνηθισμένο τύπο πολυμορφισμού DNA, καθώς συναντάται με συχνότητα περίπου 1 ανά 350 bp και ευθύνεται για το 90-95% της ποικιλομορφίας του ανθρώπινου γονιδιώματος. Νέοι σημειακοί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί δημιουργούνται λόγω αυθόρμητων μεταλλάξεων, οι οποίες συνήθως οφείλονται σε σφάλματα κατά την αντιγραφή του DNA.⁷⁴

Στη συντριπτική τους πλειοψηφία οι σημειακοί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (ΣΝΠ) συναντώνται σε μη κωδικές περιοχές του γονιδιώματος, οπότε ονομάζονται *μη κωδικοποιημένοι ΣΝΠ*. Υπάρχουν όμως και ΣΝΠ που βρίσκονται σε κωδικές περιοχές και ονομάζονται *κωδικοποιημένοι ΣΝΠ*. Συστηματικές μελέτες του γονιδιώματος στον άνθρωπο έχουν δείξει ότι κάθε γονίδιο έχει περίπου 4 κωδικοποιημένους ΣΝΠ, οι μισοί από τους οποίους προκαλούν παρανοηματικές μεταλλάξεις στην αντίστοιχη πρωτεΐνη, οδηγώντας σε αντικατάσταση ενός αμινοξέος, ενώ οι άλλοι μισοί προκαλούν σιωπηλές μεταλλάξεις, δηλαδή δεν υπάρχει διαφοροποίηση στην παραγόμενη πρωτεΐνη. Το κατά πόσο ένας κωδικοποιημένος ΣΝΠ επηρεάζει το φαινότυπο εξαρτάται από την αμινοξική αλλαγή που προκαλεί στην πρωτεΐνη. Επιπρόσθετα, η γονιδιακή λειτουργία μπορεί επίσης να επηρεαστεί από μη κωδικοποιημένους ΣΝΠ, όταν αυτοί συναντώνται σε υποκινητές ή άλλες ρυθμιστικές περιοχές των γονιδίων.⁷⁴

1.10.2 Γονίδιο *SCN1A*

Το γονίδιο *SCN1A* ανήκει σε μία οικογένεια γονιδίων που παρέχουν τις πληροφορίες για τη δημιουργία της α -υπομονάδας μιας συγκεκριμένης ισομορφής τασσεοευαίσθητων καναλιών νατρίου (Nav1.1). Τα κανάλια αυτά είναι ετερομερή σύμπλοκα που ρυθμίζουν την ανταλλαγή νατρίου μεταξύ ενδοκυτταρικών και εξωκυτταρικών χώρων και εντοπίζονται σε νευρώνες και μυϊκά κύτταρα. Είναι απαραίτητα για τη δημιουργία και διάδοση των δυναμικών δράσης στα μυϊκά κύτταρα και τους νευρώνες, και κατ' επέκταση για τη διεγερσιμότητα των κυττάρων.⁷⁵

Το γονίδιο *SCN1A* βρίσκεται στο μακρύ βραχίονα (q) του χρωμοσώματος 2 στη θέση 24.3 και αποτελείται από 31 εξώνια.⁷⁶ (Εικόνα 1.16)



Εικόνα 1.16: Θέση γονιδίου *SCN1A* πάνω στο χρωμόσωμα (2q24.3).⁷⁶

1.10.2.1 Δομή τασσεοευαίσθητων καναλιών νατρίου

Κάθε τασσεοευαίσθητο κανάλι νατρίου αποτελείται από μια α -υπομονάδα (260 kDa) που περιλαμβάνει τέσσερις ομόλογες επικράτειες (I-IV). Σε κάθε επικράτεια υπάρχουν έξι διαμεμβρανικά τμήματα που ονομάζονται S1-S6. Μεταξύ των τμημάτων S1-S6, βρίσκεται ένας βρόγχος P που μοιάζει με φουρκέτα και αποτελεί μέρος του πόρου του καναλιού, ενώ μεταξύ των επικρατειών III και IV

δημιουργείται ένας ενδοκυτταρικός βρόγχος ο οποίος σχηματίζει την πύλη απενεργοποίησης του καναλιού.⁷⁷ (Εικόνα 1.17)

Τα κανάλια νατρίου που βρίσκονται στο ΚΝΣ εκτός από την κύρια α-υπομονάδα έχουν και κάποιες βοηθητικές υπομονάδες (β-υπομονάδες). Αυτές εκφράζονται με τέτοιο τρόπο ώστε σε κάθε α-υπομονάδα να αντιστοιχούν είτε οι β_1 ή β_3 είτε οι β_2 ή β_4 υπομονάδες. Κάθε β-υπομονάδα αποτελείται από ένα μόνο διαμεμβρανικό τμήμα και ένα ενδοκυτταρικό καρβοξυτελικό άκρο. Οι υπομονάδες β_2 και β_4 συνδέονται ομοιοπολικά με την α-υπομονάδα μέσω ενός δισουλφιδικού δεσμού, ενώ οι υπομονάδες β_1 και β_3 δεν είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένες. Η τασεοευαισθησία, η κινητική και ο εντοπισμός των α-υπομονάδων ρυθμίζονται μέσω αλληλεπιδράσεων με τις β-υπομονάδες.⁷⁸

Οι α-υπομονάδες των τασεοεξαρτώμενων καναλιών νατρίου των θηλαστικών κωδικοποιούνται από 9 γονίδια, από το *SCN1A* έως το *SCN11A* (τα *SCN6A* και *SCN7A* αντιπροσωπεύουν το ίδιο γονίδιο που κωδικοποιεί ένα μη τασεοεξαρτώμενο κανάλι νατρίου). Τα 9 αυτά γονίδια κωδικοποιούν 9 διακριτές ισομορφές του καναλιού νατρίου, ονομαζόμενες Nav1.1 έως Nav1.9 αντίστοιχα.⁷⁹

Οι 4 από αυτές εκφράζονται σε υψηλά επίπεδα στο ΚΝΣ (Nav1.1, Nav1.2, Nav1.3 και Nav1.6), ενώ οι άλλες 4 εκφράζονται σε υψηλά επίπεδα στο περιφερικό νευρικό σύστημα (Nav1.6, Nav1.7, Nav1.8 και Nav1.9). Οι υπόλοιπες 2 ισομορφές εκφράζονται κυρίως σε σκελετικούς μύες ενηλίκων (Nav1.4) και σε εμβρυϊκούς σκελετικούς και καρδιακούς μύες (Nav1.5). Οι διαφορετικές ισομορφές του καναλιού νατρίου στο ΚΝΣ μπορεί να εκφράζονται σε διαφορετικές χρονικές περιόδους κατά την ανάπτυξη αλλά και σε διαφορετικές θέσεις. Λόγω της ξεχωριστής υποκυτταρικής τους κατανομής και των λειτουργικών ιδιοτήτων τους, κάθε ισομορφή καναλιού νατρίου πιθανότατα παίζει ένα μοναδικό ρόλο στην εκκίνηση και την διάδοση των δυναμικών δράσης.⁸⁰

Η Nav1.1 ισομορφή του καναλιού, που κωδικοποιείται από το γονίδιο *SCN1A*, γίνεται ανιχνεύσιμη λίγο μετά τη γέννηση και αυξάνεται μέχρι την ενηλικίωση. Στο κεντρικό νευρικό σύστημα, είναι η πλέον κυρίαρχη ισομορφή του καναλιού στις ουραίες περιοχές και στον νωτιαίο μυελό, ενώ ανιχνεύεται σε υψηλά επίπεδα σε δενδριτικά κύτταρα και κυτταρικά σώματα. Επίσης εντοπίζεται στο αρχικό τμήμα του νευράξονα των ταχέως αναπτυσσόμενων νευρώνων, που είναι θετικοί σε παρβαλβουμίνη. Οι νευρώνες αυτοί προβάλλουν τα νευρωνικά τους τερματικά γύρω από διεγερτικούς νευρώνες, οπότε είναι πιθανό να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της διεγερσιμότητας του νευρωνικού δικτύου.^{81,82}

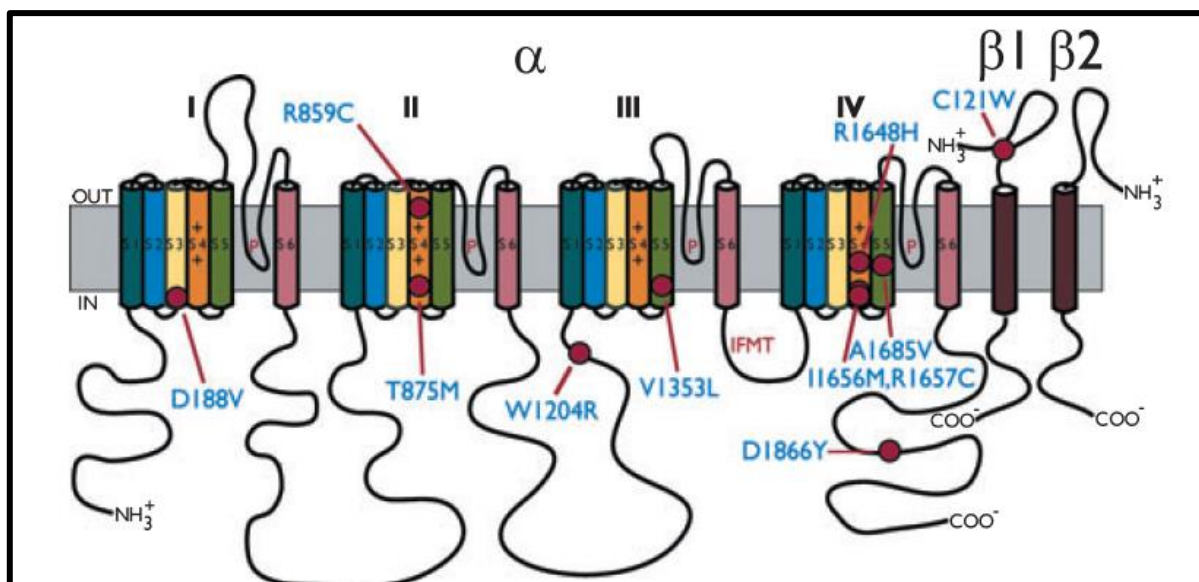
1.10.2.2 Μεταλλάξεις στο γονίδιο *SCN1A*

Μεταλλάξεις σε τρία από τα γονίδια (*SCN1A*, *SCN2A*, *SCN3A*) που κωδικοποιούν την α-υπομονάδα των καναλιών νατρίου που εκφράζονται στο ΚΝΣ έχουν συσχετιστεί με την εμφάνιση επιληψίας στον άνθρωπο.

Ειδικότερα, μεταλλάξεις στο γονίδιο *SCN1A* (κωδικοποιεί την Nav1.1 ισομορφή του καναλιού) και στο *SCN2A* (κωδικοποιεί την Nav1.2 ισομορφή του καναλιού) μπορούν να προκαλέσουν αρκετούς τύπους ιδιοπαθούς γενικευμένης επιληψίας. Μάλιστα, μεταλλάξεις και στα δύο γονίδια μπορούν να οδηγήσουν στο σύνδρομο γενετικής επιληψίας με πυρετικούς σπασμούς plus (GEFS+). Αυτό το σύνδρομο μπορεί επίσης να προκληθεί από μεταλλάξεις στο γονίδιο *SCN1B*, που κωδικοποιεί την β₁-υπομονάδα καναλιού νατρίου, και σε δύο γονίδια του GABA-A υποδοχέα (*GABRG2* και *GABRD*). Εκτός αυτού, μεταλλάξεις του *SCN1A* είναι η κύρια αιτία τόσο του συνδρόμου Dravet όσο και ενός συνδρόμου παιδικής γενικευμένης επιληψίας με τονικοκλονικές κρίσεις. Όσον αφορά τα υπόλοιπα γονίδια της οικογένειας, μεταλλάξεις στο *SCN2A* προκαλούν καλοήθεις οικογενείς νεογνικές-βρεφικές κρίσεις και σε ορισμένες περιπτώσεις σύνδρομο Dravet. Επίσης, μία μετάλλαξη στο *SCN3A* έχει συσχετισθεί με πρόκληση εστιακής επιληψίας.⁸³

Εστιάζοντας στις μεταλλάξεις του γονιδίου *SCN1A*, παρατηρείται ότι αυτές οφείλονται για το 10% των περιπτώσεων του συνδρόμου γενετικής επιληψίας με πυρετικούς σπασμούς plus (GEFS +) και για το 85% των περιπτώσεων συνδρόμου Dravet. Για το σύνδρομο GEFS+, έχουν ταυτοποιηθεί 30 παρανοηματικές μεταλλάξεις μέχρι σήμερα, οι οποίες οδήγησαν σε αντικατάσταση αμινοξέος στο κανάλι.⁸⁴ (Εικόνα 1.17)

Αντίθετα, περίπου οι μισές από τις 600 μεταλλάξεις που έχουν συνδεθεί με το σύνδρομο Dravet είναι είτε μη νοηματικές, είτε μεταλλάξεις μετατόπισης πλαισίου ανάγνωσης, είτε μεταλλάξεις στα σημεία ματίσματος. Αρκετές από αυτές τις μεταλλάξεις εμφανίζονται πολύ νωρίς στην αλληλουχία του *SCN1A*, οδηγώντας σε μειωμένη έκφραση του μεταλλαγμένου αλληλομόρφου και σε μη λειτουργικό πρωτεϊνικό προϊόν. Τέλος, σε αντίθεση με τις μεταλλάξεις στο *SCN1A* που προκαλούν σύνδρομο GEFS+ και είναι κληρονομούμενες, οι περισσότερες μεταλλάξεις που προκαλούν σύνδρομο Dravet είναι de novo μεταλλάξεις.⁸⁴



Εικόνα 1.17: Σχηματική απεικόνιση της α -υπομονάδας της Nav1.1 ισομορφής του τασεοευαίσθητου καναλιού νατρίου, σε σύνδεση με τις β_1 και β_2 υπομονάδες. Παράλληλα, φαίνεται το σημείο δράσης και η ονομασία των μεταλλαγών του *SCN1A* που έχουν συσχετιστεί με το σύνδρομο γενετικής επιληψίας με πυρετικούς σπασμούς plus (GEFS+).⁸³

Το *σύνδρομο γενετικής επιληψίας με πυρετικούς σπασμούς plus (GEFS+)* είναι μια αυτοσωμική επικρατής διαταραχή με σύνθετη κλινική εικόνα. Περιλαμβάνει τόσο γενικευμένες όσο και εστιακές επιληπτικές κρίσεις, οι οποίες επιμένουν ακόμα και μετά τον 6^ο χρόνο της ζωής του ατόμου και μπορεί να παρατηρηθούν ακόμα και κατά την εφηβεία και ενηλικίωση.⁸⁵

Το *σύνδρομο Dravet* είναι μια σοβαρή μορφή επιληψίας που εμφανίζεται κατά τη βρεφική ηλικία και δημιουργεί ανθεκτικές στη φαρμακευτική αγωγή επιληπτικές κρίσεις που μπορεί να οδηγήσουν σε νοητική καθυστέρηση. Επίσης, μπορεί να προκαλέσουν καθυστέρηση στην ανάπτυξη αλλά και κινητική δυσλειτουργία, όπως σπαστικότητα και αταξία.⁸⁶

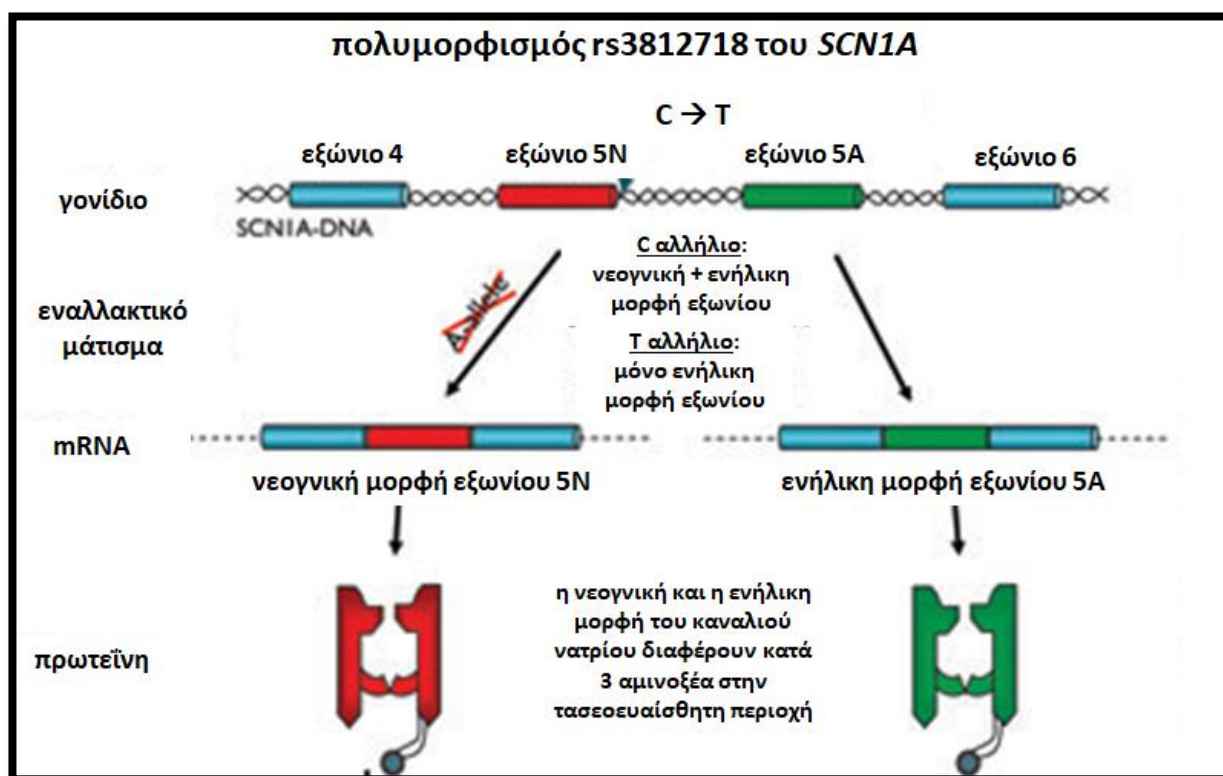
1.10.3 Πολυμορφισμός rs3812718

Ο πολυμορφισμός rs3812718 του γονιδίου *SCN1A* περιγράφει την αντικατάσταση μιας κυτοσίνης (C) από μία θυμίνη (T) στην 5' περιοχή ματίσματος του εξωνίου 5N, το οποίο κωδικοποιεί το S4 διαμεμβρανικό τμήμα της Nav1.1 ισομορφής του τασεοευαίσθητου καναλιού νατρίου. Ο πολυμορφισμός αυτός μπορεί να βρεθεί στη βιοβιογραφία και ως: IVS5-91 ή IVS5N +5 G>A.⁸⁷

Ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός βρίσκεται σε ρυθμιστική περιοχή του γονιδίου και φαίνεται να δημιουργεί μία εναλλακτική θέση ματίσματος, η οποία επηρεάζει την έκφραση των εξωνίων 5N και 5A του *SCN1A*. Το εξώνιο 5N αντιστοιχεί σε έκφραση μιας νεογνικής μορφής του καναλιού, ενώ το εξώνιο 5A σε έκφραση μιας ενήλικης μορφής. Το νεογνικό εξώνιο εκφράζεται κυρίως κατά τις αρχικές περιόδους

ανάπτυξης και, σύμφωνα με κάποιες μελέτες, η έκφρασή του αυξάνεται μετά από επιληπτικές κρίσεις.⁸⁸

Η ύπαρξη του πολυμορφισμού καθορίζει αν η νεογνική ή η ενήλικη μορφή του εξωνίου 5 θα επιλεγεί μέσω εναλλακτικού ματίσματος, και θα εκφραστεί τελικά στο κανάλι νατρίου. Το φυσιολογικό αλληλόμορφο C επιτρέπει την έκφραση και των δύο εξωνίων (νεογνική και ενήλικη μορφή), ενώ το πολυμορφικό αλληλόμορφο T καταργεί την έκφραση του νεογνικού εξωνίου.⁸⁸ (Εικόνα 1.18)



Εικόνα 1.18: Σχηματική αναπαράσταση της επίδρασης του πολυμορφισμού rs3812718, ο οποίος επηρεάζοντας το εναλλακτικό μάτισμα του γονιδίου, καθορίζει την έκφραση της νεογνικής είτε της ενήλικης μορφής του εξωνίου 5, με την αντίστοιχη τροποποίηση στο κανάλι νατρίου που θα προκύψει.⁷²

Οι λειτουργικές διαφορές μεταξύ των δύο διαφορετικών καναλιών νατρίου που προκύπτουν λόγω του εναλλακτικού ματίσματος δεν έχουν διερευνηθεί πλήρως. Κάποιες έρευνες σε αντίστοιχα κανάλια νατρίου εντόμων υποδεικνύουν ότι το εναλλακτικό μάτισμα διαφοροποιεί τις ηλεκτροφυσικές και φαρμακολογικές ιδιότητες του καναλιού, καθώς το εξώνιο 5 είναι υπεύθυνο για την έκφραση μιας τάσσευαίσθητης περιοχής του.⁸⁹

Όσον αφορά την επίδραση του πολυμορφισμού στην εμφάνιση επιληψίας, οι περισσότερες μελέτες φαίνεται να καταλήγουν στη συσχέτιση του πολυμορφικού T αλληλομόρφου με την εμφάνιση της ασθένειας.

Αρχικά, μια μελέτη σε αυστριακό πληθυσμό υποστηρίζει ότι το πολυμορφικό αλληλόμορφο T συνδέεται με την πρόκληση πυρετικών σπασμών κατά την παιδική ηλικία. Βέβαια, ένας περιορισμός της μελέτης αυτής είναι ότι συμπεριλαμβάνει ασθενείς που είχαν εμφανίσει παλαιότερα πυρετικούς σπασμούς, χωρίς αυτοί να έχουν εξελιχθεί απαραίτητα σε επιληψία.⁹⁰

Μια άλλη μελέτη όμως, σε ινδικό πληθυσμό, που περιλαμβάνει ασθενείς με επιληψία, φαίνεται να επιβεβαιώνει το παραπάνω αποτέλεσμα. Συγκεκριμένα, οι συχνότητες των γονοτύπων CT και TT βρέθηκαν υψηλότερες σε στατιστικά σημαντικό επίπεδο σε επιληπτικούς ασθενείς, σε σχέση με το φυσιολογικό γονότυπο CC. Επιπλέον, οι ερευνητές προτείνουν ότι η ύπαρξη του T αλληλομόρφου ίσως συνδέεται με μια προδιάθεση εμφάνισης επιληψίας.⁹¹

Στη συνέχεια, μια μελέτη σε κινέζικο πληθυσμό υποστηρίζει ότι ο πολυμορφισμός αυτός αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση του συνδρόμου γενετικής επιληψίας με πυρετικούς σπασμούς plus (GEFS+). Συγκεκριμένα, βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της ύπαρξης του πολυμορφικού γονοτύπου TT αλλά και του πολυμορφικού αλληλομόρφου T σε επιληπτικούς ασθενείς με GEFS+ σε σχέση με τους μάρτυρες. Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω, το σύνδρομο γενετικής επιληψίας με πυρετικούς σπασμούς plus (GEFS+) φαίνεται να σχετίζεται έντονα με μεταλλάξεις στο γονίδιο *SCN1A*, αλλά με αυτή την μελέτη αποδεικνύεται και ο συσχετισμός του με τον συγκεκριμένο πολυμορφισμό του γονιδίου.⁹²

Επιπρόσθετα, ιδιαίτερα σημαντική είναι μια προσπάθεια μετα-ανάλυσης από τον Tang και τους συνεργάτες του, η οποία περιλαμβάνει δεδομένα από 6 διαφορετικές μελέτες με 5.036 άτομα συνολικά (2719 ασθενείς και 2317 μάρτυρες), ινδικής, κινέζικης, αυστριακής, ελβετικής και αυστραλιακής καταγωγής. Τα δεδομένα αυτά επεξεργάστηκαν στατιστικά και προέκυψε το συμπέρασμα ότι η ύπαρξη του πολυμορφισμού αποτελεί παράγοντα κινδύνου τόσο για την εμφάνιση πυρετικών σπασμών, όσο και για την εμφάνιση επιληψίας.⁹³

Μια πιο πρόσφατη και εμπλουτισμένη προσπάθεια μετα-ανάλυσης έγινε από τον Zhi και τους συνεργάτες του. Αυτοί επεξεργάστηκαν στατιστικά δεδομένα από 8 μελέτες με 7.184 άτομα συνολικά (3595 ασθενείς και 3589 μάρτυρες), προσθέτοντας μαλαισιανό και ελληνικό πληθυσμό στην ανάλυση της ερευνητικής ομάδας του Tang. Όπως και οι προηγούμενες μελέτες, έτσι και αυτοί κατέληξαν σε υψηλή συσχέτιση του πολυμορφισμού με την εμφάνιση επιληψίας.⁹⁴

Σε αντίθεση με όλα τα παραπάνω, μια μελέτη σε ελληνικό υποπληθυσμό της Θράκης δε βρίσκει στατιστικά σημαντική διαφορά στις αλληλικές και γονοτυπικές συχνότητες μεταξύ επιληπτικών ασθενών και μαρτύρων.⁹⁵

Παράλληλα, στην παραπάνω μελέτη γίνεται μια προσπάθεια σύγκρισης της εμφάνισης του πολυμορφισμού σε ασθενείς με εστιακή και γενικευμένη επιληψία.

Τα αποτελέσματά τους δείχνουν ότι οι γονότυποι CT και TT φάνηκαν να κυριαρχούν στους ασθενείς με γενικευμένη επιληψία σε σχέση με τους ασθενείς με εστιακή επιληψία.⁹⁵

Όσον αφορά την ανταπόκριση στη φαρμακευτική αγωγή και την πρόκληση αντίστασης, μια μελέτη σε γιαπωνέζικο πληθυσμό, υποστηρίζει ότι η συχνότητα του πολυμορφικού γονοτύπου TT ήταν σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς με ανθεκτικότητα στην καρβαμαζεπίνη.⁹⁶

Επιπλέον, μια μελέτη σε κινέζικο πληθυσμό που παρουσιάζει εστιακές επιληπτικές κρίσεις, έδειξε συσχέτιση μεταξύ του φυσιολογικού CC γονοτύπου και του ποσοστού των ασθενών που συνεχίζουν να ανταποκρίνονται στη θεραπεία με καρβαμαζεπίνη. Επιπλέον, σε θεραπεία με καρβαμαζεπίνη πέραν των 12 μηνών, βρέθηκε ότι η δόση συντήρησης καθώς και τα επίπεδα στο πλάσμα ήταν σημαντικά υψηλότερα σε ασθενείς με τον πολυμορφικό γονότυπο TT σε σχέση με το φυσιολογικό γονότυπο CC, υποδεικνύοντας ότι η ύπαρξη του πολυμορφισμού επηρεάζει την ανοχή στην καρβαμαζεπίνη.⁹⁷

Παράλληλα, μια άλλη μελέτη σε κινέζικο πληθυσμό, από τον Ma και τους συνεργάτες του, υποστηρίζει ότι ο γονότυπος TT βρέθηκε σημαντικά πιο υψηλός σε ασθενείς που παρουσιάζουν αντίσταση σε πολυφαρμακευτική αγωγή (καρβαμαζεπίνης και οξκαρβαζεπίνης), σε σχέση με ασθενείς που αποκρίνονται στη φαρμακευτική αγωγή. Οπότε, η εμφάνιση του πολυμορφικού TT γονοτύπου σχετίζεται με ανθεκτική επιληψία και μπορεί ίσως να αποτελέσει δείκτη φαρμακευτικής ανταπόκρισης.⁸⁷

Τέλος, μια ερευνητική προσπάθεια μετα-ανάλυσης, με επεξεργασία δεδομένων από 4 μελέτες, έρχεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα του Ma και των συνεργατών του, υποστηρίζοντας ότι δεν παρατηρείται συσχέτιση του πολυμορφισμού αυτού και της αντίστασης στα αντιεπιληπτικά φάρμακα που δρουν μπλοκάροντας τα τασσεοευαίσθητα κανάλια νατρίου.⁹⁸

1.10.4 Πολυμορφισμός rs2298771

Ο πολυμορφισμός rs2298771 του γονιδίου *SCN1A* περιγράφει την αντικατάσταση μιας αδενίνης (A) από μία γουανίνη (G) σε περιοχή εξωνίου. Προκαλεί μια παρανοηματική μετάλλαξη και έχει ως αποτέλεσμα την αντικατάσταση του αμινοξέος θρεονίνη από το αμινοξύ αλανίνη στην Nav1.1 ισομορφή του τασσεοευαίσθητου καναλιού νατρίου που παράγεται. Ο πολυμορφισμός αυτός μπορεί να βρεθεί στη βιβλιογραφία και ως: c.3184A > G ή p.Thr1067Ala.⁹⁹

Η αμινοξική αυτή αλλαγή που προκύπτει λόγω του πολυμορφισμού συμβαίνει σε υψηλώς συντηρημένη περιοχή και είναι πολύ πιθανό να επηρεάζει τη λειτουργία της πύλης απενεργοποίησης του καναλιού, η οποία ρυθμίζει τη μεταφορά ιόντων

νατρίου από και προς το κυτταρόπλασμα. Η ανισορροπία στη συγκέντρωση ιόντων νατρίου επηρεάζει τη διεγερσιμότητα του νευρωνικού δικτύου και μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης επιληψίας.¹⁰⁰

Όσον αφορά την επίδραση του πολυμορφισμού στην εμφάνιση επιληψίας, μια μελέτη σε ινδικό πληθυσμό αναφέρει ότι ο ετερόζυγος γονότυπος AG είναι υψηλότερος σε στατιστικά σημαντικό βαθμό σε επιληπτικούς ασθενείς σε σχέση με τους μάρτυρες. Στο ίδιο αποτέλεσμα καταλήγει και μια μελέτη σε ιρανικό πληθυσμό, η οποία ανιχνεύει και αυτή το γονότυπο AG με υψηλότερη συχνότητα στους ασθενείς σε σχέση με τους μάρτυρες.^{100,101}

Ωστόσο, μια μελέτη σε πληθυσμό που εμφανίζει πυρετικούς σπασμούς από την Ταϊβάν, υποστηρίζει ότι δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού αυτού και της επιληψίας.¹⁰²

Αντίθετα, μια μελέτη σε παιδιά και εφήβους από τη Σλοβενία υποστηρίζει ότι το πολυμορφικό αλληλόμορφο G, ιδιαίτερα όταν βρίσκεται σε ομοζυγωτία, συσχετίζεται με χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης επιληψίας και υψηλότερο βαθμό υποχώρησης των κρίσεων.¹⁰³

Παρόμοια αποτελέσματα παρουσιάζει και μια μελέτη σε ινδικό πληθυσμό με ασθενείς με συμπτωματική επιληψία. Συγκεκριμένα αναφέρει ότι το πολυμορφικό αλληλόμορφο G έχει προστατευτική δράση και συνδέεται με χαμηλότερο κίνδυνο πρόκλησης της ασθένειας.¹⁰⁴

Όσον αφορά την ανταπόκριση στη φαρμακευτική αγωγή και την πρόκληση αντίστασης, μια μελέτη σε κινέζικο πληθυσμό με εστιακές επιληπτικές κρίσεις, έδειξε ότι ασθενείς ομόζυγοι για τον φυσικό γονότυπο AA ανταποκρίνονται καλύτερα σε μονοθεραπεία με καρβαμαζεπίνη, παραμένοντας μεγαλύτερο χρονικό διάστημα ελεύθεροι κρίσεων, σε σχέση με τους ετερόζυγους GA και τους ομόζυγους GG για τον πολυμορφισμό. Οπότε η απουσία του πολυμορφισμού σχετίζεται με καλύτερη ανταπόκριση σε μονοθεραπεία με καρβαμαζεπίνη.⁹⁷

Τα αποτελέσματα αυτά ενισχύονται και από μια παρόμοια έρευνα που πραγματοποιήθηκε και αυτή σε κινέζικο πληθυσμό με εστιακή επιληψία. Συγκεκριμένα, υποστηρίζεται ότι η παρουσία του φυσικού αλληλομόρφου A οδηγεί σε καλύτερη θεραπευτική ανταπόκριση μετά από 12μηνιαία μονοθεραπεία με καρβαμαζεπίνη. Επίσης, ο αριθμός των ασθενών που δεν εμφάνισαν κρίση ήταν υψηλότερος στους ασθενείς με το φυσικό γονότυπο (AA) σε σχέση με τους ετεροζυγώτες (AG) και ομοζυγώτες (GG).¹⁰⁵

Σε αντίθεση με τα παραπάνω, ο Lakhan και οι συνεργάτες του υποστηρίζουν ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στη συχνότητα των αλληλομόρφων και των γονοτύπων μεταξύ ανταποκρινόμενων και μη ανταποκρινόμενων στη φαρμακευτική αγωγή ασθενών, σε ινδικό πληθυσμό. Στα ίδια αποτελέσματα κατέληξε και ο

Haerian και οι συνεργάτες του, σε μελέτη που διεξήχθει στο Χονγκ Κονγκ και τη Μαλαισία.^{100,106}

Παράλληλα, μια μελέτη σε πληθυσμό Καυκασίων έδειξε απουσία συσχέτισης μεταξύ αυτού του πολυμορφισμού και ανθεκτικότητας στη φαρμακευτική αγωγή. Βέβαια, η μελέτη αυτή είχε κάποιους βασικούς περιορισμούς, καθώς συμπεριέλαβε ασθενείς διαφορετικών ηλικιακών ομάδων (παιδιά, εφήβους, ενήλικες), οι οποίοι εμφάνιζαν διαφορετικούς τύπους επιληψίας και λάμβαναν αντιεπιληπτικά φάρμακα με διαφορετικούς μηχανισμούς δράσης.¹⁰⁷

Μια πιο αντιπροσωπευτική μελέτη έγινε λίγο αργότερα από τον Bao και τους συνεργάτες του, οι οποίοι διεξήγαγαν μια ερευνητική μετα-ανάλυση που συμπεριέλαβε δεδομένα από 4 μελέτες. Τα αποτελέσματά τους έδειξαν υψηλή συσχέτιση του πολυμορφισμού με την αντίσταση στα αντιεπιληπτικά φάρμακα που δρουν μπλοκάροντας τα τασεοευαίσθητα κανάλια νατρίου. Επιπρόσθετα, πρότειναν ότι το φυσικό αλληλόμορφο A, και συγκεκριμένα ο AA γονότυπος, συνδέονται με καλή ανταπόκριση σε αυτήν την κατηγορία φαρμάκων.⁹⁸

Επομένως, είναι εμφανές ότι υπάρχουν αντικρουόμενες απόψεις τόσο ως προς την επίδραση του πολυμορφισμού αυτού στην εμφάνιση επιληψίας, όσο και στη συσχέτισή του με την ανταπόκριση στη φαρμακευτική αγωγή.

•ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ•

1.11 Σκοπός εργασίας

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη συγκεκριμένων πολυμορφισμών (rs3812718 και rs2298771) του γονιδίου *SCN1A* σε ασθενείς με γενικευμένη, εστιακή και εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία από την Ελλάδα.

Οι στόχοι της παρούσας ερευνητικής εργασίας είναι οι εξής:

- συσχέτιση των συγκεκριμένων πολυμορφισμών με την εμφάνιση επιληψίας μέσω σύγκρισης με γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό
- συσχέτιση του συνδυασμού των συγκεκριμένων πολυμορφισμών με την εμφάνιση επιληψίας μέσω σύγκρισης με γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό
- σύγκριση της εμφάνισης των παραπάνω πολυμορφισμών μεταξύ ασθενών με γενικευμένες, εστιακές και εστιακές δευτεροπαθώς γενικευμένες επιληπτικές κρίσεις

Επομένως, απώτερος σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η χρήση των πολυμορφισμών rs3812718 και rs2298771 του γονιδίου *SCN1A* ως γενετικών δεικτών για την προδιάθεση εμφάνισης επιληψίας και ως δεικτών διαφοροδιάγνωσης μεταξύ των διάφορων επιληπτικών φαινοτύπων.

Με άλλα λόγια, η εργασία αυτή θα μπορούσε να εφαρμοστεί στα πλαίσια της προληπτικής και εξατομικευμένης ιατρικής. Έτσι, ένας ασθενής μέσω γονιδιακού ελέγχου και μεθόδων μοριακής διαγνωστικής θα μπορούσε να προβλέψει το μελλοντικό κίνδυνο να νοσήσει από επιληψία. Εκτός όμως από την πρόβλεψη της προδιάθεσης, η εργασία αυτή θα μπορούσε να λειτουργήσει τόσο ως μέσο πρόληψης όσο και ως διαγνωστικό εργαλείο για την έγκυρη διαφοροδιάγνωση μεταξύ των διάφορων κατηγοριών επιληψίας.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Δείγματα ασθενών

Στη μελέτη συμμετείχαν ασθενείς με γενικευμένη επιληψία και με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία, οι οποίοι συγκρίθηκαν ως προς δύο συγκεκριμένους πολυμορφισμούς με γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό, από τη διαδικτυακή βάση Ensembl αλλά και με ασθενείς με σύνθετη εστιακή επιληψία, από προηγούμενη μελέτη.

Οι ασθενείς εισήχθησαν στη μελέτη προοπτικά, κατά την προγραμματισμένη επίσκεψή τους στα εξωτερικά ιατρεία της Α' Νευροχειρουργικής Κλινικής του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «Ο Ευαγγελισμός» και στο ιδιωτικό ιατρείο του αναπληρωτή καθηγητή και νευρολόγου, Γκατζώνη Στέργιου-Στυλιανού.

Η συμμετοχή των ασθενών στη μελέτη ήταν εθελοντική, αφού πρώτα μελέτησαν και υπέγραψαν ένα ειδικό έντυπο ενυπόγραφης συγκατάθεσης (Informed Consent – IC, βλέπε Παράρτημα Α). Το συγκεκριμένο έγγραφο καλείται να ενημερώσει τον ασθενή για το σκοπό της μελέτης, το είδος του δείγματος και τη συμβολή αυτού στη μελέτη αλλά και να επισημάνει τη διασφάλιση της εμπιστευτικότητας που διέπει την όλη διαδικασία. Στο έντυπο ενυπόγραφης συγκατάθεσης δεν αναφέρεται ο κωδικός του δείγματος, αλλά μόνο το ονοματεπώνυμο του εθελοντή ασθενή και η υπογραφή του, έτσι ώστε να μη μπορούν να ταυτιστούν τα προσωπικά του στοιχεία με το δείγμα. Επίσης, στο έγγραφο αυτό περιλαμβάνεται και η ενυπόγραφη βεβαίωση του γιατρού για όλα τα παραπάνω.

Αφού οι εθελοντές συμφώνησαν να συμμετέχουν στη μελέτη, συμπλήρωσαν ένα ειδικά σχεδιασμένο ερωτηματολόγιο (Case Report Form – CRF, βλέπε Παράρτημα Β) με τη βοήθεια του υπεύθυνου ιατρού.

Το ερωτηματολόγιο αυτό περιέχει :

- κοινωνικά και δημογραφικά στοιχεία του ασθενούς
- στοιχεία για το ύψος και το βάρος του ασθενούς
- στοιχεία για το κάπνισμα
- οικογενειακό ιστορικό
- ατομικό ιστορικό
- ιστορικό φαρμακευτικής αγωγής
- καταγραφή ανεπιθύμητων ενεργειών και αντίστασης ως προς τη φαρμακευτική αγωγή

Με τη συμπλήρωση του ερωτηματολογίου, ο κάθε ασθενής έλαβε έναν μοναδικό κωδικό, ο οποίος αναγράφεται μόνο στο δείγμα που έδωσε για τη μελέτη και στο

αντίστοιχο ερωματηματολόγιο που το συνοδεύει. Το ονοματεπώνυμο του ασθενούς περιλαμβάνεται μόνο στο έντυπο ενυπόγραφης συγκατάθεσης, το οποίο παραμένει στους συνεργαζόμενους ιατρικούς φορείς (είτε στο νοσοκομείο «Ο Ευαγγελισμός» είτε στο ιδιωτικό ιατρείο του κ.Γκατζώνη), οπότε στην ερευνητική ομάδα Κλινικής Φαρμακολογίας και Φαρμακογονιδιωματικής δε γίνεται γνωστή η ταυτότητα του ασθενούς. Έτσι εξασφαλίζεται η ανωνυμοποίηση της διαδικασίας και τηρείται η προστασία των προσωπικών δεδομένων του ασθενούς.

2.1.1 Κριτήρια εισαγωγής

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

- Άνδρες και γυναίκες ηλικίας 18-80 ετών
- Βέβαιη διάγνωση γενικευμένης είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας, τουλάχιστον από έτους
- Απουσία άλλης παθολογικής κατάστασης που ενδεχομένως να επηρεάζει το αποτέλεσμα της αντιεπιληπτικής αγωγής ή τη συμμόρφωση του ασθενούς σε αυτή
- Υπογραφή εντύπου ενημερωμένης συγκατάθεσης για συμμετοχή στην παρούσα μελέτη

2.1.2 Κριτήρια αποκλεισμού

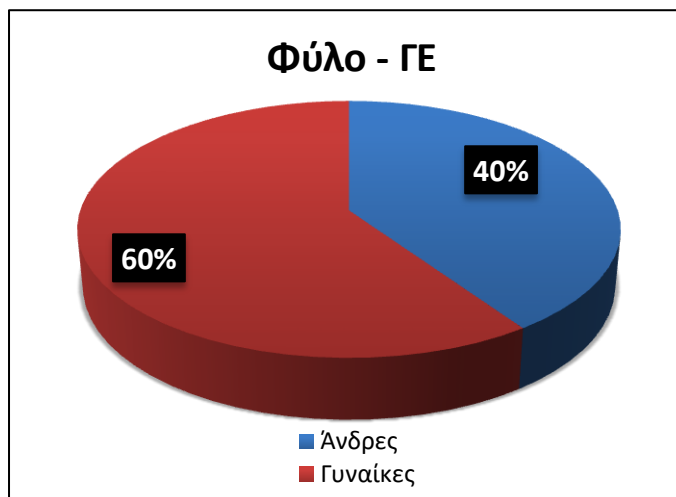
Από τη μελέτη απορρίφθηκαν οι ασθενείς για τους οποίους ισχύουν τα παρακάτω:

- Άνδρες και γυναίκες ηλικίας κάτω των 18 ετών ή άνω των 80 ετών
- Νοητική υστέρηση ($IQ < 50$)
- Μη επιβεβαιωμένη διάγνωση επιληψίας
- Αδυναμία καταμέτρησης των κρίσεων (πολλαπλές κρίσεις, κρίσεις στον ύπνο, *status epilepticus*)

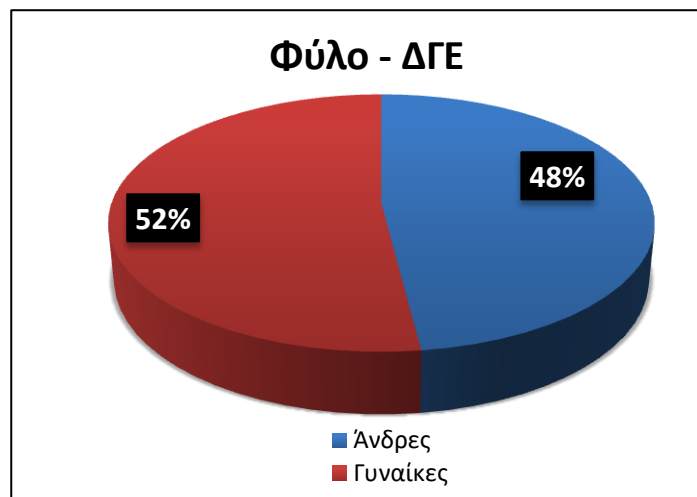
2.1.3 Δημογραφικά στοιχεία ασθενών

Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν 52 ασθενείς με γενικευμένη επιληψία και 50 ασθενείς με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία, οι οποίοι πληρούσαν όλα τα κριτήρια εισαγωγής.

Συγκεκριμένα, συμμετείχαν 21 άνδρες και 31 γυναίκες με γενικευμένη επιληψία (ΓΕ) και 24 άνδρες και 26 γυναίκες με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία (ΔΓΕ). (Εικόνες 2.1 - 2.2).

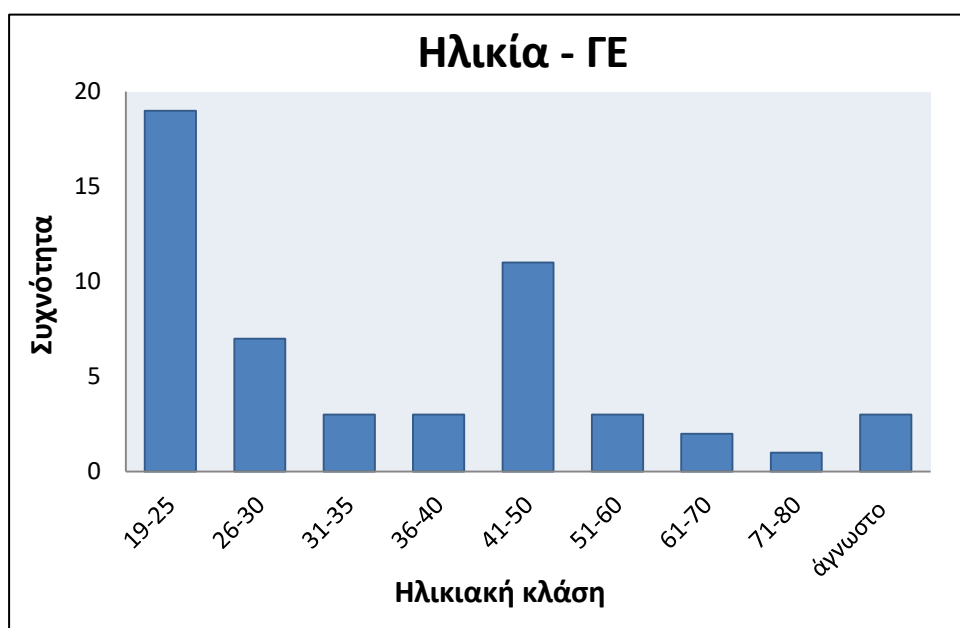


Εικόνα 2.1: Ποσοστό συμμετοχής ασθενών με γενικευμένη επιληψία (ΓΕ) ανάλογα με το φύλο

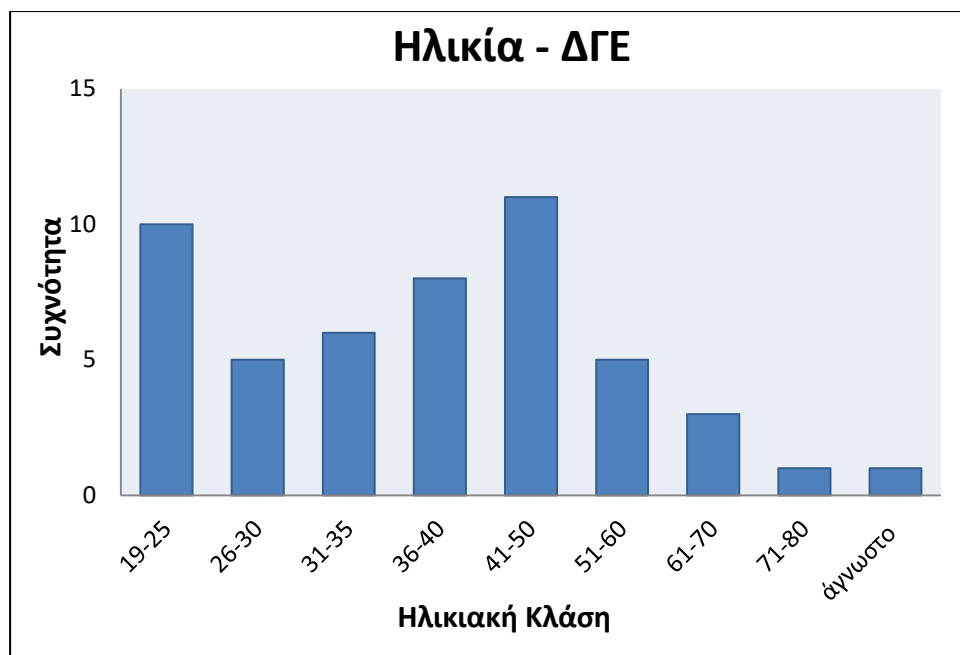


Εικόνα 2.2: Ποσοστό συμμετοχής ασθενών με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία (ΔΓΕ) ανάλογα με το φύλο

Οι ηλικίες των ασθενών που εισήχθησαν στη μελέτη είναι από 18 έως 80 ετών. Φαίνεται ότι οι ηλικιακές κλάσεις που επικρατούν και στις δύο κατηγορίες επιληψίας είναι 19-25 και 41-50 ετών. (Εικόνες 2.3 - 2.4)

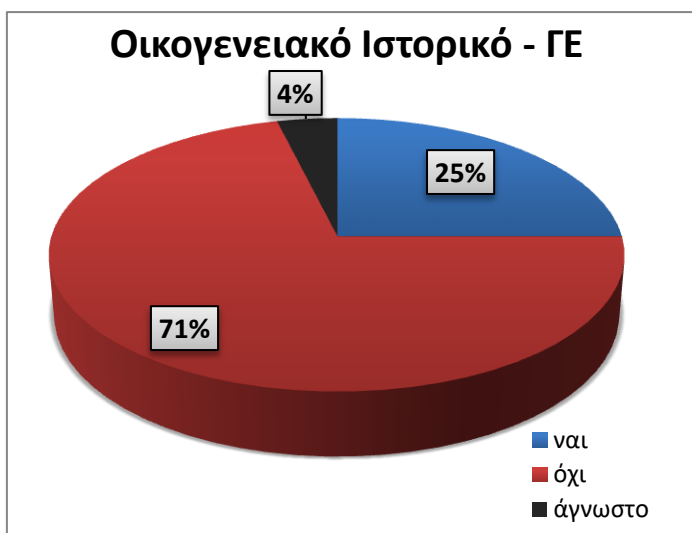


Εικόνα 2.3: Ηλικιακή κατανομή ασθενών με γενικευμένη επιληψία (ΓΕ)

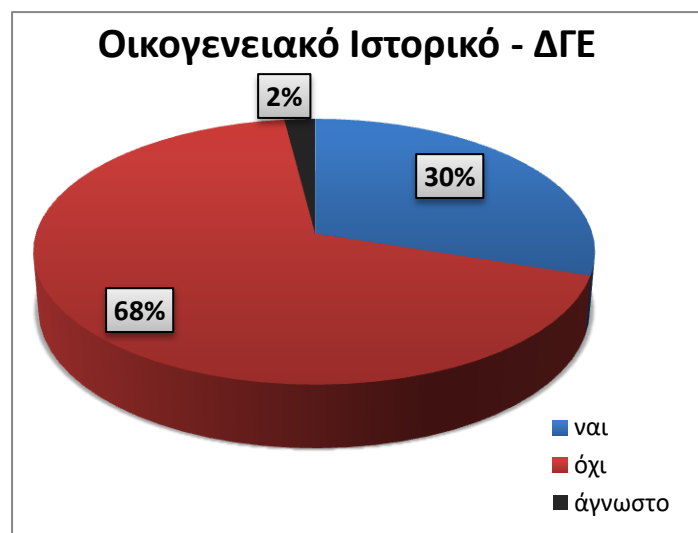


Εικόνα 2.4: Ηλικιακή κατανομή ασθενών με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία (ΔΓΕ)

Όσον αφορά το οικογενειακό ιστορικό της νόσου, η πλειοψηφία των ασθενών δεν εμφανίζει κάποιο πρόσωπο διαγνωσμένο με επιληψία στο οικογενειακό τους περιβάλλον. Συγκεκριμένα, οικογενειακό ιστορικό επιληψίας έχει μόνο το 25% των ασθενών με γενικευμένη επιληψία (ΓΕ) και το 30% των ασθενών με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία (ΔΓΕ). (Εικόνες 2.5 – 2.6)

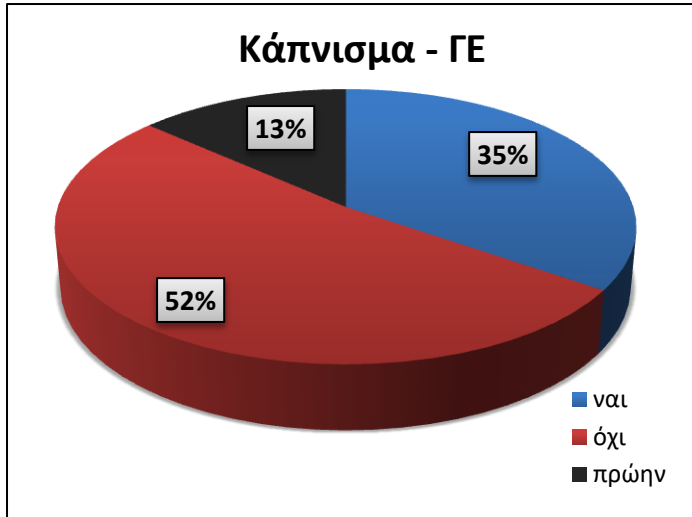


Εικόνα 2.5: Κατανομή ποσοστού εμφάνισης οικογενειακού ιστορικού της νόσου σε ασθενείς με γενικευμένη επιληψία (ΓΕ)

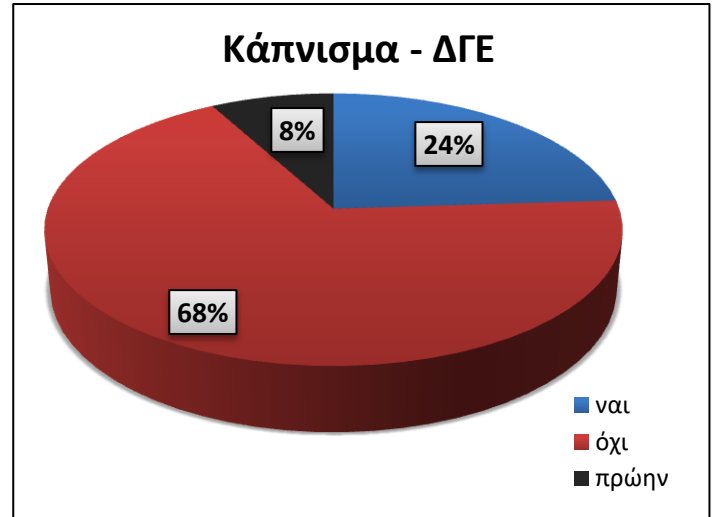


Εικόνα 2.6: Κατανομή ποσοστού εμφάνισης οικογενειακού ιστορικού της νόσου σε ασθενείς με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία (ΔΓΕ)

Τέλος, όσον αφορά το κάπνισμα, οι περισσότεροι ασθενείς δεν ήταν καπνιστές. Συγκεκριμένα, μόνο το 35% των ασθενών με γενικευμένη επιληψία (ΓΕ) και το 24% των ασθενών με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία (ΔΓΕ) είναι ενεργοί καπνιστές. (Εικόνες 2.7 - 2.8)



Εικόνα 2.7: Κατανομή ποσοστών καπνιστών, μη καπνιστών και πρώην καπνιστών στο δείγμα των ασθενών με γενικευμένη επιληψία (ΓΕ)



Εικόνα 2.8: Κατανομή ποσοστών καπνιστών, μη καπνιστών και πρώην καπνιστών στο δείγμα των ασθενών με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία (ΔΓΕ)

2.2 Λήψη δείγματος και μεταφορά

Αφού οι εθελοντές ασθενείς ενημερώθηκαν για τη μελέτη και υπέγραψαν το ειδικό έντυπο συγκατάθεσης για τη συμμετοχή τους σε αυτή, δεδομένου ότι πληρούσαν και τα αντίστοιχα κριτήρια εισαγωγής, ακολούθησε η αιμοληψία από τον υπεύθυνο ιατρό κατά την προγραμματισμένη επίσκεψή τους στο ιατρείο.

Συγκεκριμένα, από κάθε ασθενή ελήφθησαν περίπου 15 ml περιφερικό αίμα, το οποίο μεταφέρθηκε σε ένα φιαλίδιο που περιέχει αντιπηκτικό EDTA (3,5 ml) και σε δύο φιαλίδια χωρίς αντιπηκτικό (4,5 ml).

Μετά τη λήψη του αίματος ακολούθησε η ανωνυμοποίηση του κάθε δείγματος, όπως περιγράφηκε παραπάνω, έτσι ώστε η ερευνητική ομάδα Κλινικής Φαρμακολογίας και Φαρμακογονιδιωματικής να μη φέρει καμία πληροφορία σχετικά με την ταυτότητα του δείγματος.

Έπειτα, τα δείγματα μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο σε θερμοκρασία απλής ψύξης (+3° έως +10°C) εντός ειδικού δοχείου μεταφοράς για τη διατήρηση της θερμοκρασίας. Ο μέγιστος χρόνος παραλαβής των δειγμάτων από τους συνεργαζόμενους ιατρικούς φορείς ήταν δύο ώρες μετά την αιμοληψία.

Μετά τη μεταφορά των δειγμάτων αίματος στο ερευνητικό εργαστήριο, γινόταν αρχειοθέτηση του ειδικά σχεδιασμένου για τη μελέτη ερωτηματολογίου με το ιστορικό του ασθενούς στην ηλεκτρονική βάση του εργαστηρίου.

2.3 Επεξεργασία αίματος

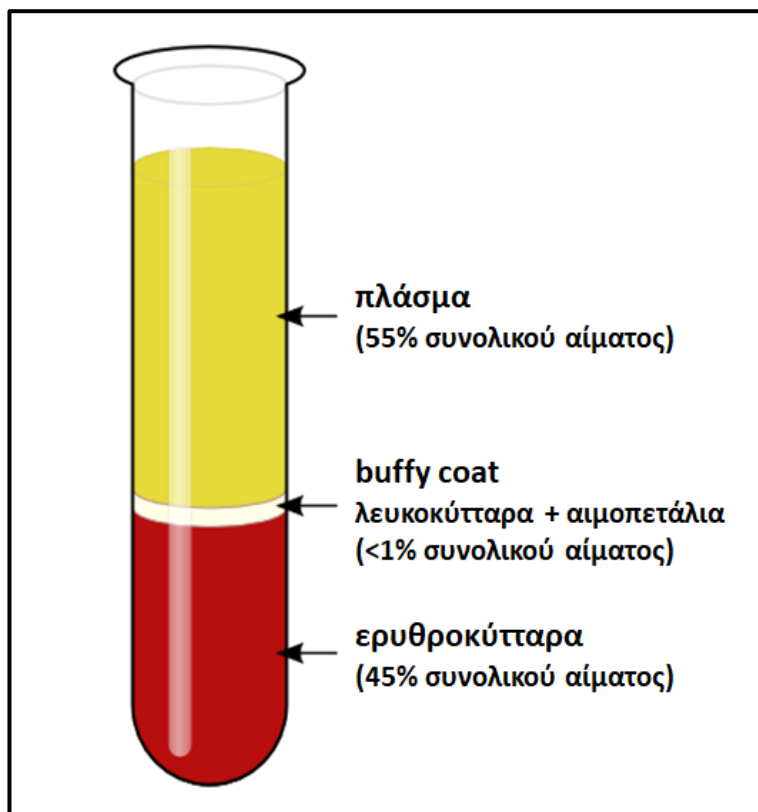
2.3.1 Αρχή μεθόδου

Το αίμα είναι ένας ιστός υγρής μορφής που αποτελείται από κύτταρα (έμμορφα στοιχεία) σε υδαρό περιβάλλον (πλάσμα). Το πλάσμα του αίματος είναι υδατικό διάλυμα ουσιών, κυρίως πρωτεϊνών, ανόργανων αλάτων και οργανικών ενώσεων, που φθάνουν το 10% του όγκου του. Μία από τις βασικές πρωτεΐνες που περιέχει είναι το ινωδογόνο, το οποίο είναι απαραίτητο για το σχηματισμό ινώδους κατά το τελικό στάδιο της θρόμβωσης του αίματος. Τα έμμορφα στοιχεία του αίματος είναι τα ερυθροκύτταρα, τα λευκοκύτταρα και τα αιμοπετάλια.¹⁰⁸

Η φυγοκέντρηση αίματος με την προσθήκη αντιπηκτικού, έχει ως αποτέλεσμα το διαχωρισμό του αίματος σε δυο ευδιάκριτες στιβάδες: σε ίζημα από έμμορφα κυτταρικά στοιχεία και σε διαυγές, κιτρινωπό υπερκείμενο (πλάσμα). Τα έμμορφα στοιχεία του αίματος διαχωρίζονται σε δύο επιμέρους στιβάδες: στη χαμηλότερη, η οποία είναι κόκκινη και αποτελείται από τα απύρρηνα ερυθροκύτταρα και στην αμέσως επόμενη στιβάδα, η οποία είναι λευκή και περιέχει τα λευκοκύτταρα (buffy

coat). Αυτός ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται λόγω της μικρότερης πυκνότητας των λευκοκυττάρων. (Εικόνα 2.9)

Αντίθετα, η φυγοκέντρηση αίματος χωρίς την προσθήκη αντιπηκτικού έχει διαφορετική εικόνα. Ως ίζημα καθιζάνει ο θρόμβος που σχηματίζεται κατά την πήξη του αίματος και αποτελείται από τα έμμορφα στοιχεία και το ινωδογόνο, ενώ το υπερκείμενο αποτελείται από ένα διαυγές υγρό, που ονομάζεται ορός.



Εικόνα 2.9: Σχηματική απεικόνιση του φυγοκεντρημένου αίματος με προσθήκη αντιπηκτικού EDTA ¹⁰⁹

2.3.2 Αντιδραστήρια-Υλικά-Εξοπλισμός

Για την επεξεργασία του αίματος χρησιμοποιήθηκαν:

- σωληνάρια τύπου eppendorf 1,5mL (Microtube Eppendorf)
- πιπέτες παστέρ 1mL (Nerbe Plus, Γερμανία)
- φυγόκεντρος (4225 Centrifuge)

2.3.3 Πρωτόκολλο

Στη συνέχεια ακολουθούσε η επεξεργασία των δειγμάτων ως εξής:

1. Φύλαξη 500 μ L ολικού αίματος στους -20°C από το φιαλίδιο με το αντιπηκτικό EDTA (γενική αίματος) για την απομόνωση DNA
2. Φυγοκέντρηση των δύο φιαλιδίων πήξης (χωρίς αντιπηκτικό) και του φιαλιδίου με αντιπηκτικό για 10 min στις 3.000 rpm

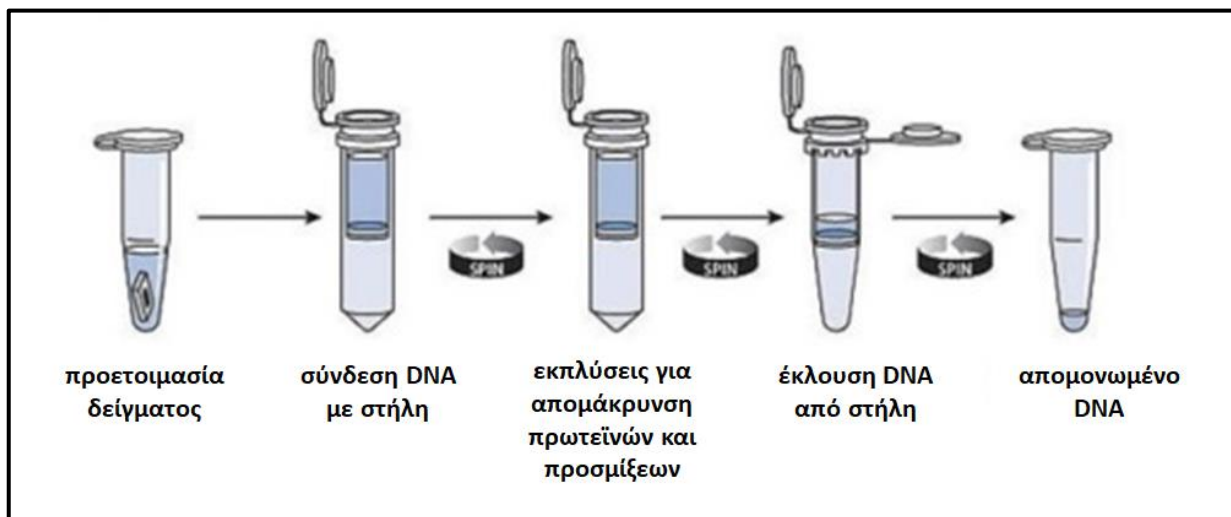
3. Απομόνωση buffy coat από το φιαλίδιο με το αντιπηκτικό, δηλαδή του κλάσματος του αίματος που περιέχει τα έμμορφα συστατικά (λευκά αιμοσφαίρια και αιμοπετάλια)
4. Απομόνωση ορού και πύγματος από το φιαλίδιο χωρίς αντιπηκτικό
5. Αποθήκευση ορού, πύγματος και buffy coat σε ξεχωριστά φιαλίδια στους -80°C .

2.4 Απομόνωση DNA

2.4.1 Αρχή μεθόδου

Για την απομόνωση του DNA χρησιμοποιήθηκαν ειδικές στήλες απομόνωσης νουκλεϊκών οξέων (innuPREP Blood DNA Midi Kit, Analytik Jena, Γερμανία). Η μέθοδος αυτή δίνει τη δυνατότητα ταυτόχρονης επεξεργασίας πολλών δειγμάτων και οδηγεί στην απομόνωση καθαρού και υψηλής απόδοσης DNA.

Η αρχή της μεθόδου απομόνωσης DNA μέσω kit βασίζεται στην ειδική σύσταση των μεμβρανών των στηλών συλλογής (silica membrane). Οι στήλες αυτές, με τη χρήση ειδικών ρυθμιστικών διαλυμάτων για έκπλυση και ρύθμιση του pH, κατάλληλων συγκεντρώσεων αλάτων και διαδοχικών φυγοκεντρήσεων, κατακρατούν από το κυτταρικό εκχύλισμα μόνο το DNA, το οποίο προσροφάται πάνω στη μεμβράνη, ενώ οι πρωτεΐνες και άλλες προσμίξεις διαπερνούν τη μεμβράνη και αποβάλλονται. Το DNA που απομονώνεται με αυτόν τον τρόπο, εκλούεται από τη στήλη σε ελαφρώς αλκαλικό διάλυμα (elution buffer), και είναι έτοιμο είτε να χρησιμοποιηθεί για αντιδράσεις PCR είτε να αποθηκευτεί στους -20°C για μετέπειτα χρήση. (Εικόνα 2.10)



Εικόνα 2.10: Διαδικασία απομόνωσης DNA με τη χρήση ειδικών στηλών με μεμβράνη (silica membrane) ¹¹⁰

Συνοπτικά, η διαδικασία απομόνωσης DNA περιλαμβάνει τα εξής βήματα: ¹¹¹

- προετοιμασία δείγματος αίματος
- λύση ερυθροκυττάρων
- λύση λεμφοκυττάρων
- απομάκρυνση πρωτεϊνών
- σύνδεση DNA με στήλη
- εκπλύσεις για απομάκρυνση προσμίξεων
- απομάκρυνση αιθανόλης
- έκλυση DNA

2.4.2 Αντιδραστήρια-Υλικά-Εξοπλισμός

Τα υλικά (αντιδραστήρια και εξοπλισμός) που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα εξής:

- InnuPREP Blood DNA Midi Kit της Analytik Jena
 - Ery Lysis Solution A (διάλυμα λύσης)
 - Ery Lysis Solution B (διάλυμα λύσης)
 - Lysis Solution TLS (διάλυμα λύσης)
 - Precipitation Buffer (ρυθμιστικό διάλυμα καθίζησης)
 - Πρωτεϊνάση K
 - Washing Solution MS (διάλυμα έκπλυσης)
 - Elution Buffer (διάλυμα έκλυσης)
 - Spin Filters (στήλες συλλογής)
 - Receiver Tubes (φιαλίδια συλλογής)
 - Elution Tubes (φιαλίδια έκλυσης)
- Αιθανόλη EtOH (70%, Merck, Γερμανία)
- Απεσταγμένο και αποστειρωμένο νερό, ελεύθερο νουκλεασών και πυρετογόνων
- Επωαστήρας (Techne DRI-BLOCK DB.3, Αγγλία)
- Συσκευή Vortex (Vibrofix VF1 Electronic, IKA Labortechnik, Janke & Kunkel, Γερμανία)
- Μικροφυγόκεντρος (Centrifuge 5424, Eppendorf, Γερμανία)
- Πιπέτες ακριβείας 2-20 μ L, 10-100 μ L, 100-1000 μ L (Eppendorf)
- Αναλώσιμα στόμια πιπετών 100 μ L και 1000 μ L (Saarstedt, Γερμανία)
- Σωληνάρια τύπου Eppendorf 1,5 mL (Microtube Eppendorf)

2.4.3 Πρωτόκολλο

Η διαδικασία απομόνωσης DNA περιλαμβάνει τα εξής βήματα: ¹¹¹

1. Τα 500 μ L ολικού αίματος που έχουν αποθηκευτεί στους -20°C αφήνονται σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι να ξεπαγώσουν
2. Προσθήκη 1 mL Ery Lysis Solution A και vortex
3. Επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 15 min

4. Φυγοκέντρηση για 3 min στις 6.000 rpm
5. Απόρριψη υπερκειμένου
6. Προσθήκη 1 mL Ery Lysis Solution B και vortex για 10 sec
7. Απόρριψη υπερκειμένου
8. Προσθήκη 200 µL Lysis Solution TLS και 25 µL Πρωτεϊνάσης K και vortex για 10 sec
9. Επώαση στους 70°C για 1h (μέχρι να διαλυθεί το ίζημα)
10. Σύντομο vortex 3-4 φορές κατά τη διάρκεια της επώασης για να εξασφαλιστεί η διαλυτοποίηση του ιζήματος
11. Προσθήκη 75 µL Precipitation Buffer και vortex για 10 sec
12. Φυγοκέντρηση για 3 min στις 12.000 rpm
13. Μεταφορά του υπερκειμένου σε νέο eppendorf 1,5 mL
14. Προσθήκη 500 µL 70% αιθανόλης και vortex
15. Μεταφορά του διαλύματος στη στήλη
16. Τοποθέτηση της στήλης σε φιαλίδιο συλλογής
17. Φυγοκέντρηση για 2 min στις 12.000 rpm
18. Τοποθέτηση της στήλης σε νέο φιαλίδιο συλλογής
19. Προσθήκη 750 µL Washing Solution MS στη στήλη
20. Φυγοκέντρηση για 1 min στις 12.000 rpm
21. Τοποθέτηση της στήλης σε νέο φιαλίδιο συλλογής
22. Φυγοκέντρηση για 2 min στις 12.000 rpm, για να απομακρυνθούν όλα τα υπολείμματα αιθανόλης
23. Απόρριψη του φιαλιδίου συλλογής και μεταφορά της στήλης σε ένα φιαλίδιο έκλουσης
24. Προσθήκη 100 µL Elution Buffer στη στήλη
25. Επώαση για 1 min σε θερμοκρασία δωματίου
26. Φυγοκέντρηση για 1 min στις 10.000 rpm
27. Επανάληψη των βημάτων 24-26 για αύξηση της απόδοσης της διεργασίας
28. Αποθήκευση του DNA στους -20°C

2.5 Φωτομέτρηση δειγμάτων

Μετά την απομόνωση του DNA ακολουθεί η φωτομέτρηση των δειγμάτων έτσι ώστε να γίνει έλεγχος της καθαρότητας αλλά και να εκτιμηθεί η ποσότητα του DNA που απομονώθηκε.

2.5.1 Αρχή μεθόδου

Η φασματοφωτομετρία βασίζεται στην ικανότητα 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 μετάπτωση 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 ($\lambda_{\max}$) 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 $\lambda_{\max}$ και με βάση το νόμο Lambert-Beer υπολογίζεται η συγκέντρωση των νουκλεϊκών οξέων με βάση την απορρόφηση αυτή.

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 $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$.

- Τιμές του λόγου $1,8 < A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}} < 2$ είναι αποδεκτές, καθώς ο λόγος $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}} = 1,8$ είναι χαρακτηριστικός διαλύματος καθαρού DNA.
- Τιμές του λόγου $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}} < 1,7$ είναι ενδεικτικές της ύπαρξης προσμίξεων, συνήθως πρωτεϊνών ή φαινόλης, αν αυτή χρησιμοποιήθηκε κατά τη διαδικασία απομόνωσης DNA.

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης DNA βασίζεται στο νόμο Lambert-Beer και αναμένεται συγκέντρωση DNA μεταξύ 5 – 50 $\mu\text{g/mL}$, καθώς σε αυτές τις συγκεντρώσεις εμφανίζεται γραμμική συσχέτιση με την απορρόφηση στα 260 nm.

2.5.2 Αντιδραστήρια-Υλικά-Εξοπλισμός

Για τη φωτομέτρηση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν:

- Water for injection
- Κυψελίδες (Eppendorf)
- Φασματοφωτόμετρο BioPhotometer (Eppendorf, Γερμανία)

Το φασματοφωτόμετρο είναι το όργανο που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της απορρόφησης της μονοχρωματικής ακτινοβολίας. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο απλής δέσμης, το οποίο αποτελείται από: ¹¹²

- μια πηγή ακτινοβολίας, σταθερής ισχύος
- έναν επιλογέα μήκους κύματος, που απομονώνει τη μονοχρωματική ακτινοβολία από το σύνολο του φάσματος που εκπέμπει η πηγή ακτινοβολίας
- μια κυψελίδα για την τοποθέτηση του δείγματος
- έναν ανιχνευτή, που μετατρέπει το εξερχόμενο από την κυψελίδα οπτικό σήμα σε ηλεκτρικό

- ένα σύστημα μετρήσεως, που περιλαμβάνει έναν ενισχυτή του σήματος και ένα όργανο αναγνώσεως των μετρήσεων της απορρόφησης συνήθως σε αναλογική ή ψηφιακή οθόνη

2.5.3 Πρωτόκολλο

Η διαδικασία φωτομέτρησης των δειγμάτων DNA περιλαμβάνει τα εξής βήματα:

1. Προσθήκη 100 μL water for injection στην κυψελίδα (τυφλό δείγμα)
2. Φωτομέτρηση τυφλού δείγματος και μηδενισμός φωτομέτρου
3. Προσθήκη 5 μL στην ίδια κυψελίδα και ανακάτεμα με την πιπέτα
4. Φωτομέτρηση δείγματος DNA
5. Υπολογισμός λόγου καθαρότητας $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$ και συγκέντρωσης DNA (σε $\mu\text{g/mL}$)

2.6 Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης - PCR

2.6.1 Αρχή μεθόδου PCR

Η αρχή της PCR βασίζεται στην *in vitro* ενίσχυση ενός συγκεκριμένου τμήματος DNA με τη χρήση διαδοχικών μεταβολών θερμοκρασίας. Απαραίτητα στοιχεία για την πραγματοποίηση της αντίδρασης, εκτός από το αρχικό τμήμα DNA που θα χρησιμοποιηθεί σαν εκμαγείο για την παρασκευή αντιγράφων, είναι η DNA-πολυμεράση, ένα μείγμα δεοξυριβονουκλεοτιδίων (dNTPs), ένα ζεύγος εκκινητών, που θα καθορίσουν το μέγεθος των αντιγράφων DNA, καθώς και ένα ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει στοιχεία που βελτιστοποιούν την αντίδραση και τη δράση του ενζύμου.¹¹³ (Εικόνα 2.11)

Η αντίδραση πραγματοποιείται σε αυτόματους θερμικούς κυκλοποιητές, που μεταβαίνουν αυτόματα στις καθορισμένες επιθυμητές θερμοκρασίες κάθε κύκλου. Τα πρωτόκολλα που χρησιμοποιούνται κάθε φορά ποικίλλουν ανάλογα με τις απαιτήσεις του ενζύμου, τη δομή και το μέγεθος του DNA που χρησιμοποιείται ως εκμαγείο, καθώς και τις βέλτιστες συνθήκες πρόσδεσης του εκκινητή. Ωστόσο, ένα γενικό πρωτόκολλο της τεχνικής PCR περιλαμβάνει:¹¹³

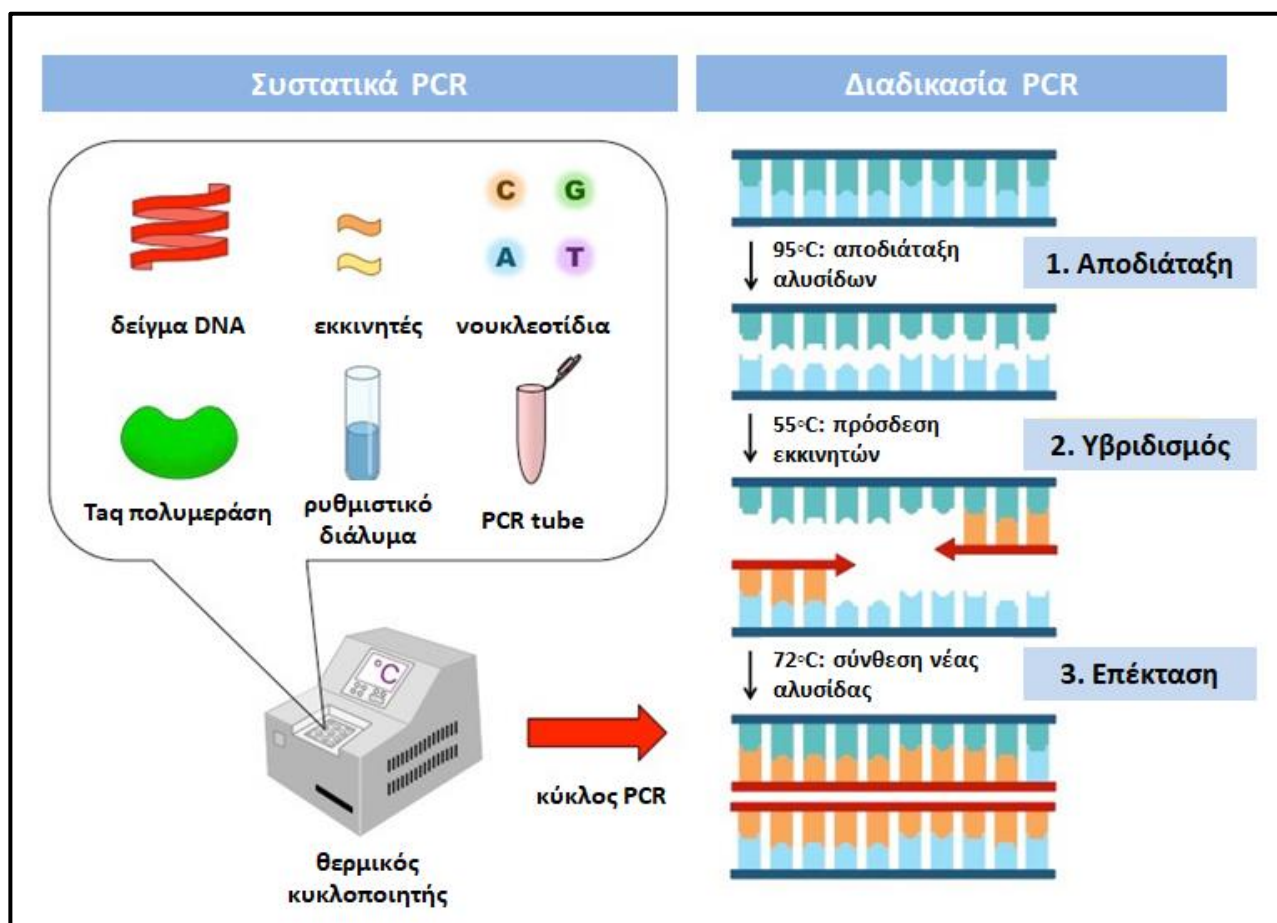
1. **Αποδιάταξη αρχικού δείγματος (denaturation):** Το μείγμα αρχικά θερμαίνεται στους 95°C για περίπου 15 λεπτά, ώστε να αποδιαταχθεί το δίκλωνο DNA με τη διάσπαση των δεσμών υδρογόνου και την καταστροφή των δευτεροταγών και τριτοταγών δομών και η διπλή έλικα να ανοίξει σε δύο μονόκλωνες αλυσίδες.
2. **Υβριδισμός (annealing):** Η θερμοκρασία μειώνεται μεταξύ $50-71^{\circ}\text{C}$ για 30-60 δευτερόλεπτα, ώστε να γίνει η πρόσδεση των εκκινητών στο μονόκλωνο DNA-εκμαγείο στο 3' άκρο κάθε αλυσίδας. Η θερμοκρασία ποικίλλει ανάλογα με τη βέλτιστη θερμοκρασία υβριδισμού των εκκινητών, η οποία για μήκος εκκινητών περίπου 20 βάσεων προσεγγίζεται θεωρητικά από τον

τύπο: $T_m = (A+T) \cdot 2 + (G+C) \cdot 4$. Η θερμοκρασία τήξης (melting temperature, T_m) ορίζεται ως η θερμοκρασία κατά την οποία πραγματοποιείται μετάβαση από το δίκλωνο στο μονόκλωνο DNA κατά 50%.

3. **Επέκταση (extension):** Η θερμοκρασία αυξάνεται στους 72°C, που είναι η βέλτιστη θερμοκρασία δράσης για τη θερμοανθεκτική DNA πολυμεράση, και γίνεται η σύνθεση της συμπληρωματικής αλυσίδας του DNA χρησιμοποιώντας δεοξυριβονουκλεοτίδια του διαλύματος. Ο χρόνος επώασης είναι 0,5-3 λεπτά και εξαρτάται από το μέγεθος του τμήματος DNA που θέλουμε να πολλαπλασιάσουμε.
4. **Αποδιάταξη προϊόντων:** Η θερμοκρασία αυξάνεται στους 94°C για 30-60 δευτερόλεπτα, ώστε τα μικρά τμήματα δίκλωνου DNA που δημιουργήθηκαν να αποχωριστούν πάλι και να αποτελέσουν εκμαγεία για τον επόμενο κύκλο σύνθεσης DNA.

Επαναλαμβάνονται 25-40 κύκλοι των σταδίων 2-4. Κατά τη διάρκεια του πρώτου κύκλου, το παραγόμενο προϊόν έχει ενδιάμεσο μέγεθος, αφού αρχίζει από το σημείο πρόσδεσης του εκκινητή στην αρχική αλυσίδα του DNA και τελειώνει στο σημείο εκείνο που σταματάει η δράση της DNA πολυμεράσης. Στο δεύτερο κύκλο έχουμε επίσης προϊόντα ενδιάμεσου μεγέθους, ενώ από τον τρίτο κύκλο εμφανίζονται οι αλυσίδες του DNA που έχουν το επιθυμητό μέγεθος. Από το σημείο αυτό και έπειτα, η παραγωγή προϊόντων επιθυμητού μεγέθους αυξάνεται εκθετικά, ώστε στο τελικό προϊόν της αντίδρασης να ανιχνεύονται μόνο μόρια συγκεκριμένου μεγέθους.¹¹³

Βέβαια, η ενίσχυση DNA δεν ακολουθεί καθ'όλη τη διάρκεια της αντίδρασης εκθετική πορεία. Αρχικά, διακρίνεται μια φάση κατά την οποία δημιουργούνται αντίγραφα του μορίου-εκμαγείου. Στη συνέχεια, ακολουθεί η εκθετική φάση, όπου το DNA αντιγράφεται με εκθετικό ρυθμό. Στο τέλος αυτής της φάσης, δημιουργείται ένα πλατό, όπου ο αριθμός των μορίων δεν αυξάνεται σημαντικά. Η χρονική στιγμή που εμφανίζεται το πλατό εξαρτάται από τον αριθμό των κύκλων και την αρχική ποσότητα του DNA στο δείγμα.¹¹³



Εικόνα 2.11: Σχηματική αναπαράσταση ενός κύκλου της μεθόδου PCR ¹¹⁴

2.6.2 Αρχή μεθόδου 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. Πρόκειται για μια υπερευαίσθητη τεχνική, κατά την οποία μαζί με την ενίσχυση της αλληλουχίας DNA γίνεται ταυτόχρονη ανίχνευση του παραγόμενου προϊόντος σε πραγματικό χρόνο, καθ' όλη τη διάρκεια της αντίδρασης. Η ιχνηθέτηση του παραγόμενου προϊόντος γίνεται με τη χρήση διάφορων φθορίζουσων ουσιών, οι οποίες ενσωματώνονται στην αλληλουχία που ενισχύεται. Η αύξηση του σήματος φθορισμού είναι ανάλογη με την ποσότητα του παραγόμενου προϊόντος και σχετίζεται άμεσα με τη συγκέντρωση του αρχικού υποστρώματος DNA. ¹¹³

Υπάρχουν δύο είδη συστημάτων ανίχνευσης με βάση τις χρωστικές:

- **Μη ειδικά συστήματα ανίχνευσης**

Στα μη ειδικά συστήματα ανίχνευσης χρησιμοποιείται μια φθορίζουσα χρωστική, η οποία ενσωματώνεται σε δίκλωνο μόριο DNA (πχ. SYBR green). Η χρωστική αυτή έχει την ιδιότητα να μη φθορίζει όταν βρίσκεται ελεύθερη σε διάλυμα, αλλά να παράγει φθορισμό με την ενσωμάτωσή της στο DNA, με την ένταση του φθορισμού αυτού να είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του παραγόμενου προϊόντος.

Οι μη ειδικές φθορίζουσες χρωστικές μπορούν να χρησιμοποιηθούν με οποιοδήποτε ζευγάρι εκκινητών καθώς και για την ενίσχυση οποιασδήποτε αλληλουχίας-στόχου. Βασικό μειονέκτημα της χαμηλής ειδικότητας της μεθόδου αποτελεί η λανθασμένη υπερεκτίμηση της συγκέντρωσης της αλληλουχίας-στόχου.

- **Ειδικά συστήματα ανίχνευσης**

Στα ειδικά συστήματα ανίχνευσης γίνεται χρήση ανιχνευτή, ειδικού για την αλληλουχία-στόχο. Οι ανιχνευτές έχουν τη δυνατότητα σήμανσης με διάφορες φθορίζουσες χρωστικές, των οποίων τα διαφορετικά φάσματα διέγερσης και εκπομπής επιτρέπουν τον σαφή διαχωρισμό τους. Ευρέως χρησιμοποιούμενες μέθοδοι που ανήκουν στη συγκεκριμένη κατηγορία αποτελούν οι Taqman probes, Molecular beacon probes, Scorpions probes και Hybridisation probes.

Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης της Real-Time PCR, ακολουθεί ανάλυση καμπυλών τήξης (melting curve analysis) κατά την οποία ανιχνεύονται συγκεκριμένοι σημειακοί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs). (Εικόνα 2.12)

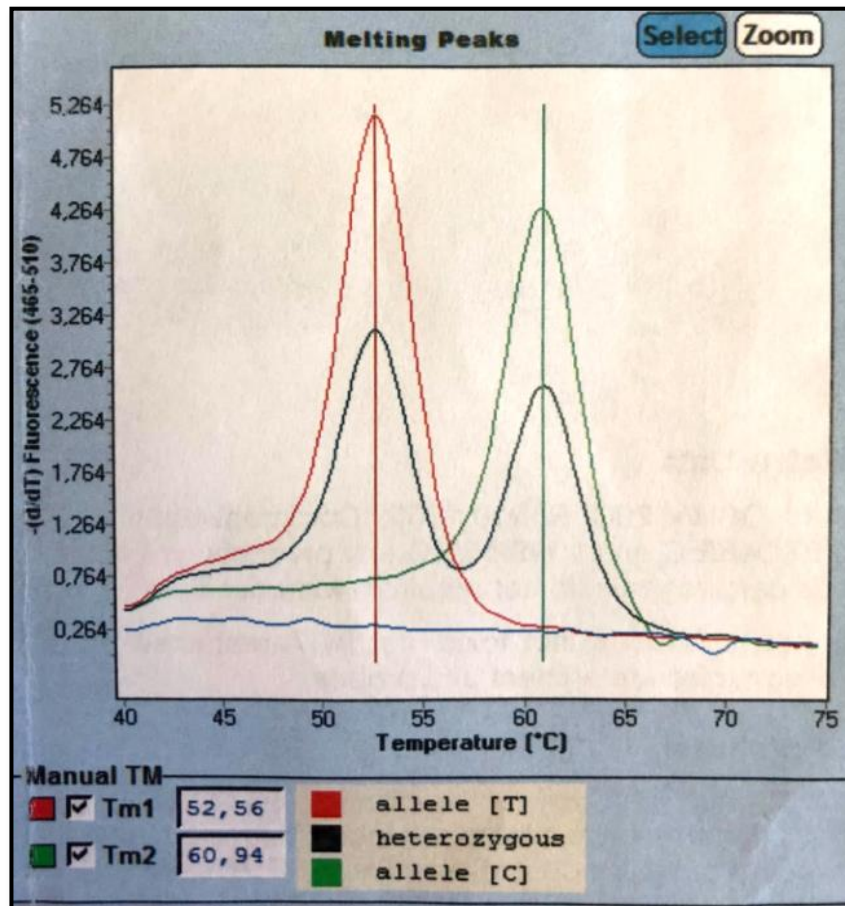
2.6.2.1 Διαδικασία Real-Time PCR με LightSNiP

Για τη συγκεκριμένη μελέτη χρησιμοποιήθηκε μια τυποποιημένη μέθοδος Real-Time PCR, που ονομάζεται LightSNiP, με σύστημα ανίχνευσης φθορισμού τον ανιχνευτή SimpleProbe[®].

Ο ανιχνευτής υβριδισμού SimpleProbe[®] είναι ένα ολιγονουκλεοτίδιο που είναι σημασμένο με φθοροφόρο μόριο, είναι σχεδιασμένο για τον συγκεκριμένο πολυμορφισμό που μελετάται, ενώ δε συμμετέχει στη διαδικασία της ενίσχυσης. Μόλις υβριδοποιηθεί με την αλληλουχία-στόχο, ο ανιχνευτής SimpleProbe[®] παράγει περισσότερο φθορισμό σε σχέση με την ελεύθερη μορφή του. Οι μεταβολές φθορισμού που βασίζονται αποκλειστικά στην κατάσταση υβριδισμού του μορίου ανιχνευτή εντοπίζονται με ανάλυση των καμπυλών τήξης (melting curve analysis).¹¹⁵

Το μόριο του ανιχνευτή είναι συμπληρωματικό είτε με την αλληλουχία του φυσικού γονοτύπου είτε με του πολυμορφικού γονοτύπου. Καθώς η μελέτη αυτή αφορά σημειακούς νουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς, ο ανιχνευτής αναμένεται να υβριδοποιηθεί τέλεια με έναν από τους δύο γονότυπους και ατελώς με τον άλλο. Οποιαδήποτε ασυμμετρία σύνδεσης του ανιχνευτή με την αλληλουχία-στόχο θα μειώσει τους δεσμούς υδρογόνου, άρα και τη θερμοκρασία τήξης, επιτρέποντας έτσι την ανάλυση των πολυμορφισμών μέσω καμπυλών τήξης. Διαφορετικοί

πολυμορφισμοί αποσταθεροποιούν διαφορετικά τους δεσμούς υδρογόνου, αποδίδοντας διαφορετικά σημεία τήξης, οδηγώντας έτσι στην εύκολη ταυτοποίηση των πολυμορφισμών και δίνοντας προβάδισμα στη μεθοδολογία αυτή έναντι ανταγωνιστικών τεχνολογιών.¹¹⁵



Εικόνα 2.12: Διαδικασία ανάλυσης καμπυλών τήξης (melting curve analysis) μετά το τέλος της Real-Time PCR για την ανίχνευση των σημειακών νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών

2.6.2.2 Αντιδραστήρια-Υλικά-Εξοπλισμός

Για τη Real-Time PCR με LightSNiP χρησιμοποιήθηκαν:

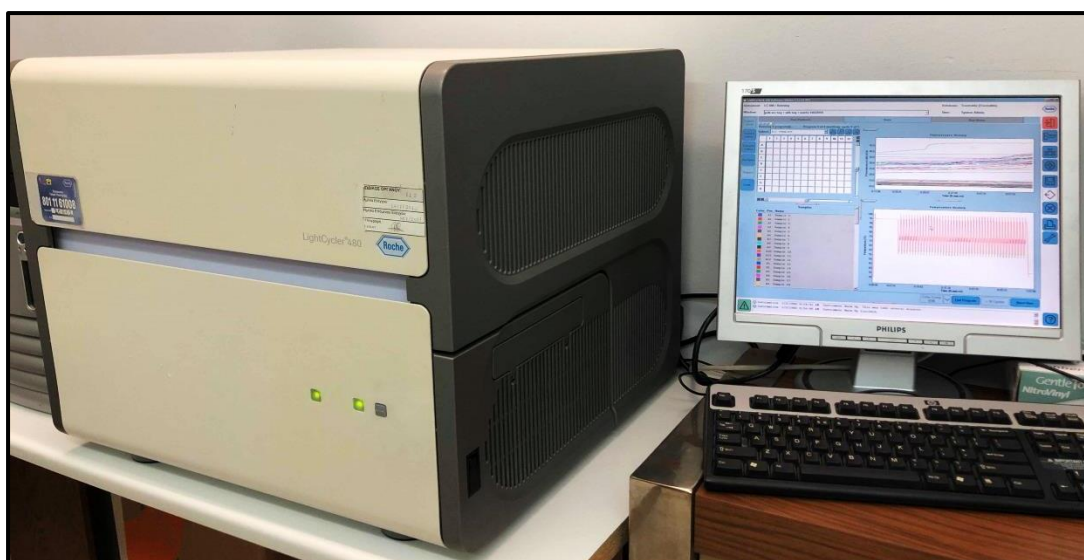
- LightSNiP (Tib-MolBiol, Γερμανία)
- FastStart DNA Master HybProbe (Roche Diagnostics, Γερμανία)
- MgCl₂
- PCR grade H₂O
- PCR plate 96*0,2mL (Nerbe Plus GmbH, Γερμανία)
- PCR clear seal 135*80 (Nippon Genetics, Ευρώπη)
- Real-Time PCR Light Cyclor 480 (Roche Diagnostics, Γερμανία)

Ο θερμικός κυκλοποιητής LightCycler480 παρέχει τη δυνατότητα ταυτόχρονης ανάλυσης 96 δειγμάτων με όγκους από 10-200 μL, με ικανότητα παρακολούθησης

της πορείας της αντίδρασης σε «πραγματικό χρόνο». Σημαντικό πλεονέκτημα της συγκεκριμένης οργανολογίας είναι η βελτιστοποίηση της ταχύτητας της αντίδρασης, καθώς σε μόλις 30 λεπτά ολοκληρώνεται μια αντίδραση PCR 30 κύκλων. Επίσης, χρησιμοποιεί 5 φίλτρα διέγερσης και 6 φίλτρα εκπομπής, τα οποία κάθε φορά συνδυάζονται κατάλληλα για την ακριβή ανίχνευση του φθορισμού. (Εικόνα 2.13)

Αποτελείται από δύο κύρια συστήματα:

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



Εικόνα 2.13: Θερμικός κυκλοποιητής Light Cyclor 480 σε σύνδεση με Η/Υ για παρακολούθηση της αντίδρασης Real-Time PCR σε «πραγματικό χρόνο»

2.6.2.3 Πρωτόκολλο

1. Αποστείρωση χώρου όπου γίνεται η προετοιμασία για τη φόρτωση της PCR
2. Παρασκευή PCR master-mix για κάθε πολυμορφισμό, το οποίο περιέχει όλα τα αντιδραστήρια εκτός του DNA (Πίνακας 2.1)
3. Προσθήκη 15 μ L PCR master-mix και 5 μ L DNA σε κάθε πηγαδάκι του PCR-plate, με καλή ανάδευση με την πιπέτα
4. Σφράγισμα του PCR-plate με ειδική μεμβράνη PCR clear-seal
5. Τοποθέτηση του PCR-plate στο θερμικό κυκλοποιητή Light Cyclor 480, ρύθμιση Η/Υ με το κατάλληλο θερμοκρασιακό πρόγραμμα (Πίνακας 2.2) και εκκίνηση διαδικασίας Real-Time PCR
6. Μετά το τέλος της Real-Time PCR, ανίχνευση SNPs μέσω ανάλυσης καμπυλών τήξης (melting curve analysis) (Εικόνα 2.12)

Πίνακας 2.1: Αναλογία αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε αντίδραση PCR

Αντιδραστήρια	τελικός όγκος = 20 μ L
H ₂ O	10,4 – 14,4 μ L
Reagent mix (primers+probes)	1 μ L
FastStart DNA-πολυμεράση	2 μ L
MgCl ₂ (25mM)	1,6 μ L
δείγμα DNA	1 – 5 μ L (50 ng)

Πίνακας 2.2: Πρόγραμμα Real-Time PCR με τον θερμικό κυκλοποιητή Light Cycler 480

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ							
	Αποδιάταξη	Ενίσχυση			Τήξη			Ψύξη
Ανάλυση	καμία	ποσοτικοποίηση			καμπύλες τήξης			καμία
Κύκλοι	1	45			1			1
Τμήματα	1	1	2	3	1	2	3	1
Θερμοκρασιακός στόχος (°C)	95	95	60	72	95	40	75	40
Διάρκεια σταδίου	10 min	10 sec	10sec	15 sec	30 sec	2 min	0 sec	30 sec
Ρυθμός μεταβολής θερμοκρασίας (°C)	4,4	4,4	2,2	4,4	4,4	1,5	-	1,5
Μέτρηση φθορισμού	καμία	καμία	μία	καμία	καμία	καμία	συνεχής (ανά 3°C)	καμία

2.7 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση έγινε στο πρόγραμμα στατιστικής επεξεργασίας SPSS (έκδοση 25.0 για Windows).

Για όλες τις συγκρίσεις κατασκευάστηκαν πίνακες 2x2 (με ένα βαθμό ελευθερίας) και υπολογίστηκαν οι σχετικοί λόγοι συμπληρωματικών πιθανοτήτων (odds ratio) αλλά και το 95% διάστημα εμπιστοσύνης (95% Confidence Interval).

Για να διερευνηθεί η ύπαρξη πιθανής συσχέτισης μεταξύ των μεταβλητών, χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος χ^2 (chi-square). Ο έλεγχος χ^2 χρησιμοποιείται γενικά για να εκτιμήσουμε αν δύο ή περισσότερα δείγματα, τα οποία αποτελούνται από δεδομένα συχνοτήτων, διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Όλοι οι έλεγχοι έγιναν σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$. Οι διαφορές που θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές ήταν αυτές στις οποίες η τιμή του p-value ήταν μικρότερη του 0,05 ($p<0,05$).

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Κατανομή συχνοτήτων για τους πολυμορφισμούς rs2298771 και rs3812718 στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό

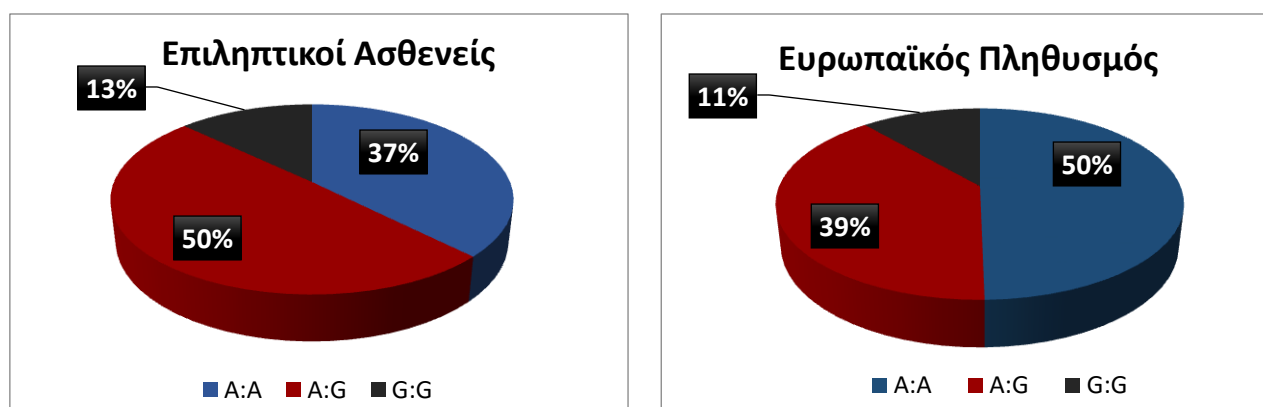
3.1.1 Κατανομή συχνοτήτων του πολυμορφισμού rs2298771

Για τον πολυμορφισμό rs2298771, εξετάστηκαν 216 επιληπτικοί ασθενείς (με γενικευμένη, εστιακή και εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία) εκ των οποίων 81 βρέθηκαν ομόζυγοι για το φυσικό αλληλόμορφο A, 107 ετερόζυγοι και 28 ομόζυγοι για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο G. Αντίστοιχα εξετάστηκαν 503 άτομα από γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό, εκ των οποίων οι 250 βρέθηκαν ομόζυγοι για το φυσικό αλληλόμορφο, οι 196 ετερόζυγοι και οι 57 ομόζυγοι για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο. Τα δεδομένα για το γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό χρησιμοποιήθηκαν από τη διαδικτυακή βάση Ensembl.

Η κατανομή των γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs2298771 στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.1 και στην Εικόνα 3.1.

Πίνακας 3.1: Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs2298771 στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό

Γονότυπος	Επιληπτικοί ασθενείς		Ευρωπαϊκός πληθυσμός	
A:A	81	37,5%	250	49,7%
A:G	107	49,5%	196	39%
G:G	28	13%	57	11,3%
σύνολο	216	100%	503	100%

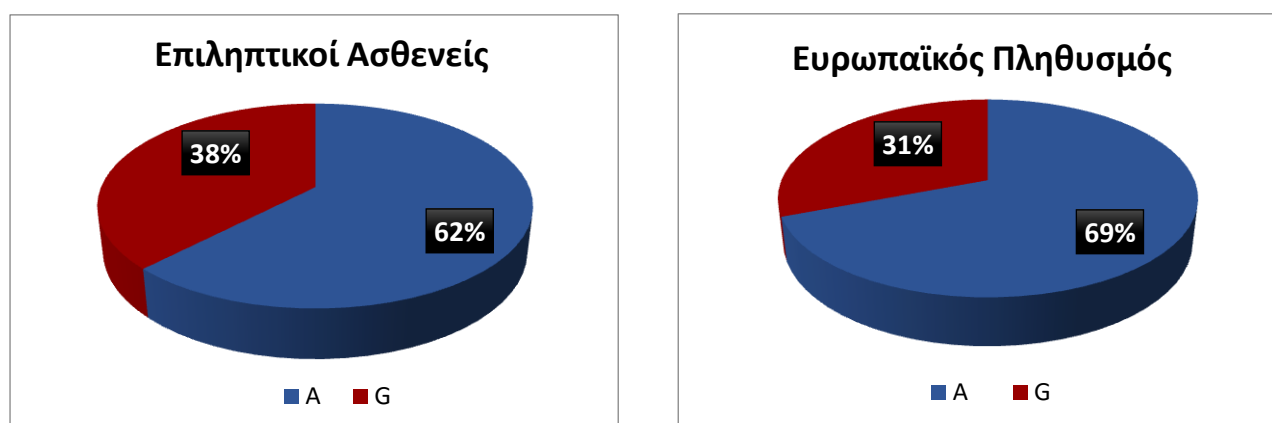


Εικόνα 3.1: Κατανομή των γονοτύπων του πολυμορφισμού rs2298771 σε επιληπτικούς ασθενείς (αριστερά) και σε γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό (δεξιά)

Η κατανομή αλληλομόρφων στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.2 και στην Εικόνα 3.2. Φαίνεται ότι το αλληλόμορφο A επικρατεί τόσο στους ασθενείς με επιληψία όσο και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό.

Πίνακας 3.2: Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs2298771 στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό

Αλληλόμορφο	Επιληπτικοί ασθενείς		Ευρωπαϊκός πληθυσμός	
A	269	62,3%	696	69,2%
G	163	37,7%	310	30,8%
σύνολο	432	100%	1006	100%



Εικόνα 3.2: Κατανομή των αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs2298771 σε επιληπτικούς ασθενείς (αριστερά) και σε γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό (δεξιά)

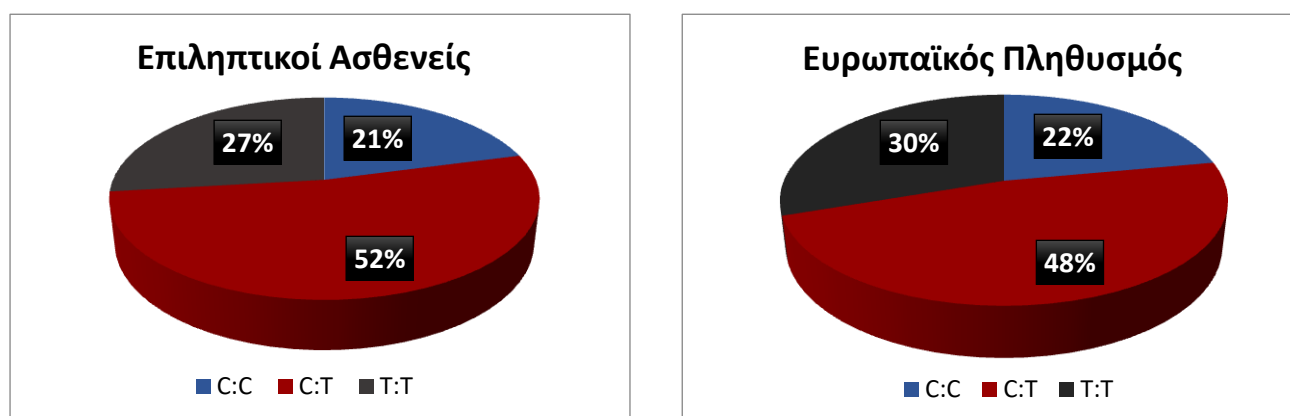
3.1.2 Κατανομή συχνοτήτων του πολυμορφισμού rs3812718

Για τον πολυμορφισμό rs3812718, εξετάστηκαν 216 επιληπτικοί ασθενείς (με γενικευμένη, εστιακή και εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία) εκ των οποίων 45 βρέθηκαν ομόζυγοι για το φυσικό αλληλόμορφο C, 113 ετερόζυγοι και 58 ομόζυγοι για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο T. Αντίστοιχα εξετάστηκαν 503 άτομα από γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό, εκ των οποίων οι 111 βρέθηκαν ομόζυγοι για το φυσικό αλληλόμορφο, οι 240 ετερόζυγοι και οι 152 ομόζυγοι για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο. Τα δεδομένα για το γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό χρησιμοποιήθηκαν από τη διαδικτυακή βάση Ensembl.

Η κατανομή των γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs3812718 στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.3 και στην Εικόνα 3.3.

Πίνακας 3.3: Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs3812718 στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό

Γονότυπος	Επιληπτικοί ασθενείς		Ευρωπαϊκός πληθυσμός	
C:C	45	20,8%	111	22,1%
C:T	113	52,3%	240	47,7%
T:T	58	26,9%	152	30,2%
σύνολο	216	100%	503	100%

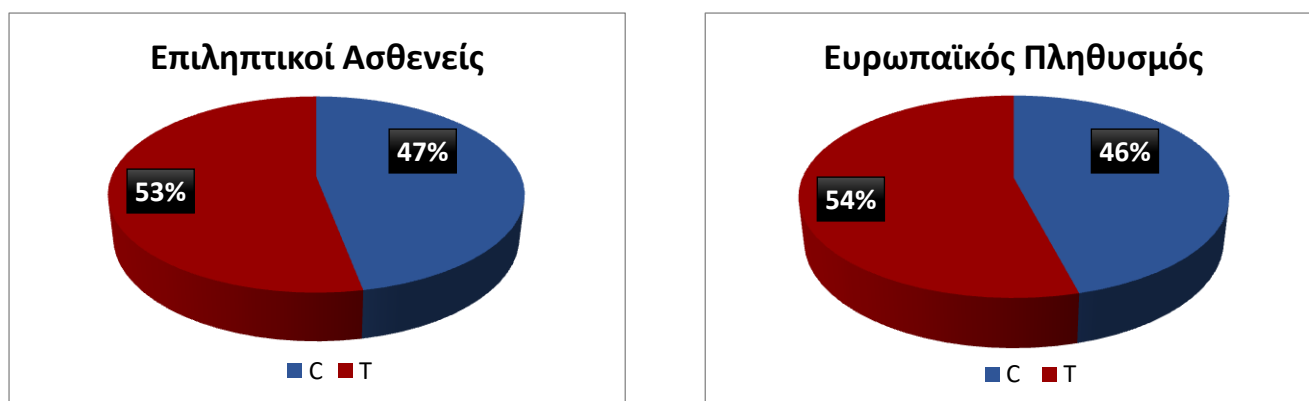


Εικόνα 3.3: Κατανομή των γονοτύπων του πολυμορφισμού rs3812718 σε επιληπτικούς ασθενείς (αριστερά) και σε γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό (δεξιά)

Η κατανομή αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό rs3812718 στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.4 και στην Εικόνα 3.4. Φαίνεται ότι τα αλληλόμορφα C και T έχουν παρόμοια συχνότητα εμφάνισης, τόσο στους ασθενείς με επιληψία όσο και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό, με το αλληλόμορφο T να εμφανίζεται οριακά συχνότερα από το C.

Πίνακας 3.4: Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs3812718 στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό

Αλληλόμορφο	Επιληπτικοί ασθενείς		Ευρωπαϊκός πληθυσμός	
C	203	47,0%	462	45,9%
T	229	53,0%	544	54,1%
σύνολο	432	100%	1006	100%



Εικόνα 3.4: Κατανομή των αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs3812718 σε επιληπτικούς ασθενείς (αριστερά) και σε γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό (δεξιά)

3.2 Συσχέτιση των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 με την εμφάνιση επιληψίας

Για τη συσχέτιση των δύο αυτών πολυμορφισμών του γονιδίου *SCN1A* με την εμφάνιση της νόσου έγινε σύγκριση μεταξύ του δείγματος των επιληπτικών ασθενών (με γενικευμένη, εστιακή και εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία) και του γενικού ευρωπαϊκού πληθυσμού. Η σύγκριση έγινε με στατιστικό έλεγχο χ^2 σε πίνακα 2x2, οπότε οι 3 πιθανοί γονότυποι συνδυάζονταν κάθε φορά με τον εξής τρόπο: ο ομόζυγος φυσικός γονότυπος έναντι του ομόζυγου μεταλλαγμένου και του ετερόζυγου και ο ομόζυγος μεταλλαγμένος έναντι του ομόζυγου φυσικού και του ετερόζυγου γονότυπου.

3.2.1 Συσχέτιση του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση επιληψίας

Ελέχθηκε η πιθανή συσχέτιση των γονοτύπων AA, GG και των αλληλομόρφων A,G του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση της νόσου. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης χ^2 παρουσιάζονται στους Πίνακες 3.5, 3.6 και 3.7.

Στην περίπτωση της σύγκρισης του γονοτύπου AA έναντι των γονοτύπων GG+AG, το p βρέθηκε μικρότερο του επιπέδου σημαντικότητας ($p=0,003$), υποδηλώνοντας έτσι μια στατιστικά σημαντική σχέση. Συγκεκριμένα, ο γονότυποι GG+AG εμφανίζονται κατά 1,65 φορές συχνότερα από τον γονότυπο AA στους επιληπτικούς ασθενείς σε σχέση με το γενικό πληθυσμό ($OR=0,607$, $1/OR=1,65$).

Πίνακας 3.5: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου AA έναντι των GG+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση επιληψίας

Γονότυπος	Εpileπτικοί ασθενείς		Ευρωπαϊκός πληθυσμός		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
AA	81	37,5%	250	49,7%	0,607	0,438-0,842	0,003
GG+AG	135	62,5%	253	50,3%			
σύνολο	216	100%	503	100%			

Στην περίπτωση της σύγκρισης του γονοτύπου GG έναντι των γονοτύπων AA+AG δε βρέθηκε κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα, καθώς το p ήταν μεγαλύτερο του επιπέδου σημαντικότητας ($p=0,535$).

Πίνακας 3.6: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου GG έναντι των AA+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση επιληψίας

Γονότυπος	Επιληπτικοί ασθενείς		Ευρωπαϊκός πληθυσμός		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
GG	28	13,0%	57	11,3%	1,165	0,719–1,890	0,535
AA+AG	188	87,0%	446	88,7%			
σύνολο	216	100%	503	100%			

Στην περίπτωση σύγκρισης των αλληλομόρφων A και G μεταξύ επιληπτικών ασθενών και γενικού πληθυσμού, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση του G αλληλομόρφου με την εμφάνιση επιληψίας ($p=0,01$, $OR=0,735$, $1/OR=1,36$). Συγκεκριμένα, φαίνεται ότι οι επιληπτικοί ασθενείς εμφανίζουν κατά 1,36 φορές περισσότερο το πολυμορφικό αλληλόμορφο G σε σχέση με το γενικό πληθυσμό.

Πίνακας 3.7: Έλεγχος συσχέτισης των αλληλομόρφων A και G του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση επιληψίας

Αλληλόμορφο	Επιληπτικοί ασθενείς		Ευρωπαϊκός πληθυσμός		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
A	269	62,3%	696	69,2%	0,735	0,580–0,931	0,01
G	163	37,7%	310	30,8%			
σύνολο	432	100%	1006	100%			

3.2.2 Συσχέτιση του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση επιληψίας

Παράλληλα, ελέγχθηκε η πιθανή συσχέτιση των γονοτύπων CC,TT και των αλληλομόρφων C,T του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση της νόσου. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης χ^2 παρουσιάζονται στους Πίνακες 3.8, 3.9 και 3.10.

Τόσο στη σύγκριση του γονοτύπου CC έναντι των γονοτύπων TT+CT όσο και στη σύγκριση του TT έναντι των CC+CT, δε βρέθηκε κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα ($p=0,713$ και $p=0,363$ αντίστοιχα). Οπότε δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική συσχέτιση των γονοτύπων με την εμφάνιση επιληψίας για τον πολυμορφισμό αυτό. (Πίνακες 3.8 και 3.9)

Πίνακας 3.8: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου CC έναντι των TT+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση επιληψίας

Γονότυπος	Επιληπτικοί ασθενείς		Ευρωπαϊκός πληθυσμός		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
CC	45	20,8%	111	22,1%	0,929	0,629–1,374	0,713
TT+CT	171	79,2%	392	77,9%			
σύνολο	216	100%	503	100%			

Πίνακας 3.9: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου TT έναντι των CC+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση επιληψίας

Γονότυπος	Επιληπτικοί ασθενείς		Ευρωπαϊκός πληθυσμός		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
TT	58	26,9%	152	30,2%	0,847	0,59 –1,210	0,363
CC+CT	158	73,1%	351	69,8%			
σύνολο	216	100%	503	100%			

Παράλληλα, δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική συσχέτιση για κάποιο αλληλόμορφο μεταξύ επιληπτικών ασθενών και γενικού πληθυσμού, καθώς και εδώ το p είναι μεγαλύτερο του 0,05 ($p=0,71$). (Πίνακας 3.10)

Πίνακας 3.10: Έλεγχος συσχέτισης των αλληλομόρφων C και T του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση επιληψίας

Αλληλόμορφο	Επιληπτικοί ασθενείς		Ευρωπαϊκός πληθυσμός		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
C	203	47,0%	462	45,9%	1,044	0,833–1,308	0,71
T	229	53,0%	544	54,1%			
σύνολο	432	100%	1006	100%			

3.3 Κατανομή συχνοτήτων για τους πολυμορφισμούς rs2298771 και rs3812718 μεταξύ διαφορετικών επιληπτικών φαινοτύπων

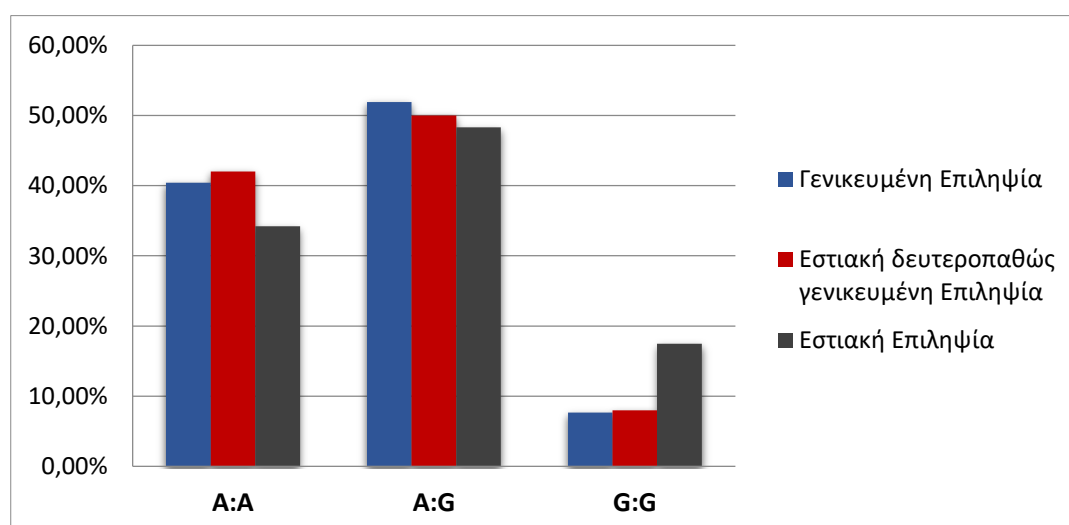
Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν 52 ασθενείς με γενικευμένη επιληψία και 50 ασθενείς με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία, ενώ χρησιμοποιήθηκαν και 114 ασθενείς με εστιακή επιληψία από παλαιότερη μελέτη. Οι ασθενείς αυτοί εξετάστηκαν για την παρουσία των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718.

3.3.1 Κατανομή γονοτύπων των πολυμορφισμών μεταξύ διαφορετικών επιληπτικών φαινοτύπων

Για τον πολυμορφισμό rs2298771, η κατανομή των γονοτύπων για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.11. Φαίνεται ότι ο ετερόζυγος γονότυπος AG κυριαρχεί και στις τρεις κατηγορίες επιληψίας, ακολουθεί ο ομόζυγος φυσικός γονότυπος AA, ενώ πιο σπάνιος είναι ο ομόζυγος μεταλλαγμένος γονότυπος GG. (Εικόνα 3.5)

Πίνακας 3.11: Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs2298771 για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους

Γονότυπος	Γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή Επιληψία	
A:A	21	40,4%	21	42%	39	34,2%
A:G	27	51,9%	25	50%	55	48,3%
G:G	4	7,7%	4	8%	20	17,5%
σύνολο	52	100%	50	100%	114	100%

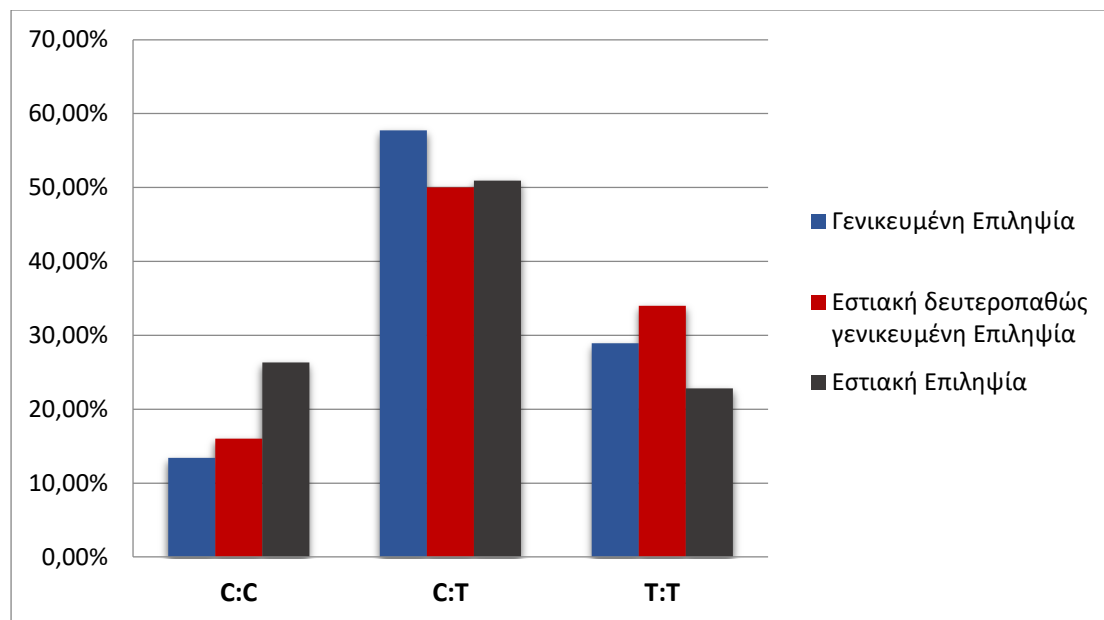


Εικόνα 3.5: Διάγραμμα κατανομής γονοτύπων του πολυμορφισμού rs2298771 για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους

Για τον πολυμορφισμό rs3812718, η κατανομή των γονοτύπων για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.12. Φαίνεται ότι ο ετερόζυγος γονότυπος CT κυριαρχεί και στις τρεις κατηγορίες επιληψίας. Στη γενικευμένη και εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία ακολουθεί ο ομόζυγος μεταλλαγμένος γονότυπος TT και πιο σπάνιος είναι ο ομόζυγος φυσικός γονότυπος CC, ενώ στην εστιακή επιληψία ισχύει το αντίστροφο. (Εικόνα 3.6)

Πίνακας 3.12: Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs3812718 για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους

Γονότυπος	Γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή Επιληψία	
C:C	7	13,4%	8	16%	30	26,3%
C:T	30	57,7%	25	50%	58	50,9%
T:T	15	28,9%	17	34%	26	22,8%
σύνολο	52	100%	50	100%	114	100%



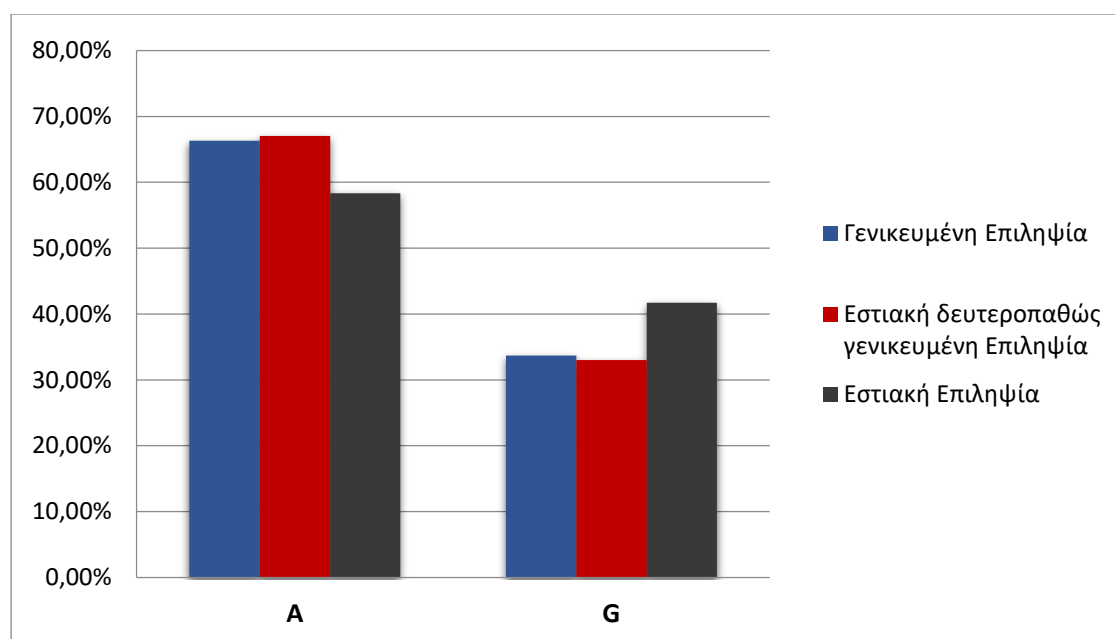
Εικόνα 3.6: Διάγραμμα κατανομής γονοτύπων του πολυμορφισμού rs3812718 για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους

3.3.2 Κατανομή αλληλομόρφων των πολυμορφισμών μεταξύ διαφορετικών επιληπτικών φαινοτύπων

Για τον πολυμορφισμό rs2298771, η κατανομή των αλληλομόρφων για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.13. Φαίνεται ότι το φυσικό αλληλόμορφο A κυριαρχεί έναντι του μεταλλαγμένου G σε όλες τις κατηγορίες επιληψίας. (Εικόνα 3.7)

Πίνακας 3.13: Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs2298771 για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους

Αλληλόμορφο	Γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή Επιληψία	
A	69	66,3%	67	67%	133	58,3%
G	35	33,7%	33	33%	95	41,7%
σύνολο	104	100%	100	100%	228	100%

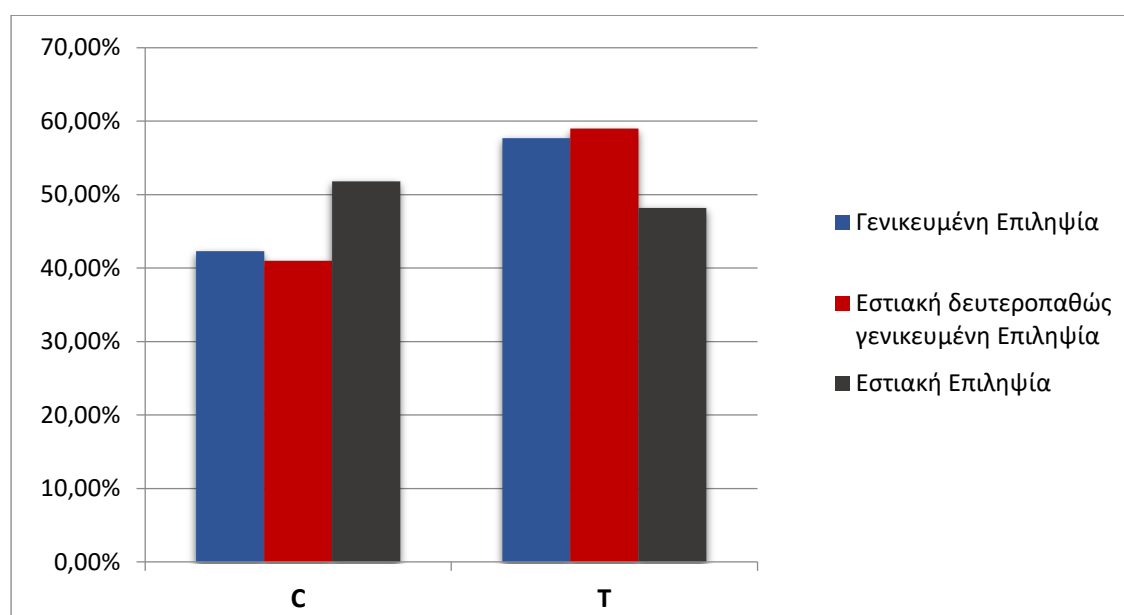


Εικόνα 3.7: Διάγραμμα κατανομής αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs2298771 για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους

Για τον πολυμορφισμό rs3812718, η κατανομή των αλληλομόρφων για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.14. Φαίνεται ότι το φυσικό αλληλόμορφο C κυριαρχεί οριακά έναντι του μεταλλαγμένου T μόνο στην περίπτωση της εστιακής επιληψίας, ενώ στη γενικευμένη και στην εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία ισχύει το αντίστροφο. (Εικόνα 3.8)

Πίνακας 3.14: Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs3812718 για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους

Αλληλόμορφο	Γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή Επιληψία	
C	44	42,3%	41	41%	118	51,8%
T	60	57,7%	59	59%	110	48,2%
σύνολο	104	100%	100	100%	228	100%



Εικόνα 3.8: Διάγραμμα κατανομής αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs3812718 για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους

3.4 Συσχέτιση των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 με την εμφάνιση διαφορετικών επιληπτικών φαινοτύπων

Αφού έγινε συσχέτιση των δύο αυτών πολυμορφισμών του γονιδίου *SCN1A* με την εμφάνιση επιληψίας (βλέπε Παράγραφο 3.2), ακολούθησε η διερεύνηση της συσχέτισής τους με συγκεκριμένους τύπους επιληψίας. Οπότε, έγινε σύγκριση μεταξύ του δείγματος ασθενών με γενικευμένη επιληψία και ασθενών με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία με το γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό. Η σύγκριση έγινε με στατιστικό έλεγχο χ^2 σε πίνακες 2x2.

3.4.1 Συσχέτιση των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης επιληψίας

Αρχικά, ελέγχθηκε η πιθανή συσχέτιση τόσο των γονοτύπων AA και GG, όσο και των αλληλομόρφων A,G του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης επιληψίας. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης χ^2 παρουσιάζονται στους Πίνακες 3.15, 3.16 και 3.17.

Τόσο στη σύγκριση των γονοτύπων AA και GG όσο και των αλληλομόρφων A,G μεταξύ ασθενών με γενικευμένη επιληψία και γενικού πληθυσμού δε βρέθηκε κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα ($p=0,201$, $p=0,424$ και $p=0,552$ αντίστοιχα). Οπότε δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική συσχέτιση των γονοτύπων και των αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης επιληψίας.

Πίνακας 3.15: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου AA έναντι των GG+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης επιληψίας

Γονότυπος	Γενικευμένη Επιληψία		Ευρωπαϊκός πληθυσμός		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
AA	21	40,4%	250	49,7%	0,685	0,384-1,225	0,201
GG+AG	31	59,6%	253	50,3%			
σύνολο	52	100%	503	100%			

Πίνακας 3.16: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου GG έναντι των AA+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης επιληψίας

Γονότυπος	Γενικευμένη Επιληψία		Ευρωπαϊκός πληθυσμός		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
GG	4	7,7%	57	11,3%	0,652	0,227-1,876	0,424
AA+AG	48	92,3%	446	88,7%			
σύνολο	52	100%	503	100%			

Πίνακας 3.17: Έλεγχος συσχέτισης των αλληλομόρφων A και G του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης επιληψίας

Αλληλόμορφο	Γενικευμένη Επιληψία		Ευρωπαϊκός πληθυσμός		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
A	69	66,3%	696	69,2%	0,878	0,572-1,347	0,552
G	35	33,7%	310	30,8%			
σύνολο	104	100%	1006	100%			

Έπειτα, ελέγχθηκε η πιθανή συσχέτιση των γονοτύπων CC, TT και των αλληλομόρφων C, T του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης επιληψίας. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης χ^2 παρουσιάζονται στους Πίνακες 3.18, 3.19, 3.20.

Οι συγκρίσεις των γονοτύπων CC, TT και των αλληλομόρφων C, T μεταξύ ασθενών με γενικευμένη επιληψία και γενικού πληθυσμού δεν έδωσαν κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα ($p=0,149$, $p=0,837$ και $p=0,481$ αντίστοιχα). Οπότε δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική συσχέτιση των γονοτύπων και των αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης επιληψίας.

Πίνακας 3.18: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου CC έναντι των TT+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης επιληψίας

Γονότυπος	Γενικευμένη Επιληψία		Ευρωπαϊκός πληθυσμός		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
CC	7	13,5%	111	22,1%	0,55	0,241-1,252	0,149
TT+CT	45	86,5%	392	77,9%			
σύνολο	52	100%	503	100%			

Πίνακας 3.19: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου TT έναντι των CC+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης επιληψίας

Γονότυπος	Γενικευμένη Επιληψία		Ευρωπαϊκός πληθυσμός		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
TT	15	28,8%	152	30,2%	0,936	0,5- 1,757	0,837
CC+CT	37	71,2%	351	69,8%			
σύνολο	52	100%	503	100%			

Πίνακας 3.20: Έλεγχος συσχέτισης των αλληλομόρφων C, T του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης επιληψίας

Αλληλόμορφο	Γενικευμένη Επιληψία		Ευρωπαϊκός πληθυσμός		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
C	44	42,3%	462	45,9%	0,863	0,574-1,299	0,481
T	60	57,7%	544	54,1%			
σύνολο	104	100%	1006	100%			

3.4.2 Συσχέτιση των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας

Αρχικά, ελέγχθηκε η πιθανή συσχέτιση τόσο των γονοτύπων AA και GG, όσο και των αλληλομόρφων A,G του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης χ^2 παρουσιάζονται στους Πίνακες 3.21, 3.22 και 3.23.

Κατά τη σύγκριση των γονοτύπων AA και GG όσο και των αλληλομόρφων A,G μεταξύ ασθενών με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία και γενικού πληθυσμού δε βρέθηκε κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα ($p=0,299$, $p=0,473$ και $p=0,652$ αντίστοιχα). Οπότε δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική συσχέτιση των γονοτύπων και των αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας.

Πίνακας 3.21: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου AA έναντι των GG+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας

Γονότυπος	Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Ευρωπαϊκός πληθυσμός		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
AA	21	42,0%	250	49,7%	0,733	0,407-1,319	0,299
GG+AG	29	58,0%	253	50,3%			
σύνολο	50	100%	503	100%			

Πίνακας 3.22: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου GG έναντι των AA+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας

Γονότυπος	Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Ευρωπαϊκός πληθυσμός		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
GG	4	8,0%	57	11,3%	0,68	0,236- 1,96	0,473
AA+AG	46	92,0%	446	88,7%			
σύνολο	50	100%	503	100%			

Πίνακας 3.23: Έλεγχος συσχέτισης των αλληλομόρφων A και G του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας

Αλληλόμορφο	Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Ευρωπαϊκός πληθυσμός		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
A	67	67,0%	696	69,2%	0,904	0,584-1,401	0,652
G	33	33%	310	30,8%			
σύνολο	100	100%	1006	100%			

Έπειτα, ελέγχθηκε η πιθανή συσχέτιση των γονοτύπων CC, TT και των αλληλομόρφων C, T του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης χ^2 παρουσιάζονται στους Πίνακες 3.24, 3.25 και 3.26.

Οι συγκρίσεις των γονοτύπων CC, TT και των αλληλομόρφων C, T μεταξύ ασθενών με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία και γενικού πληθυσμού δεν έδωσαν κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα ($p=0,319$, $p=0,58$ και $p=0,346$ αντίστοιχα). Οπότε δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική συσχέτιση των γονοτύπων και των αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας.

Πίνακας 3.24: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου CC έναντι των TT+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας

Γονότυπος	Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Ευρωπαϊκός πληθυσμός		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
CC	8	16,0%	111	22,1%	0,672	0,307- 1,475	0,319
TT+CT	42	84,0%	392	77,9%			
σύνολο	50	100%	503	100%			

Πίνακας 3.25: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου TT έναντι των CC+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας

Γονότυπος	Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Ευρωπαϊκός πληθυσμός		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
TT	17	34,0%	152	30,2%	1,19	0,643- 2,20	0,58
CC+CT	33	66,0%	351	69,8%			
σύνολο	50	100%	503	100%			

Πίνακας 3.26: Έλεγχος συσχέτισης των αλληλομόρφων C, T του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας

Αλληλόμορφο	Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Ευρωπαϊκός πληθυσμός		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
C	41	41,0%	462	45,9%	0,818	0,539- 1,242	0,346
T	59	59,0%	544	54,1%			
σύνολο	100	100%	1006	100%			

3.5 Σύγκριση εμφάνισης των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 μεταξύ διαφορετικών επιληπτικών φαινοτύπων

3.5.1 Σύγκριση εμφάνισης των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 μεταξύ γενικευμένης και εστιακής επιληψίας

Ασθενείς με γενικευμένη επιληψία συγκρίθηκαν με ασθενείς με εστιακή επιληψία ως προς την εμφάνιση των δύο πολυμορφισμών του γονιδίου *SCN1A* μέσω στατιστικού ελέγχου χ^2 .

Για τον πολυμορφισμό rs2298771, ελέγχθηκε η πιθανή συσχέτιση τόσο των γονοτύπων AA και GG, όσο και των αλληλομόρφων A και G, με την εμφάνιση είτε γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε πίνακες 2x2 (Πίνακας 3.27, 3.28 και 3.29). Παρατηρήθηκε μια τάση επικράτησης των γονοτύπων AA+AG έναντι του GG κατά 2,5 φορές στη γενικευμένη έναντι της εστιακής επιληψίας ($p=0,094$, $OR=0,391$, $1/OR=2,56$). Καθώς το μέγεθος δείγματος δεν είναι μεγάλο, η τάση αυτή μπορεί εύκολα να μετατραπεί σε στατιστικά σημαντική διαφορά με προσθήκη επιπλέον ασθενών στη μελέτη. Κατά τη σύγκριση των γονοτύπων AA με τους GG+AG αλλά και των αλληλομόρφων A, G μεταξύ τους δεν παρατηρείται κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας.

Πίνακας 3.27: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου AA έναντι των GG+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας

Γονότυπος	Γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή Επιληψία		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
AA	21	40,4%	39	34,2%	1,302	0,662-2,558	0,442
GG+AG	31	59,6%	75	65,8%			
σύνολο	52	100%	114	100%			

Πίνακας 3.28: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου GG έναντι των AA+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας

Γονότυπος	Γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή Επιληψία		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
GG	4	7,7%	20	17,5%	0,391	0,127-1,210	0,094
AA+AG	48	92,3%	94	82,5%			
σύνολο	52	100%	114	100%			

Πίνακας 3.29: Έλεγχος συσχέτισης του αλληλομόρφου A έναντι του G του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας

Αλληλόμορφο	Γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή Επιληψία		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
A	69	66,3%	133	58,3%	1,408	0,867-2,286	0,165
G	35	33,7%	95	41,7%			
σύνολο	104	100%	228	100%			

Για τον πολυμορφισμό rs3812718, ελέγχθηκε η πιθανή συσχέτιση τόσο των γονοτύπων CC και TT, όσο και των αλληλομόρφων C και T, με την εμφάνιση είτε γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε πίνακες 2x2 (Πίνακες 3.30, 3.31 και 3.32).

Στην περίπτωση της σύγκρισης του γονοτύπου CC με τους γονότυπους TT+CT το p είναι πολύ κοντά στο επίπεδο σημαντικότητας ($p=0,065$). Συγκεκριμένα, παρατηρείται μια τάση επικράτησης των γονοτύπων TT+CT έναντι του CC κατά 2,3 φορές ($OR=0,436$ και $1/OR=2,3$) στη γενικευμένη έναντι της εστιακής επιληψίας. Με ενίσχυση του αριθμού του δείγματος το εύρημα αυτό μπορεί να γίνει στατιστικά σημαντικό. (Πίνακας 3.30)

Πίνακας 3.30: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου CC έναντι των TT+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας

Γονότυπος	Γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή Επιληψία		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
CC	7	13,5%	30	26,3%	0,436	0,177-1,070	0,065
TT+CT	45	86,5%	84	73,7%			
σύνολο	52	100%	114	100%			

Στην περίπτωση της σύγκρισης του γονοτύπου TT με τους γονότυπους CC+CT και των αλληλομόρφων C και T μεταξύ τους, δεν παρατηρείται κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα ($p=0,403$ και $p=0,110$ αντίστοιχα). (Πίνακες 3.31, 3.32)

Πίνακας 3.31: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου TT έναντι των CC+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας

Γονότυπος	Γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή Επιληψία		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
TT	15	28,8%	26	22,8%	1,371	0,653-2,882	0,403
CC+CT	37	71,2%	88	77,2%			
σύνολο	52	100%	114	100%			

Πίνακας 3.32: Έλεγχος συσχέτισης του αλληλομόρφου C έναντι του T του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας

Αλληλόμορφο	Γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή Επιληψία		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
C	44	42,3%	118	51,8%	0,684	0,428-1,091	0,110
T	60	57,7%	110	48,2%			
σύνολο	104	100%	228	100%			

3.5.2 Σύγκριση εμφάνισης των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 μεταξύ εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης και εστιακής επιληψίας

Ασθενείς με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία συγκρίθηκαν με ασθενείς με εστιακή επιληψία ως προς την εμφάνιση των δύο πολυμορφισμών του γονιδίου *SCN1A* μέσω στατιστικού ελέγχου χ^2 .

Για τον πολυμορφισμό rs2298771, ελέγχθηκε η πιθανή συσχέτιση τόσο των γονοτύπων AA και GG, όσο και των αλληλομόρφων A και G, με την εμφάνιση είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε πίνακες 2x2 (Πίνακες 3.33, 3.34 και 3.35). Το p είναι μεγαλύτερο του επιπέδου σημαντικότητας 0,05 και στις τρεις περιπτώσεις ($p=0,340$, $p=0,111$ και $p=0,139$ αντίστοιχα), οπότε δεν παρατηρείται κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση των γονοτύπων ή των αλληλομόρφων με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας.

Πίνακας 3.33: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου AA έναντι των GG+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας

Γονότυπος	Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή Επιληψία		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
AA	21	42,0%	39	34,2%	1,393	0,704-2,755	0,340
GG+AG	29	58,0%	75	65,8%			
σύνολο	50	100%	114	100%			

Πίνακας 3.34: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου GG έναντι των AA+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας

Γονότυπος	Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή Επιληψία		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
GG	4	8,0%	20	17,5%	0,409	0,132-1,266	0,111
AA+AG	46	92,0%	94	82,5%			
σύνολο	50	100%	114	100%			

Πίνακας 3.35: Έλεγχος συσχέτισης του αλληλομόρφου A έναντι του G του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας

Αλληλόμορφο	Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή Επιληψία		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
A	67	67,0%	133	58,3%	1,450	0,886-2,374	0,139
G	33	33,0%	95	41,7%			
σύνολο	100	100%	228	100%			

Για πολυμορφισμό rs3812718, ελέγχθηκε η πιθανή συσχέτιση τόσο των γονοτύπων CC και TT, όσο και των αλληλομόρφων C και T, με την εμφάνιση είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε πίνακες 2x2 (Πίνακες 3.36, 3.37 και 3.38).

Στην περίπτωση της σύγκρισης του γονοτύπου CC με τους γονότυπους TT+CT, αλλά και του γονοτύπου TT με τους CC+CT, το p είναι μεγαλύτερο του επιπέδου σημαντικότητας 0,05 ($p=0,149$ και $p=0,134$ αντίστοιχα). Οπότε δεν παρατηρείται κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των γονοτύπων και της εμφάνισης εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης και εστιακής επιληψίας. (Πίνακες 3.36, 3.37)

Πίνακας 3.36: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου CC έναντι των TT+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας

Γονότυπος	Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή Επιληψία		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
CC	8	16,0%	30	26,3%	0,533	0,225-1,264	0,149
TT+CT	42	84,0%	84	73,7%			
σύνολο	50	100%	114	100%			

Πίνακας 3.37: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου TT έναντι των CC+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας

Γονότυπος	Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή Επιληψία		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
TT	17	34,0%	26	22,8%	1,742	0,840-3,623	0,134
CC+CT	33	66,0%	88	77,2%			
σύνολο	50	100%	114	100%			

Στην περίπτωση της σύγκρισης των αλληλομόρφων C και T μεταξύ τους, το p είναι πολύ κοντά στο επίπεδο σημαντικότητας ($p=0,073$). Συγκεκριμένα, παρατηρείται μια τάση επικράτησης του αλληλομόρφου T έναντι του C κατά 1,5 φορές στην εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία έναντι της εστιακής επιληψίας ($OR=0,65$ και $1/OR=1,5$). Μια αύξηση του αριθμού του δείγματος μπορεί να οδηγήσει στη στατιστική σημαντικότητα του ευρήματος αυτού. (Πίνακας 3.38)

Πίνακας 3.38: Έλεγχος συσχέτισης του αλληλομόρφου C έναντι του T του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης είτε εστιακής επιληψίας

Αλληλόμορφο	Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή Επιληψία		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
C	41	41,0%	118	51,8%	0,648	0,403-1,042	0,073
T	59	59,0%	110	48,2%			
σύνολο	100	100%	228	100%			

3.5.3 Σύγκριση εμφάνισης των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 μεταξύ γενικευμένης και εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας

Τέλος, ασθενείς με γενικευμένη επιληψία συγκρίθηκαν με ασθενείς με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία ως προς την εμφάνιση των δύο πολυμορφισμών του γονιδίου *SCN1A* μέσω στατιστικού ελέγχου χ^2 .

Για τον πολυμορφισμό rs2298771, ελέγχθηκε η πιθανή συσχέτιση τόσο των γονοτύπων AA και GG, όσο και των αλληλομόρφων A και G, με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε πίνακες 2x2 (Πίνακες 3.39, 3.40, 3.41). Το p είναι πολύ μεγαλύτερο του επιπέδου σημαντικότητας 0,05 και στις τρεις περιπτώσεις ($p=0,868$, $p=0,954$ και $p=0,921$ αντίστοιχα), οπότε δεν παρατηρείται κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση των γονοτύπων ή των αλληλομόρφων με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας.

Πίνακας 3.39: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου AA έναντι των GG+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας

Γονότυπος	Γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
AA	21	40,4%	21	42,0%	0,935	0,425-2,058	0,868
GG+AG	31	59,6%	29	58,0%			
σύνολο	52	100%	50	100%			

Πίνακας 3.40: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου GG έναντι των AA+AG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας

Γονότυπος	Γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
GG	4	7,7%	4	8,0%	0,959	0,226-4,065	0,954
AA+AG	48	92,3%	46	92,0%			
σύνολο	52	100%	50	100%			

Πίνακας 3.41: Έλεγχος συσχέτισης του αλληλομόρφου A έναντι του G του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας

Αλληλόμορφο	Γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
A	69	66,3%	67	67,0%	0,971	0,542-1,738	0,921
G	35	33,7%	33	33,0%			
σύνολο	104	100%	100	100%			

Για τον πολυμορφισμό rs3812718, ελέγχθηκε η πιθανή συσχέτιση τόσο των γονοτύπων CC και TT, όσο και των αλληλομόρφων C και T, με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε πίνακες 2x2 (Πίνακες 3.42, 3.43, 3.44).

Πίνακας 3.42: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου CC έναντι των TT+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας

Γονότυπος	Γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
CC	7	13,5%	8	16,0%	0,817	0,272-2,450	0,717
TT+CT	45	86,5%	42	84,0%			
σύνολο	52	100%	50	100%			

Πίνακας 3.43: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου TT έναντι των CC+CT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας

Γονότυπος	Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή Επιληψία		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
TT	15	28,8%	17	34,0%	0,787	0,340-1,818	0,575
CC+CT	37	71,2%	33	66,0%			
σύνολο	52	100%	50	100%			

Πίνακας 3.44: Έλεγχος συσχέτισης του αλληλομόρφου C έναντι του T του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας

Αλληλόμορφο	Γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
C	44	42,3%	41	41,0%	1,055	0,605-1,842	0,850
T	60	57,7%	59	59,0%			
σύνολο	104	100%	100	100%			

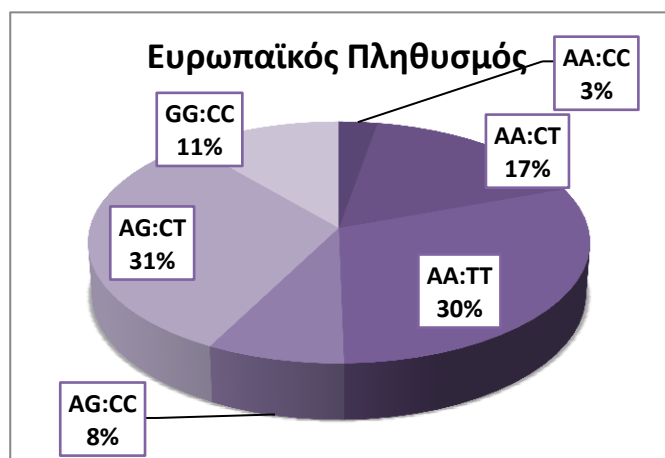
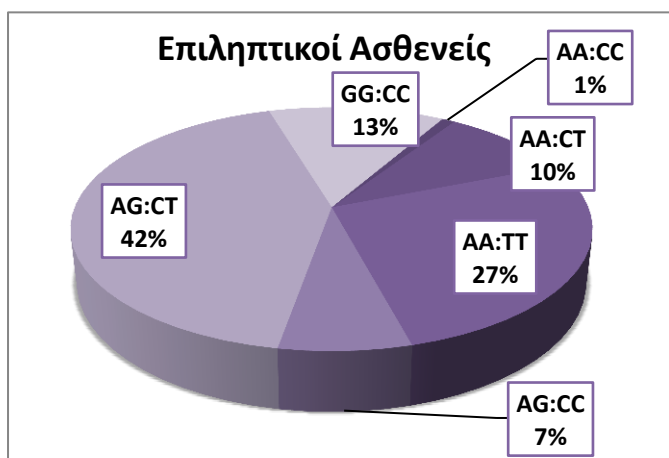
Και στις 3 περιπτώσεις, το p είναι πολύ μεγαλύτερο του επιπέδου σημαντικότητας 0,05 ($p=0,717$, $p=0,575$ και $p=0,850$ αντίστοιχα), οπότε δεν παρατηρείται κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση των γονοτύπων ή των αλληλομόρφων με την εμφάνιση γενικευμένης είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας.

3.6 Κατανομή συχνοτήτων για το συνδυασμό γονοτύπων των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό

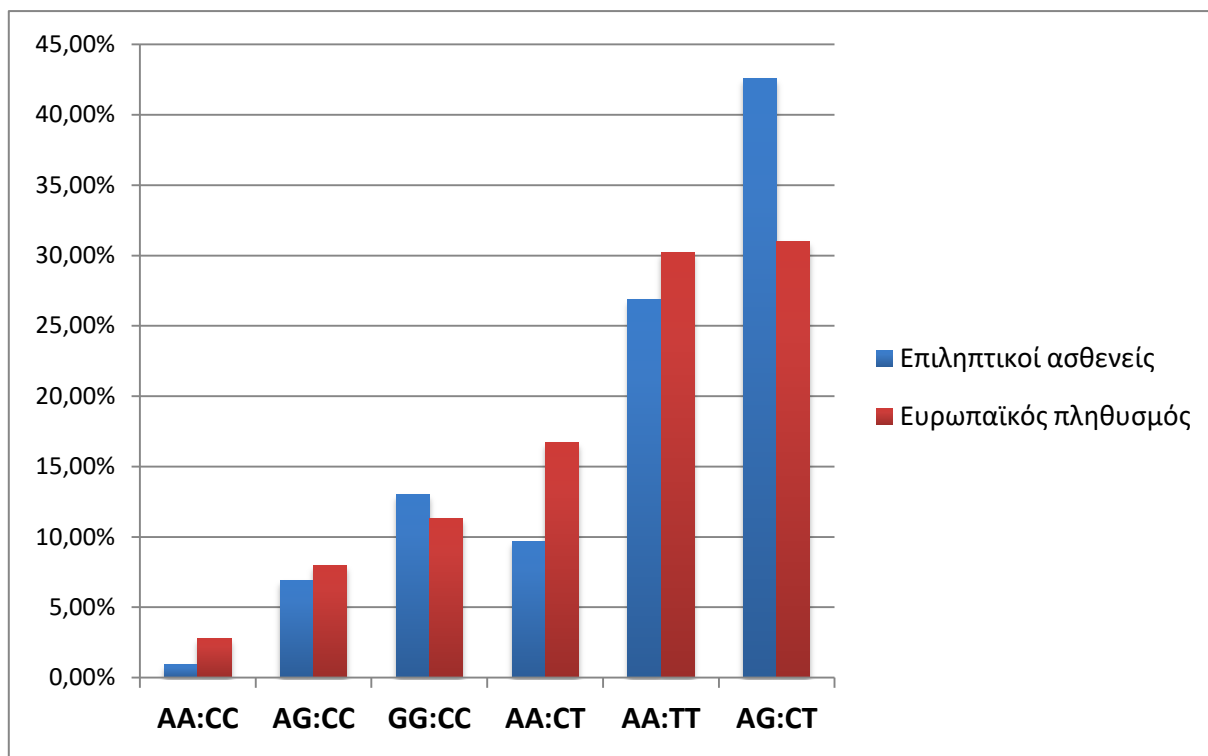
Από το συνδυασμό γονοτύπων των δύο πολυμορφισμών μπορούν να προκύψουν 9 διαφορετικοί γονοτυπικοί συνδυασμοί. Στο δείγμα της παρούσας μελέτης, παρατηρήθηκαν οι παρακάτω 6 συνδυασμοί, οι οποίοι παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.45, με τη συχνότητα εμφάνισής τους στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό. Τα δεδομένα για το γενικό πληθυσμό προέρχονται από τη διαδικτυακή βάση δεδομένων Ensembl. (Εικόνα 3.9 και 3.10)

Πίνακας 3.45: Συχνότητα εμφάνισης των συνδυασμών γονοτύπων για τους πολυμορφισμούς rs2298771 και rs3812718, στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό

Γονότυπος (rs2298771:rs3812718)	Επιληπτικοί ασθενείς		Ευρωπαϊκός πληθυσμός	
AA:CC	2	0,9%	14	2,8%
AA:CT	21	9,7%	84	16,7%
AA:TT	58	26,9%	152	30,2%
AG:CC	15	6,9%	40	8%
AG:CT	92	42,6%	156	31%
GG:CC	28	13%	57	11,3%
σύνολο	216	100%	503	100%



Εικόνα 3.9: Κατανομή συνδυασμού γονοτύπων των πολυμορφισμών rs2298771:rs3812718 σε επιληπτικούς ασθενείς (αριστερά) και σε γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό (δεξιά)



Εικόνα 3.10: Διάγραμμα κατανομής συνδυασμού γονοτύπων των πολυμορφισμών rs2298771:rs3812718 κατά αύξουσα σειρά στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό

Φαίνεται ότι ο συνδυασμός γονοτύπων που επικρατεί είναι ο AG:CT τόσο στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών όσο και στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό. Βέβαια, έχει υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης στους ασθενείς με επιληψία σε σχέση με τους μάρτυρες. Ακολουθεί ο συνδυασμός AA:TT, ο οποίος παρουσιάζει ίδια περίπου συχνότητα εμφάνισης σε επιληπτικούς ασθενείς και μάρτυρες. Έπειτα ακολουθεί ο συνδυασμός AA:CT, ο οποίος εμφανίζεται συχνότερα στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό παρά στους επιληπτικούς ασθενείς. Τέλος, οι συνδυασμοί GG:CC, AG:CC, AA:CC έχουν τη χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης ενώ εντοπίζονται περίπου στον ίδιο βαθμό και στις δύο ομάδες.

3.7 Συσχέτιση συνδυασμού γονοτύπων των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 με την εμφάνιση επιληψίας

Μετά την κατανομή συχνοτήτων για το συνδυασμό των γονοτύπων των δύο πολυμορφισμών, ακολούθησε η διερεύνηση της συσχέτισής τους με την εμφάνιση επιληψίας. Ο κάθε πιθανός συνδυασμός γονοτύπων (rs2298771:rs3812718) συγκρίθηκε με όλους τους υπόλοιπους συνδυασμούς στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών σε σχέση με το γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό. Τα αποτελέσματα του στατιστικού ελέγχου χ^2 παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.46.

Πίνακας 3.46: Έλεγχος συσχέτισης των διάφορων πιθανών συνδυασμών γονοτύπων των πολυμορφισμών rs2298771:rs3812718 με την εμφάνιση επιληψίας

Γονότυπος (rs2298771:rs3812718)	Επιληπτικοί ασθενείς		Ευρωπαϊκός πληθυσμός		Odds Ratio (OR)	95% Confidence Interval (CI)	p
AA:CT	21	9,7%	84	16,7%	0,537	0,323 - 0,892	0,015
υπόλοιποι συνδυασμοί	195	90,3%	419	83,3%			
σύνολο	216	100%	503	100%			
AA:TT	58	26,9%	152	30,2%	0,848	0,594 - 1,210	0,363
υπόλοιποι συνδυασμοί	158	73,1%	351	69,8%			
σύνολο	216	100%	503	100%			
AG:CC	15	6,9%	40	8,0%	0,864	0,467 - 1,599	0,641
υπόλοιποι συνδυασμοί	201	93,1%	463	92,0%			
σύνολο	216	100%	503	100%			
AG:CT	92	42,6%	156	31,0%	1,650	1,187 - 2,294	0,003
υπόλοιποι συνδυασμοί	124	57,4%	347	69,0%			
σύνολο	216	100%	503	100%			
GG:CC	28	13,0%	57	11,3%	1,165	0,719 - 1,890	0,535
υπόλοιποι συνδυασμοί	188	87,0%	446	88,7%			
σύνολο	216	100%	503	100%			

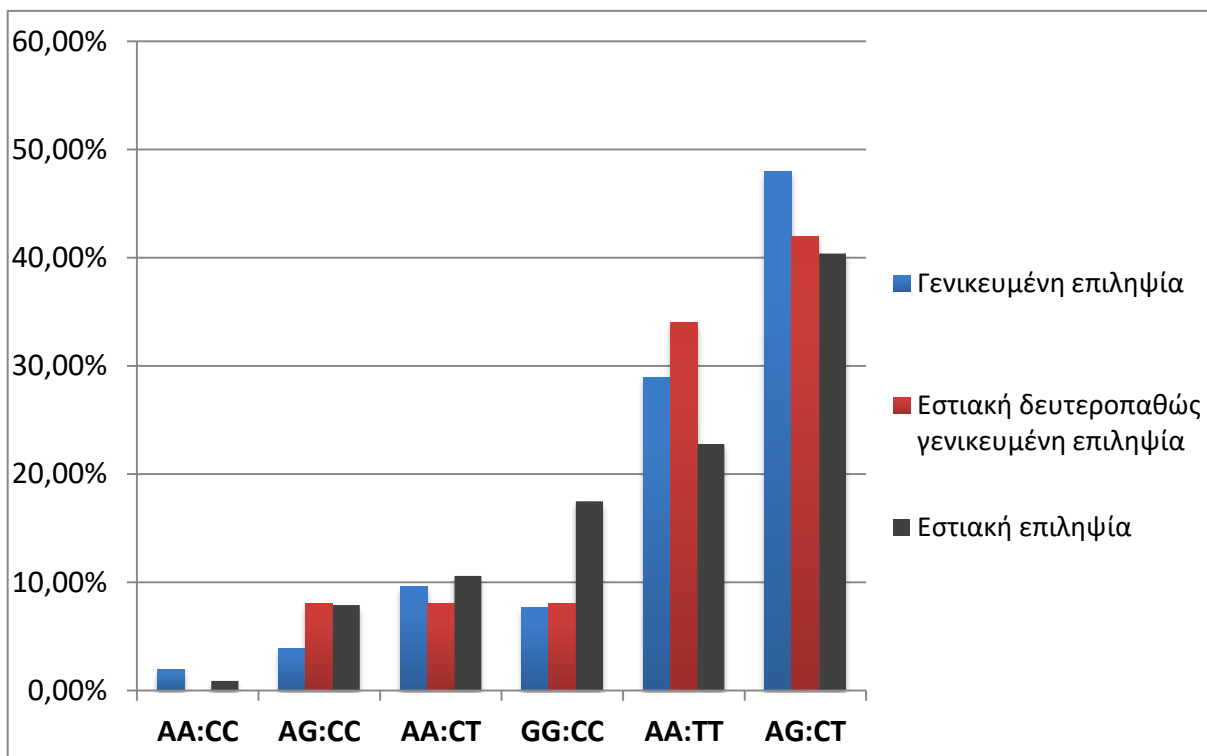
Από τους συνδυασμούς γονοτύπων των δύο πολυμορφισμών (rs2298771:rs3812718) που εξετάστηκαν, φαίνεται ότι κάποιος διαφέρει σε στατιστικά σημαντικό επίπεδο από τους υπόλοιπους. Συγκεκριμένα, ο συνδυασμός AG:CT εμφανίζεται κατά 1,6 φορές συχνότερα από τους υπόλοιπους πιθανούς συνδυασμούς γονοτύπων στους ασθενείς με επιληψία σε σχέση με το γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό ($p=0,003$, $OR=1,65$). Ακόμη, βρέθηκε ότι η πιθανότητα εμφάνισης του συνδυασμού AA:CT σε σχέση με τους υπόλοιπους συνδυασμούς γονοτύπων είναι η μισή στους επιληπτικούς ασθενείς σε σχέση με το γενικό πληθυσμό ($p=0,015$, $OR=0,537$). Με άλλα λόγια, ο συνδυασμός AA:CT εμφανίζεται κατά 1,86 φορές συχνότερα από τους υπόλοιπους συνδυασμούς στο γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό σε σχέση με τους επιληπτικούς ασθενείς ($OR=0,537$, $1/OR=1,86$). Από τους υπόλοιπους συνδυασμούς γονοτύπων δεν ξεχώρισε κάποιος με στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα.

3.8 Κατανομή συχνοτήτων για το συνδυασμό γονοτύπων των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 στους διάφορους επιληπτικούς φαινοτύπους

Από το συνδυασμό γονοτύπων των δύο πολυμορφισμών μπορούν να προκύψουν 9 διαφορετικοί γονοτυπικοί συνδυασμοί. Στο δείγμα της παρούσας μελέτης, παρατηρήθηκαν οι παρακάτω 6 συνδυασμοί, οι οποίοι παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.47 με τη συχνότητα εμφάνισής τους στην αντίστοιχη κατηγορία επιληψίας που παρατηρούνται. (Εικόνα 3.11)

Πίνακας 3.47: Συχνότητα εμφάνισης των συνδυασμών γονοτύπων για τους πολυμορφισμούς rs2298771 και rs3812718 στους διάφορους επιληπτικούς φαινοτύπους

Γονότυπος (rs2298771:rs3812718)	Γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη Επιληψία		Εστιακή Επιληψία	
AA:CC	1	1,9%	0	0%	1	0,9%
AA:CT	5	9,6%	4	8%	12	10,6%
AA:TT	15	28,9%	17	34%	26	22,8%
AG:CC	2	3,9%	4	8%	9	7,9%
AG:CT	25	48%	21	42%	46	40,4%
GG:CC	4	7,7%	4	8%	20	17,5%
σύνολο	52	100%	50	100%	114	100%



Εικόνα 3.11: Διάγραμμα κατανομής συνδυασμού γονοτύπων των πολυμορφισμών rs2298771:rs3812718 για τους διαφορετικούς επιληπτικούς φαινοτύπους

Φαίνεται ότι ο συνδυασμός γονοτύπων AG:CT επικρατεί και στα 3 είδη επιληψίας, ενώ εμφανίζεται συχνότερα σε ασθενείς με γενικευμένη επιληψία. Ακολουθεί ο συνδυασμός AA:TT ο οποίος εμφανίζεται συχνότερα σε ασθενείς με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία και ασθενείς με γενικευμένη επιληψία. Έπειτα, ο συνδυασμός GG:CC παρουσιάζεται με υψηλότερη συχνότητα σε ασθενείς με εστιακή επιληψία, ενώ η συχνότητα εμφάνισής του είναι αρκετά χαμηλότερη σε ασθενείς με γενικευμένη και εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία. Οι υπόλοιποι συνδυασμοί που ακολουθούν (AA:CT, AG:CC, AA:CC) έχουν αρκετά χαμηλή συχνότητα εμφάνισης, η οποία δε διαφέρει ιδιαίτερα ανάμεσα στους διάφορους επιληπτικούς φαινοτύπους.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η επιληψία είναι μια από τις πιο κοινές χρόνιες νευρολογικές διαταραχές, αφού επηρεάζει το 1 με 2% του παγκόσμιου πληθυσμού, και χαρακτηρίζεται από επαναλαμβανόμενες, απρόβλεπτες, μη φυσιολογικές και μαζικές εκφορτίσεις εγκεφαλικών νευρώνων που διακόπτουν τη φυσιολογική λειτουργία του εγκεφάλου.^{4,17}

Πληθώρα γονιδίων έχει συσχετισθεί με την εμφάνιση επιληψίας και ιδιαίτερα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες-στόχους των αντιεπιληπτικών φαρμάκων. Ένα γονίδιο άρρηκτα συνδεδεμένο με την επιληψία είναι το *SCN1A*, το οποίο κωδικοποιεί την α-υπομονάδα μιας συγκεκριμένης ισομορφής τασεοευαίσθητων καναλιών νατρίου (Nav1.1). Τα κανάλια αυτά είναι απαραίτητα για τη δημιουργία και διάδοση των δυναμικών δράσης και κατ' επέκταση για τη διεγερσιμότητα των νευρώνων.⁷⁵

Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκαν οι πολυμορφισμοί rs2298771 και rs3812718 του γονιδίου *SCN1A* ως προς την εμφάνιση επιληψίας ενώ έγινε και σύγκριση της παρουσίας τους μεταξύ διαφορετικών επιληπτικών φαινοτύπων.

- Ο **πολυμορφισμός rs2298771** περιγράφει την αντικατάσταση μιας αδερίνης (A) από μία γουανίνη (G) σε περιοχή εξωνίου. Προκαλεί μια παρανοηματική μετάλλαξη και έχει ως αποτέλεσμα την αντικατάσταση του αμινοξέος θρεονίνη από το αμινοξύ αλανίνη στο κανάλι νατρίου που παράγεται.⁹⁹
- Ο **πολυμορφισμός rs3812718** περιγράφει την αντικατάσταση μιας κυτοσίνης (C) από μία θυμίνη (T), η οποία δημιουργεί μία εναλλακτική θέση ματίσματος επηρεάζοντας την έκφραση δύο διαφορετικών εξωνίων του *SCN1A*.⁸⁷

4.1 Συσχέτιση των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 με την εμφάνιση επιληψίας

Αρχικά διερευνήθηκε η επίδραση των δύο πολυμορφισμών στην εμφάνιση της ασθένειας. Για το λόγο αυτό έγινε σύγκριση του συνόλου των επιληπτικών ασθενών (γενικευμένη, εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη και εστιακή επιληψία) με το γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό.

Για τον πολυμορφισμό rs2298771, βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση του πολυμορφικού G αλληλομόρφου αλλά και του ομόζυγου πολυμορφικού (GG) και του ετερόζυγου (AG) γονοτύπου με την εκδήλωση της νόσου. Συγκεκριμένα, οι γονότυποι GG+AG φαίνεται να εμφανίζονται 1,65 φορές συχνότερα από τον AA στους ασθενείς με επιληψία σε σχέση με το γενικό πληθυσμό (OR=1,65, 95%CI=1,19-2,28, p=0,003), με το αλληλόμορφο G να εμφανίζεται 1,36 φορές συχνότερα από το

A (OR=1,36, 95%CI=1,07-1,72, p=0,01). Οπότε, καταλήγουμε στο ότι η παρουσία του πολυμορφικού αλληλομόρφου G συνδέεται με την επιληψία.

Με το εύρημα αυτό συμφωνούν μελέτες και άλλων ερευνητικών ομάδων, όπως οι Lakhan et al. και Ebrahimi et al., οι οποίες έγιναν σε ινδικό και ιρανικό πληθυσμό αντίστοιχα. Ειδικότερα υποστηρίζουν ότι ο ετερόζυγος γονότυπος AG είναι υψηλότερος στους επιληπτικούς ασθενείς σε σχέση με τους μάρτυρες.^{100,101}

Από την άλλη πλευρά, μελέτες σε σλοβένικο και ινδικό πληθυσμό έρχονται σε αντίθεση με το παραπάνω εύρημα, καθώς υποστηρίζουν ότι το πολυμορφικό αλληλόμορφο G σχετίζεται με χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης επιληψίας και έχει μάλιστα προστατευτική δράση. Ακόμη, μια μελέτη σε πληθυσμό από την Ταϊβάν, υποστηρίζει ότι δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού αυτού και της επιληψίας.¹⁰²⁻¹⁰⁴

Επομένως, φαίνεται ότι υπάρχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα στη βιβλιογραφία για την επίδραση του πολυμορφισμού rs2298771 στην εμφάνιση επιληψίας. Αυτό βέβαια μπορεί να οφείλεται στη γενετική ετερογένεια των διάφορων εθνοτικών ομάδων και στις διαφορετικές υποδομές των πληθυσμών. Δε βρέθηκε κάποια έρευνα σε πληθυσμό νοτιοανατολικών Καυκάσιων για τον πολυμορφισμό αυτό έτσι ώστε να γίνει σύγκριση με την παρούσα μελέτη. Για την ακρίβεια, η μελέτη αυτή είναι η πρώτη μελέτη που γίνεται για τον πολυμορφισμό rs2298771 σε ελληνικό πληθυσμό. Βέβαια, για την εδραίωση του αποτελέσματος αυτής της εργασίας απαιτείται μεγαλύτερος αριθμός ασθενών, με σκοπό να επικυρώσει και να ισχυροποιήσει τα εξαγόμενα συμπεράσματα.

Πρέπει να σημειωθεί ότι η υψηλή συσχέτιση του πολυμορφισμού αυτού με την εμφάνιση επιληψίας που παρατηρήθηκε στο δείγμα μας, συμφωνεί με δεδομένα που υπάρχουν στη βιβλιογραφία για τη δράση του πολυμορφισμού σε μοριακό επίπεδο. Ο πολυμορφισμός αυτός προκαλεί μια παρανοηματική μετάλλαξη που έχει ως αποτέλεσμα την αντικατάσταση του αμινοξέος θρεονίνη από το αμινοξύ αλανίνη στην Nav1.1 ισομορφή του τασεοευαίσθητου καναλιού νατρίου που παράγεται. Η αμινοξική αυτή αλλαγή συμβαίνει σε υψηλώς συντηρημένη περιοχή του καναλιού και είναι πολύ πιθανό να επηρεάζει τη λειτουργία της πύλης απενεργοποίησής του, η οποία ρυθμίζει τη μεταφορά ιόντων νατρίου από και προς το κυτταρόπλασμα. Η ανισορροπία αυτή στη συγκέντρωση ιόντων νατρίου επηρεάζει τη διεγερσιμότητα του νευρωνικού δικτύου και μπορεί να συμβάλλει στην εμφάνιση επιληψίας.¹⁰⁰

Για τον πολυμορφισμό rs3812718 δε βρέθηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την εμφάνιση της νόσου. Η παρατήρηση αυτή έρχεται σε αντίθεση με μελέτες που έχουν γίνει σε πληθυσμούς Αυστριακών, Ινδών και Κινέζων, οι οποίες υποστηρίζουν ότι το πολυμορφικό αλληλόμορφο T αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση επιληψίας.⁹⁰⁻⁹²

Επιπρόσθετα, μια προσπάθεια μετα-ανάλυσης από τον Tang και τους συνεργάτες του, η οποία περιλαμβάνει δεδομένα από 6 διαφορετικές μελέτες με πληθυσμούς ινδικής, κινέζικης, αυστριακής, ελβετικής και αυστραλιακής καταγωγής, καταλήγει στο ίδιο συμπέρασμα. Παράλληλα, μια πιο πρόσφατη και εμπλουτισμένη προσπάθεια μετα-ανάλυσης από τον Zhi και τους συνεργάτες του, η οποία προσθέτει στα δεδομένα που χρησιμοποίησε ο Tang και δεδομένα από μαλαισιανό και ελληνικό πληθυσμό, βρίσκει και αυτή υψηλή συσχέτιση του πολυμορφισμού με την εμφάνιση της νόσου.^{93,94}

Σε αντίθεση με όλα τα παραπάνω, μια μελέτη σε ελληνικό υποπληθυσμό της Θράκης δε βρίσκει στατιστικά σημαντική διαφορά στις αλληλικές και γονοτυπικές συχνότητες του πολυμορφισμού μεταξύ επιληπτικών ασθενών και μαρτύρων. Το γεγονός ότι η μόνη μελέτη που δε βρίσκει στατιστικά σημαντική συσχέτιση του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση επιληψίας είναι ελληνική, είναι πολύ σημαντικό. Απ'ότι φαίνεται, ο ελληνικός πληθυσμός διαφοροποιείται από τους υπόλοιπους πληθυσμούς που έχουν εξεταστεί για τον πολυμορφισμό αυτό, κυρίως ευρωπαϊκής και ασιατικής καταγωγής, στους οποίους βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού και της επιληψίας.⁹⁵

4.2 Συσχέτιση των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 με την εμφάνιση διαφορετικών επιληπτικών φαινοτύπων

Στη συνέχεια, διερευνήθηκε η συσχέτιση των επιμέρους επιληπτικών φαινοτύπων με την εμφάνιση επιληψίας. Συγκεκριμένα, έγινε σύγκριση των ασθενών με γενικευμένη επιληψία αλλά και των ασθενών με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία με το γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό.

Για τον πολυμορφισμό rs2298771, δε βρέθηκε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά, τόσο στους ασθενείς με γενικευμένη όσο και με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία. Η μόνη παρόμοια μελέτη που βρέθηκε στη βιβλιογραφία αφορά τη σύγκριση ασθενών με ιδιοπαθή γενικευμένη επιληψία αγγλικής καταγωγής με γενικό πληθυσμό, και καταλήγει στο ότι η απουσία του πολυμορφισμού σχετίζεται με προδιάθεση για την εμφάνιση γενικευμένων κρίσεων.¹¹⁶ Εκτός αυτού, στατιστικά σημαντική διαφορά δε βρέθηκε ούτε για τον πολυμορφισμό rs3812718 ανάμεσα στους παραπάνω πληθυσμούς.

Ωστόσο, καθώς το δείγμα των ασθενών ήταν αρκετά μικρότερο από το δείγμα του γενικού πληθυσμού, 52 ασθενείς με γενικευμένη και 50 με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία έναντι 503 μαρτύρων, παρατηρήθηκε ότι ακόμα και μια μικρή διαφορά στο δείγμα των ασθενών, σε κάποιες περιπτώσεις της τάξης των 2-5 παραπάνω ασθενών, θα μπορούσε να οδηγήσει σε στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα. Οπότε η αύξηση του αριθμού του δείγματος καθίσταται απαραίτητη για να οδηγηθούμε σε ασφαλή συμπεράσματα για τις παραπάνω συγκρίσεις.

4.3 Σύγκριση εμφάνισης των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 μεταξύ διαφορετικών επιληπτικών φαινοτύπων

Εκτός όμως από την επίδραση των δύο πολυμορφισμών (rs3812718 και rs2298771) στην εμφάνιση επιληψίας, στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε και η διαφοροποίησή τους μεταξύ διαφορετικών επιληπτικών φαινοτύπων, με σκοπό την εύρεση ενός πιθανού δείκτη διαφοροδιάγνωσης.

Συγκεκριμένα, έγιναν συγκρίσεις μεταξύ τριών επιμέρους ομάδων:

- ασθενείς με γενικευμένη επιληψία με ασθενείς με εστιακή επιληψία
- ασθενείς με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία με ασθενείς με εστιακή επιληψία
- ασθενείς με γενικευμένη επιληψία με ασθενείς με εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία

Για τον πολυμορφισμό rs2298771, παρατηρήθηκε μια τάση επικράτησης των γονοτύπων AA+AG έναντι του GG κατά 2,5 φορές στη γενικευμένη έναντι της εστιακής επιληψίας (OR=2,56, 95%CI=0,83-7,87, $p=0,094$). Καθώς το μέγεθος δείγματος δεν είναι μεγάλο, η τάση αυτή μπορεί να μετατραπεί σε στατιστικά σημαντική διαφορά με προσθήκη επιπλέον ασθενών στη μελέτη.

Για τον πολυμορφισμό rs3812718, παρατηρήθηκε μια τάση διαφοροποίησης της γενικευμένης επιληψίας αλλά και της εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας από την εστιακή επιληψία. Αρχικά, βρέθηκε μια τάση επικράτησης των γονοτύπων TT+CT έναντι του CC κατά 2,3 φορές στη γενικευμένη επιληψία σε σχέση με την εστιακή επιληψία (OR=2,3, 95%CI=0,93-5,65, $p=0,065$). Παρατηρήθηκε επίσης μια τάση επικράτησης του αλληλομόρφου T έναντι του C κατά 1,5 φορά στην εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία σε σχέση με την εστιακή επιληψία (OR=1,54, 95%CI=0,96-2,48, $p=0,073$).

Σε αντίστοιχα αποτελέσματα καταλήγει η ερευνητική ομάδα της Αγγελοπούλου και των συνεργατών της, σε μια μελέτη σε ελληνικό υποπληθυσμό της Θράκης. Στην παραπάνω μελέτη γίνεται μια προσπάθεια σύγκρισης της εμφάνισης του πολυμορφισμού σε ασθενείς με γενικευμένη και εστιακή επιληψία. Τα αποτελέσματα της σύγκρισης είναι πανομοιότυπα με της παρούσας μελέτης καθώς αρχικά δεν εντοπίζουν κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των συχνοτήτων των αλληλομόρφων μεταξύ των δύο επιληπτικών φαινοτύπων, ενώ παρατηρούν μια τάση επικράτησης των γονοτύπων TT και CT στους ασθενείς με γενικευμένη επιληψία έναντι της εστιακής επιληψίας ($p=0,055$).⁹⁵

Δε βρέθηκαν άλλα διαθέσιμα δεδομένα για την επίδραση του πολυμορφισμού σε διαφορετικές κατηγορίες επιληψίας στη βιβλιογραφία ώστε να γίνει σύγκριση του αποτελέσματος αυτής της μελέτης. Βέβαια, η συμφωνία αποτελεσμάτων με την ερευνητική ομάδα της Αγγελοπούλου είναι πολύ σημαντική καθώς ισχυροποιεί την αξία των εξαγόμενων συμπερασμάτων για τον ελληνικό πληθυσμό. Με αύξηση του

αριθμού του δείγματος μπορεί να οδηγηθούμε σε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα και εύρεση ενός πιθανού δείκτη διαφοροδιάγνωσης μεταξύ των διάφορων επιληπτικών φαινοτύπων.

4.4 Συσχέτιση συνδυασμού γονοτύπων των πολυμορφισμών rs2298771 και rs3812718 με την εμφάνιση επιληψίας

Τέλος, διερευνήθηκε η συσχέτιση των διάφορων πιθανών συνδυασμών γονοτύπων των δύο πολυμορφισμών με την εμφάνιση επιληψίας. Οι πιθανοί γονοτυπικοί συνδυασμοί που προέκυψαν από τους δύο πολυμορφισμούς στο σύνολο των επιληπτικών ασθενών (γενικευμένη επιληψία, εστιακή δευτεροπαθώς γενικευμένη επιληψία και εστιακή επιληψία) συγκρίθηκαν με το γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό.

Ο συνδυασμός γονοτύπων AG/CT των rs2298771/rs3812718 βρέθηκε ότι εμφανίζεται 1,65 φορές συχνότερα σε σχέση με τους υπόλοιπους πιθανούς συνδυασμούς στο συνολικό δείγμα ασθενών με επιληψία σε σχέση με το γενικό πληθυσμό ($OR=1,65$, $95\%CI=1,19-2,29$, $p=0,003$). Ακόμη, βρέθηκε ότι η πιθανότητα εμφάνισης του συνδυασμού AA/CT σε σχέση με τους υπόλοιπους συνδυασμούς γονοτύπων είναι η μισή στους επιληπτικούς ασθενείς απ'ότι στο γενικό πληθυσμό ($OR=0,537$, $95\%CI=0,323-0,892$, $p=0,015$). Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνουν το αρχικό εύρημα της μελέτης αυτής για υψηλή συσχέτιση του αλληλομόρφου G του rs2298771 με την εμφάνιση επιληψίας. Τέλος, πρέπει να σημειωθεί ότι η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που εξετάζει και τους δύο πολυμορφισμούς ταυτόχρονα στην πάγκοσμη βιβλιογραφία.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Αρχικά, φαίνεται να υπάρχει υψηλή συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφικού G αλληλομόρφου του rs2298771 και της εμφάνισης επιληψίας στο δείγμα μας, κάτι που αποδείχθηκε με την εύρεση στατιστικά σημαντικού αποτελέσματος κατά τη σύγκριση του συνόλου των επιληπτικών ασθενών με το γενικό ευρωπαϊκό πληθυσμό.

Παράλληλα, το πολυμορφικό αλληλόμορφο T του rs3812718 φαίνεται να σχετίζεται με την εμπλοκή δικτύων που υπόκεινται της γενίκευσης της επιληπτικής δραστηριότητας, είτε πρωτοπαθώς είτε δευτεροπαθώς. Επομένως, διαφαίνεται ένας προστατευτικός ρόλος του αλληλομόρφου C ως προς τον κίνδυνο γενίκευσης της επιληψίας.

Τέλος, η διπλή ετεροζυγωτία και στους δύο πολυμορφισμούς rs2298771/rs3812718 (AG/CT) φαίνεται ότι παρουσιάζει υψηλή συσχέτιση με την εμφάνιση της νόσου, ενώ η ομόζυγη φυσιολογική κατάσταση ως προς τον rs2298771 με ταυτόχρονη ετεροζυγωτία ως προς τον rs3812718 (AA/CT), φαίνεται ότι μειώνει την πιθανότητα εμφάνισης επιληψίας κατά το ήμισυ. Οπότε και αυτό το εύρημα οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η παρουσία του αλληλομόρφου G του rs2298771 είναι καθοριστική για την εμφάνιση επιληψίας.

Περιορισμοί μελέτης και Μελλοντικοί στόχοι

Αρχικά, το μικρό μέγεθος του δείγματος του υπό μελέτη πληθυσμού θα μπορούσε να οδηγήσει σε ψευδώς θετικά είτε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα, οπότε η ανάλυση μεγαλύτερου αριθμού ασθενών καθίσταται απαραίτητη. Μάλιστα στην περίπτωση της σύγκρισης των διαφορετικών επιληπτικών φαινοτύπων, η αύξηση του αριθμού του δείγματος μπορεί να οδηγήσει σε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα και εύρεση ενός πιθανού δείκτη διαφοροδιάγνωσης μεταξύ εστιακής και γενικευμένης είτε εστιακής δευτεροπαθώς γενικευμένης επιληψίας.

Επιπλέον, εξετάστηκαν μόνο δύο πολυμορφισμοί του γονιδίου *SCN1A* στον υπό μελέτη πληθυσμό, χωρίς να εκτιμηθεί η παρουσία άλλων πολυμορφισμών στο ίδιο γονίδιο ή σε άλλα γειτονικά γονίδια που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την πιθανότητα εμφάνισης επιληψίας. Αλληλεπίδραση του πολυμορφισμού αυτού με διάφορους γενετικούς τόπους εντός του *SCN1A* γονιδίου και άλλων γονιδίων (είτε των γειτονικών *SCN2A*, *SCN3A* γονιδίων είτε των πιο μακρινών *SCN1B*, *SCN7A*, *SCN8A*, *SCN9A* γονιδίων) θα πρέπει να ληφθεί υπόψη.

Τέλος, πρέπει να σημειωθεί ότι το κληρονομούμενο στοιχείο της προδιάθεσης για εμφάνιση επιληψίας είναι πολυγονιδιακό, ενώ και οι περιβαλλοντικοί παράγοντες δε μπορούν να αγνοηθούν.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Magiorkinis, E., Sidiropoulou, K. & Diamantis, A. Hallmarks in the history of epilepsy: Epilepsy in antiquity. *Epilepsy Behav.* **17**, 103–108 (2010).
2. Ali, R., Connolly, I. D., Feroze, A. H., Awad, A. J., Choudhri, O. A. & Grant, G. A. Epilepsy: A Disruptive Force in History. *World Neurosurgery* **90**, 685–690 (2016).
3. Panteliadis, C. P., Vassilyadi, P., Fehlert, J. & Hagel, C. Historical documents on epilepsy: From antiquity through the 20th century. *Brain and Development* **39**, 457–463 (2017).
4. Fisher, R. S., Boas, W. van E., Blume, W., Elger, C., Pierre, G., Warren, B., Christian, E., Genton, P., Phillip, L. & Jerome, E. Epileptic Seizures and Epilepsy: Definitions Proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia* **46**, 470–472 (2005).
5. Falco-Walter, J. J., Scheffer, I. E. & Fisher, R. S. The new definition and classification of seizures and epilepsy. *Epilepsy Res* **139**, 73–79 (2018).
6. Fisher, R. S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., *et al.* A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia* **55**, 475–482 (2014).
7. Gastaut, H., Caveness, W. F., Lorentz, A. M., Merlis, H. J. K. & Radermecker, J. A proposed international classification of epileptic seizures. *Epilepsia* **5**, 297–306 (1964).
8. ILAE. Proposal for Revised Clinical and Electroencephalographic Classification of Epileptic Seizures. *Epilepsia* **22**, 489–501 (1981).
9. ILAE. Proposal for Classification of Epilepsies and Epileptic Syndromes. *Epilepsia* **26**, 268–278 (1985).
10. ILAE. Proposal for Revised Classification of Epilepsies and Epileptic Syndromes. *Epilepsia* **30**, 389–399 (1989).
11. Harvey, R. & Champe, P. *Φαρμακολογία*. (Εκδόσεις Παρισιανού, 3η Έκδοση, Αθήνα, 2007).
12. Browne, T. & Holmes, G. *Εγχειρίδιο Επιληψίας*. (Ιατρικές Εκδόσεις Βαγιονάκη, 4η Έκδοση, Αθήνα, 2015).
13. Holmes, G. Generalized Seizures. in *Swaيمان's Pediatric Neurology: Principles and Practice* 524–530 (Elsevier Inc., 6th Edition, Edinburgh, 2017).
14. Τσαπαρίδου, Ρέμπας, Γεωργιάδου, Ντιούδη, Σαφράνογλου & Ιντεμπαζάκη. Επιληπτική Κρίση. *Θέματα Αναισθησιολογίας και Εντατικής Ιατρικής* **24**, 201–205 (2014).

15. <https://superstarfloraluk.com/5784346-Generalized-Seizure.html>. (τελευταία επίσκεψη: 20.06.2019)
16. <http://www.medicocity.net/complex-partial-seizures>). (τελευταία επίσκεψη: 20.06.2019)
17. Ngugi, A. K., Bottomley, C., Kleinschmidt, I., Sander, J. W. & Newton, C. R. Estimation of the burden of active and life-time epilepsy: A meta-analytic approach. *Epilepsia* **51**, 883–890 (2010).
18. Behr, C., Goltzene, M. A., Kosmalski, G., Hirsch, E. & Ryvlin, P. Epidemiology of epilepsy. *Rev. Neurol. (Paris)*. **172**, 27–36 (2015).
19. Espinosa-Jovel, C., Toledano, R. & Aledo-serrano, Á. Epidemiological profile of epilepsy in low income populations. *Seizure* **56**, 67–72 (2018).
20. Singh, A. The Epidemiology of Global Epilepsy. **34**, 837–847 (2016).
21. Mbuba, C. K., Ngugi, A. K., Newton, C. R. & Carter, J. A. The epilepsy treatment gap in developing countries: a systematic review of the magnitude, causes and intervention strategies. *Epilepsia* **49**, 1491–1503 (2008).
22. Scheffer, I., Berkovic, S., Capovilla, G., *et al.* ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia* **58**, 512–521 (2017).
23. Lapalme-remis, S. & Cascino, G. D. Imaging for Adults With Seizures and Epilepsy. *Contin.* **22** 1451–1479 (2016).
24. Γκατζώνης, Σ. & Πατρικέλης, Π. *Η νευροψυχολογία της επιληψίας*. (Βήτα Ιατρικές Εκδόσεις, Αθήνα, 2017).
25. Vezzani, A., Fujinami, R. S., White, H. S., Preux, P.-M., Blümcke, I., Sander, J. W. & Löscher, W. Infections, inflammation and epilepsy. *Acta Neuropathol.* **131**, 211–234 (2016).
26. Hildebrand, M. S., Dahl, H.-H. M., Damiano, J. A., Smith, R. J. H., Scheffer, I. E. & Berkovic, S. F. Recent advances in the molecular genetics of epilepsy. *J. Med. Genet.* **50**, 271 LP – 279 (2013).
27. Parikh, S., Nordi Jr., D.R., De Vivo, D. C. Epilepsy in the setting of inherited metabolic and mitochondrial disorders. in *Wyllie's Treatment of Epilepsy - Principles and Practice* 388–407 (Lippincott Williams & Wilkins, 6th Edition, Philadelphia, 2015).
28. Toledano, M. & Pittock, S. J. Autoimmune Epilepsy. *Semin Neurol* **35**, 245–258 (2015).
29. Dudek, F. E. & Staley, K. J. The Time Course and Circuit Mechanisms of Acquired Epileptogenesis. in *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies* (Oxford University Press, 4th Edition, US, 2012).

30. Di Maio, R. Neuronal mechanisms of epileptogenesis. *Front. Cell. Neurosci.* **8**, 1–2 (2014).
31. Lillis KP, Wang Z, Mail M, Zhao GQ, Berdichevsky Y, Bacskai B, S. K. Epileptogenesis : More Than Just the Latent Period. *J Neurosci.* **35**, 31–33 (2015).
32. Williams, P. A., White, A. M., Clark, S., Ferraro, D. J., Swiercz, W., Staley, K. J. & Dudek, F. E. Development of spontaneous recurrent seizures after kainate-induced status epilepticus. *J. Neurosci.* **29**, 2103–2112 (2009).
33. Kadam, S. D., White, A. M., Staley, K. J. & Dudek, F. E. Continuous electroencephalographic monitoring with radio-telemetry in a rat model of perinatal hypoxia-ischemia reveals progressive post-stroke epilepsy. *J. Neurosci.* **30**, 404–415 (2010).
34. Pitkanen, A., Lukasiuk, K., Dudek, F. E. & Staley, K. J. Epileptogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Med* **5**, 1–17 (2015).
35. Jirsa, V. K., Stacey, W. C., Quilichini, P. P., Ivanov, A. I. & Bernard, C. On the nature of seizure dynamics. *Brain* **137**, 2210–2230 (2014).
36. Sloviter, R. S. Permanently altered hippocampal structure, excitability, and inhibition after experimental status epilepticus in the rat: the ‘dormant basket cell’ hypothesis and its possible relevance to temporal lobe epilepsy. *Hippocampus* **1**, 41–66 (1991).
37. Zhang, W., Yamawaki, R., Wen, X., Uhl, J., Diaz, J., Prince, D. A. & Buckmaster, P. S. Surviving hilar somatostatin interneurons enlarge, sprout axons, and form new synapses with granule cells in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *J. Neurosci.* **29**, 14247–14256 (2009).
38. Buckmaster, P. S. Mossy Fiber Sprouting in the Dentate Gyrus. *Jasper’s Basic Mech. Epilepsies* 1–29 (2012).
39. Gorter, J. A., van Vliet, E. A., Aronica, E. & Lopes da Silva, F. H. Progression of spontaneous seizures after status epilepticus is associated with mossy fibre sprouting and extensive bilateral loss of hilar parvalbumin and somatostatin-immunoreactive neurons. *Eur. J. Neurosci.* **13**, 657–669 (2001).
40. Lukasiuk, K. & Becker, A. J. Molecular Biomarkers of Epileptogenesis. *Neurotherapeutics* **11**, 319–323 (2014).
41. Pitkanen, A. & Lukasiuk, K. Mechanisms of epileptogenesis and potential treatment targets. *Lancet. Neurol.* **10**, 173–186 (2011).
42. Lukasiuk, K., Dabrowski, M., Adach, A. & Pitkanen, A. Epileptogenesis-related genes revisited. *Prog. Brain Res.* **158**, 223–241 (2006).
43. McClelland, S., Brennan, G. P., Dube, C., Rajpara, S., Iyer, S., Richichi, C., Bernard, C. & Baram, T. Z. The transcription factor NRSF contributes to

- epileptogenesis by selective repression of a subset of target genes. *Elife* **3**, e01267 (2014).
44. Beaumont, T. L., Yao, B., Shah, A., Kapatos, G. & Loeb, J. A. Layer-specific CREB target gene induction in human neocortical epilepsy. *J. Neurosci.* **32**, 14389–14401 (2012).
 45. Bot, A. M., Debski, K. J. & Lukasiuk, K. Alterations in miRNA levels in the dentate gyrus in epileptic rats. *PLoS One* **8**, e76051 (2013).
 46. Kobow, K. & Blumcke, I. Epigenetic mechanisms in epilepsy. *Prog. Brain Res.* **213**, 279–316 (2014).
 47. Engel, J., Pitkänen, A., Loeb, J. A., Dudek, F. E., Bertram, E. H., Cole, A. J., Moshé, S. L., Wiebe, S., Fureman, B. E. & Frances, E. Epilepsy Biomarkers. *Epilepsia* **54**, 61–69 (2014).
 48. Clouston, T. S. Experiments to determine the precise effect of Bromide of Potassium in Epilepsy. *J. Ment. Sci.* **14**, 305–321 (1868).
 49. Kwan, P. & Brodie, M. J. Phenobarbital for the treatment of epilepsy in the 21st century: a critical review. *Epilepsia* **45**, 1141–1149 (2004).
 50. Merritt, H. H. & Putnam, T. J. Sodium diphenyl hydantoinate in the treatment of convulsive disorders. *JAMA* **251**, 1062–1067 (1984).
 51. Brodie, M. J. Antiepileptic drug therapy the story so far. *Seizure Eur. J. Epilepsy* **19**, 650–655 (2010).
 52. Meunier, H., Carraz, G., Neunier, Y., Eymard, P. & Aimard, M. Pharmacodynamic properties of N-dipropylacetic acid. *Therapie* **18**, 435–438 (1963).
 53. Browne, T. R. & Penry, J. K. Benzodiazepines in the treatment of epilepsy. A review. *Epilepsia* **14**, 277–310 (1973).
 54. Schmidt, D. & Lo, W. Modern antiepileptic drug development has failed to deliver : Ways out of the current dilemma. *Epilepsia* **52**, 657–678 (2011).
 55. Smith, M., Wilcox, K. S. & White, H. S. Discovery of antiepileptic drugs. *Neurotherapeutics* **4**, 12–17 (2007).
 56. Jarogniew, J. Third-generation antiepileptic drugs : mechanisms of action, pharmacokinetics and interactions. *Pharmacol. Reports* **61**, 197–216 (2009).
 57. Potschka, H. Pharmacological treatment strategies: Mechanisms of antiepileptic drugs. *Epileptology* **1**, 31–37 (2013).
 58. Simeone, T. & Rho, J. Antiepileptic Drugs: Antiepileptic Drug Mechanisms. in *Encyclopedia of Basic Epilepsy Research* 59–66 (Academic Press, 1st Edition, USA, 2009).

59. Beyreuther, B. K., Freitag, J., Heers, C., Krebsfänger, N., Scharfenecker, U. & Stöhr, T. Lacosamide: A review of preclinical properties. *CNS Drug Rev.* **13**, 21–42 (2007).
60. Marais, E., Klugbauer, N. & Hofmann, F. Calcium channel alpha(2)delta subunits-structure and Gabapentin binding. *Mol. Pharmacol.* **59**, 1243–1248 (2001).
61. Perez-Reyes, E. Molecular physiology of low-voltage-activated t-type calcium channels. *Physiol. Rev.* **83**, 117–161 (2003).
62. Rogawski, M. A. & Bazil, C. W. New molecular targets for antiepileptic drugs: alpha(2)delta, SV2A, and K(v)7/KCNQ/M potassium channels. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* **8**, 345–352 (2008).
63. Lynch, B. A., Lambeng, N., Nocka, K., Kensel-Hammes, P., Bajjalieh, S. M., Matagne, A. & Fuks, B. The synaptic vesicle protein SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101**, 9861–9866 (2004).
64. Gunthorpe, M. J., Large, C. H. & Sankar, R. The mechanism of action of retigabine (ezogabine), a first-in-class K⁺ channel opener for the treatment of epilepsy. *Epilepsia* **53**, 412–424 (2012).
65. Poolos, N. P. Hyperpolarization-Activated Cyclic Nucleotide-Gated (HCN) Ion Channelopathy in Epilepsy. in *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies* (Oxford University Press, 4th Edition, US, 2012).
66. Kwan, P., Arzimanoglou, A., Berg, A. T., Brodie, M. J., Hauser, W. A., Mathern, G., Moshé, S. L., Perucca, E., Wiebe, S. & French, J. Definition of drug resistant epilepsy: Consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia* **51**, 1069–1077 (2010).
67. Kwan, P. & Brodie, M. J. Potential role of drug transporters in the pathogenesis of medically intractable epilepsy. *Epilepsia* **46**, 224–235 (2005).
68. Perucca, E. & Meador, K. J. Adverse effects of antiepileptic drugs. *Acta Neurol. Scand. Suppl.* **181**, 30–35 (2005).
69. Perucca, P. & Gilliam, P. Adverse Effects of Antiepileptic Drugs. *Lancet Neurol* **11**, 792–802 (2012).
70. https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/ich-e-15-establish-definitions-genomic-biomarkers-pharmacogenomics-pharmacogenetics-genomic-data_en.pdf. (τελευταία επίσκεψη: 01.06.2019)
71. Szoek, C., Newton, M., Wood, J. M., Goldstein, D., Berkovic, S. F., O'Brien, T. J. & Sheffield, L. J. Update on pharmacogenetics in epilepsy: a brief review. *Lancet. Neurol.* **5**, 189–196 (2006).
72. Klotz, U., Zimprich, F., Schmidt, D. & Lo, W. The clinical impact of

- pharmacogenetics on the treatment of epilepsy. *Epilepsia* **50**, 1–23 (2009).
73. Lewin, B. 'Genes VIII'. (Ακαδημαϊκές Εκδόσεις Μπάσδρα, Επίτομη Έκδοση, Αθήνα, 2004).
 74. Russell, P. 'iGenetics'. (Ακαδημαϊκές Εκδόσεις Μπάσδρα, 1η Έκδοση, Αθήνα, 2013).
 75. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6323>. (τελευταία επίσκεψη: 20.06.2019)
 76. <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/SCN1A>. (τελευταία επίσκεψη: 20.06.2019)
 77. Catterall, W. A. From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. *Neuron* **26**, 13–25 (2000).
 78. Yu, F. H., Westenbroek, R. E., Silos-Santiago, I., *et al.* Sodium channel beta4, a new disulfide-linked auxiliary subunit with similarity to beta2. *J. Neurosci.* **23**, 7577–7585 (2003).
 79. Goldin, A. L. Evolution of voltage-gated Na(+) channels. *J. Exp. Biol.* **205**, 575–584 (2002).
 80. Trimmer, J. S. & Rhodes, K. J. Localization of voltage-gated ion channels in mammalian brain. *Annu. Rev. Physiol.* **66**, 477–519 (2004).
 81. Ogiwara, I., Miyamoto, H., Morita, N., *et al.* Nav1.1 localizes to axons of parvalbumin-positive inhibitory interneurons: a circuit basis for epileptic seizures in mice carrying an Scn1a gene mutation. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **27**, 5903–5914 (2007).
 82. Beckh, S., Noda, M., Lübbert, H. & Numa, S. Differential regulation of three sodium channel messenger RNAs in the rat central nervous system during development. *EMBO J.* **8**, 3611–3616 (1989).
 83. Escayg, A. & Goldin, A. L. Sodium channel SCN1A and epilepsy: Mutations and mechanisms. *Epilepsia* **51**, 1650–1658 (2010).
 84. Claes, L. R. F., Deprez, L., Suls, A., Baets, J., Smets, K., Van Dyck, T., Deconinck, T., Jordanova, A. & De Jonghe, P. The SCN1A variant database: a novel research and diagnostic tool. *Hum. Mutat.* **30**, E904-20 (2009).
 85. Singh, R., Scheffer, I. E., Crossland, K. & Berkovic, S. F. Generalized epilepsy with febrile seizures plus: a common childhood-onset genetic epilepsy syndrome. *Ann. Neurol.* **45**, 75–81 (1999).
 86. Scheffer, I. E., Zhang, Y.-H., Jansen, F. E. & Dibbens, L. Dravet syndrome or genetic (generalized) epilepsy with febrile seizures plus? *Brain Dev.* **31**, 394–400 (2009).
 87. Ma, C.-L., Wu, X.-Y., Zheng, J., Wu, Z.-Y., Hong, Z. & Zhong, M. Association of SCN1A, SCN2A and ABCC2 gene polymorphisms with the response to

- antiepileptic drugs in Chinese Han patients with epilepsy. *Pharmacogenomics* **15**, 1323–1336 (2014).
88. Heinzen, E. L., Yoon, W., Tate, S. K., Sen, A., Wood, N. W., Sisodiya, S. M. & Goldstein, D. B. Nova2 interacts with a cis-acting polymorphism to influence the proportions of drug-responsive splice variants of SCN1A. *Am. J. Hum. Genet.* **80**, 876–883 (2007).
 89. Tan, J., Liu, Z., Nomura, Y., Goldin, A. L. & Dong, K. Alternative splicing of an insect sodium channel gene generates pharmacologically distinct sodium channels. *J. Neurosci.* **22**, 5300–5309 (2002).
 90. Schlachter, K., Gruber-Sedlmayr, U., Stogmann, E., *et al.* A splice site variant in the sodium channel gene SCN1A confers risk of febrile seizures. *Neurology* **72**, 974–978 (2009).
 91. Kumari, R., Lakhan, R., Kumar, S., Garg, R. K., Misra, U. K., Kalita, J. & Mittal, B. SCN1A IVS5-91 G > A polymorphism is associated with susceptibility to epilepsy but not with drug responsiveness. *Biochimie* **95**, 1350–1353 (2013).
 92. Ma, Q.-L., Wang, B., Chen, G.-F., Huang, J.-L., Li, Y., Cao, D.-Z. & Liu, R.-T. Association between SCN1A rs3812718 polymorphism and generalized epilepsy with febrile seizures plus. *Chinese J. Contemp. Pediatr.* **20**, 130–133 (2018).
 93. Tang, L., Lu, X., Tao, Y., Zheng, J., Zhao, P., Li, K. & Li, L. SCN1A rs3812718 polymorphism and susceptibility to epilepsy with febrile seizures : A meta-analysis. *Gene* **533**, 26–31 (2014).
 94. Zhi, H., Wu, C. & Yang, Z. SCN1A rs3812718 polymorphism is associated with epilepsy : An updated meta-analysis. *Epilepsy Res.* **142**, 81–87 (2018).
 95. Angelopoulou, C., Veletza, S., Heliopoulos, I., Vadikolias, K., Tripsianis, G., Stathi, C. & Piperidou, C. Association of SCN1A gene polymorphism with antiepileptic drug responsiveness in the population of Thrace, Greece. *Arch Med Sci.* **13**, 138–147 (2017).
 96. Abe, T., Seo, T., Ishitsu, T., Nakagawa, T., Hori, M. & Nakagawa, K. Association between SCN1A polymorphism and carbamazepine-resistant epilepsy. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **66**, 304–307 (2008).
 97. Zhou, B.-T., Zhou, Q.-H., Yin, J.-Y., Li, G.-L., Qu, J., Xu, X.-J., Liu, D., Zhou, H.-H. & Liu, Z.-Q. Effects of SCN1A and GABA receptor genetic polymorphisms on carbamazepine tolerability and efficacy in Chinese patients with partial seizures: 2-year longitudinal clinical follow-up. *CNS Neurosci. Ther.* **18**, 566–572 (2012).
 98. Bao, Y., Liu, X. & Xiao, Z. Association between two SCN1A polymorphisms and resistance to sodium channel blocking AEDs: a meta-analysis. *Neurol. Sci. Off. J. Ital. Neurol. Soc. Ital. Soc. Clin. Neurophysiol.* **39**, 1065–1072 (2018).

99. <https://www.snpedia.com/index.php/Rs2298771>. (τελευταία επίσκεψη: 21.06.2019)
100. Lakhan, R., Kumari, R., Misra, U. K., Kalita, J., Pradhan, S. & Mittal, B. 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.* **68**, 214–220 (2009).
101. Ebrahimi, A., Houshmand, M., Tonekaboni, H., Fallah, S., Passand, M., Zainali, S. & Moghadasi, M. Two Novel Mutations in SCN1A Gene in Iranian Patients with Epilepsy. *Arch. Med. Res.* **41**, 207–214 (2010).
102. Chou, I.-C., Peng, C.-T., Tsai, F.-J., Huang, C.-C., Shi, Y.-R. & Tsai, C.-H. The lack of association between febrile convulsions and polymorphisms in SCN1A. *Epilepsy Res.* **54**, 53–57 (2003).
103. Bertok, S., Dolzan, V., Goricar, K., Podkrajsek, K. T., Battelino, T. & Renner-Primec, Z. 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).
104. Baum, L., Haerian, B. S., Ng, H. K., *et al.* Case-control association study of polymorphisms in the voltage-gated sodium channel genes SCN1A, SCN2A, SCN3A, SCN1B, and SCN2B and epilepsy. *Hum. Genet.* **133**, 651–659 (2014).
105. Wang, P., Zhou, Q., Sheng, Y., Tang, B., Liu, Z. & Zhou, B. 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**, 433–441 (2014).
106. Haerian, B. S., Baum, L., Kwan, P., Tan, H. J. & Raymond, A. A. SCN1A, SCN2A and SCN3A gene polymorphisms and responsiveness to antiepileptic drugs : a multicenter cohort study and meta-analysis. *Pharmacogenomics* **14**, 1153–1166 (2013).
107. Herranz, L., Leno, C., Arteaga, R., Valdiza, E. M., Sa, M. B., Armijo, J. A., Nicola, M. & Adi, J. Genetic factors associated with drug-resistance of epilepsy : Relevance of stratification by patient age and aetiology of epilepsy. *Seizure* **19**, 93–101 (2010).
108. Vander, A., Sherman, J., Luciano, D. & Τσακόπουλος, Μ. *Ψυσιολογία του Ανθρώπου*. (Εκδόσεις Πασχαλίδης, 8η Έκδοση, Αθήνα, 2011).
109. https://www.researchgate.net/figure/Blood-fractionation-A-small-blood-sample-is-placed-into-a-centrifuge-and-spun-at-a-given_rpm. (τελευταία επίσκεψη: 10.05.2019)
110. <http://arabdev.org/new-south-wales/dna-blood-extraction>. (τελευταία επίσκεψη: 10.05.2019)
111. <https://www.analytik-jena.de/en/life-science/products/prod/cat/isolation-of->

- genomic-dna/prod/innuprep-dna-mini-kit.html. (τελευταία επίσκεψη: 10.05.2019)
112. Χατζηγιάννου, Θ. & Κουμπάρη, Μ. 'Ενόργανη Ανάλυση'. (Εκδόσεις Μαυρομάττη, Αθήνα, 2010).
 113. Σκορίλας, Α. 'Αρχές Κλινικής Χημείας και Μοριακής Διαγνωστικής'. (Εκδόσεις Συμμετρία, Αθήνα, 2009).
 114. <http://thescienceinfo.com/components-of-polymerase-chain-reaction/>. (τελευταία επίσκεψη: 20.02.2019)
 115. Cheli, S., Pietrantonio, F., Clementi, E. & Falvella, F. S. LightSNiP assay is a good strategy for pharmacogenetics test. *Front. Pharmacol.* **6**, 1–5 (2015).
 116. Makoff, A., Lai, T., Barratt, C., Valentin, A., Moran, N., Asherson, P. & Nashef, L. High-density SNP screen of sodium channel genes by haplotype tagging and DNA pooling for association with idiopathic generalized epilepsy. *Epilepsia* **51**, 694–698 (2010).
 117. <http://www.chp.edu/our-services/brain/neurology/epilepsy/types/syndromes/juvenile-absence-epilepsy>. (τελευταία επίσκεψη: 05.06.2019)
 118. <http://thomashoskynsleonardblog.blogspot.com>. (τελευταία επίσκεψη: 05.06.2019)



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: Νικόλαος 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 άμεσες 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

ΕΝΥ: 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 ταυτότητά 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 Ανάληψης

Έχετε το δικαίωμα να αρνηθείτε να χρησιμοποιηθούν τα δείγματά 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

.....

Παράρτημα Β



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
5=ΠΑΠΠΟΥΣ, 6=ΓΙΑΓΙΑ, 7=ΘΕΙΟΣ-ΘΕΙΑ, 8=ΑΛΛΟΣ,
9=ΠΑΤΕΡΑΣ+ΑΔΕΛΦΟΣ, 10=ΜΗΤΕΡΑ+ΑΔΕΛΦΗ)

ΒΑΡΟΣ ΥΨΟΣ

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