

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΤΟΜΕΑΣ ΚΟΙΝΩΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ - ΨΥΧΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Γενετική βάση της Νόσου Πάρκινσον στις Κυκλάδες

Μαρία Σ. Μπόζη

ΑΘΗΝΑ

ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2014

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗ ΝΟΣΟ ΠΑΡΚΙΝΣΟΝ
ΚΑΙ
ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ**

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Νόσος Πάρκινσον (ΝΠ) περιγράφηκε για πρώτη φορά στη βιβλιογραφία το 1817 από τον James Parkinson, ο οποίος παρουσίασε 6 περιπτώσεις ασθενών με «shaking palsy». (1) Η δημοσίευση αυτή του James Parkinson δεν έτυχε τότε ευρείας αναγνώρισης, ώσπου, δεκαετίες αργότερα, ο φημισμένος νευρολόγος Jean Martin Charcot, αναγνωρίζοντας τη σημασία της δουλειάς του James Parkinson, ονόμασε την ασθένεια, που περιγραφόταν ως shaking palsy, «Νόσο του Πάρκινσον».

Η ΝΠ είναι η δεύτερη σε συχνότητα νευροεκφυλιστική νόσος μετά τη Νόσο Αλτσχάιμερ (ΝΑ), και αναμένεται να αποτελέσει ένα διαρκώς αυξανόμενο κοινωνικό και οικονομικό πρόβλημα, καθώς ο παγκόσμιος πληθυσμός διαρκώς γηράσκει. Ο επιπολασμός της νόσου στις βιομηχανικές χώρες υπολογίζεται σε 0.3% του συνολικού πληθυσμού, ποσοστό που αυξάνεται με την ηλικία: 1-2% σε ανθρώπους ηλικίας πάνω από 60 ετών και 3-4% σε ανθρώπους ηλικίας πάνω από 80 ετών. (2) Η επίπτωση της ΝΠ, όπως αυτή προκύπτει από προοπτικές πληθυσμιακές μελέτες, υπολογίζεται σε 8-18/100.000 άτομα-έτη, με κίνδυνο νόσησης καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής 1.5%. (3,4) Εκτός από την ηλικία, η επίπτωση της νόσου εξαρτάται και από το γένος, καθώς αρκετές προοπτικές μελέτες έχουν δείξει αυξημένη επίπτωση στους άντρες σε σύγκριση με τις γυναίκες. (5)

Κλινική Εικόνα

Η ΝΠ χαρακτηρίζεται κλινικά από την εξής κλασική τετράδα κινητικών συμπτωμάτων: τρόμο ηρεμίας, μυϊκή δυσκαμψία, βραδυκινησία, και, σε πιο προχωρημένα συνήθως στάδια της ασθένειας, αστάθεια και ελαττωμένα αντανακλαστικά στήριξης. Οι κινητικές εκδηλώσεις της νόσου συχνά συνοδεύονται από μη κινητικά συμπτώματα, όπως ψυχιατρικές διαταραχές (αγχώδεις και ψυχωσικόμορφες εκδηλώσεις, κατάθλιψη), συμπτώματα δυσλειτουργίας του Αυτονόμου Νευρικού Συστήματος (διαταραχές ούρησης, υπόταση, δυσκοιλιότητα), διαταραχές ύπνου (διαταραχές ύπνου REM), διαταραχές όσφρησης, νοητική έκπτωση, άνοια, οπτικές ψευδαισθήσεις. (6)

Παθολογοανατομική Εικόνα

Το κύριο παθολογοανατομικό εύρημα, που σχετίζεται με τα κινητικά συμπτώματα της νόσου, είναι η εκφύλιση των ντοπαμινεργικών νευρώνων της συμπαγούς μοίρας της μέλαινας ουσίας στον μεσεγκέφαλο, η οποία έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων της ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα. Τα κινητικά συμπτώματα της ΝΠ δεν εκδηλώνονται, παρά μόνο όταν εκφυλιστούν περισσότερο από το 70-80% των

μελαιοραβδωτών ντοπαμινεργικών απολήξεων, και απωλεσθεί περί το 80-85% της συγκέντρωσης της ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα, γεγονός που αποδεικνύει την ύπαρξη εντυπωσιακών αντισταθμιστικών μηχανισμών στα πρώιμα στάδια της νόσου. (7) Επί πλέον, στη μέλαινα ουσία και στο ραβδωτό σώμα ασθενών με ΝΠ πολύ συχνά παρατηρείται γλοίωση. (8) Εκτός από τους ντοπαμινεργικούς νευρώνες εκφύλιση υφίστανται και άλλες ομάδες κυττάρων, όπως οι σεροτονινεργικοί νευρώνες του πυρήνα της ραφής, οι νοραδρενεργικοί νευρώνες του υπομέλανος τόπου και οι χολινεργικοί νευρώνες του πυρήνα της βάσης του Meynert. Η εκφύλιση των παραπάνω μη ντοπαμινεργικών νευρώνων θεωρείται ότι ευθύνεται εν μέρει για τα μη κινητικά συμπτώματα της νόσου.

Χαρακτηριστικό παθολογοανατομικό εύρημα της ΝΠ θεωρούνται τα σωματίδια Lewy, ενδοκυττάρια ηωσινοφιλικά πρωτεϊνικά έγκλειστα που ανευρίσκονται στους εναπομείναντες επιζώντες νευρώνες τους στελέχους και του εγκεφαλικού φλοιού. (9,10) Τα έγκλειστα αυτά περιέχουν κυρίως α-συνουκλεΐνη, ομπικουϊτίνη και νευροϊνιδιακές πρωτεΐνες. (11,12)

Έτσι, η παθολογοανατομική διάγνωση της νόσου προϋποθέτει την ύπαρξη δύο παθολογοανατομικών χαρακτηριστικών: α) την απώλεια των ντοπαμινεργικών νευρώνων της μέλαινας ουσίας, και β) την παρουσία των σωματίων Lewy. Η παρουσία των σωματίων Lewy, από μόνη της, δεν αποτελεί παθογνωμονικό παθολογοανατομικό κριτήριο της ΝΠ, καθώς σωματίδια Lewy ανευρίσκονται, και σε άλλες νευροεκφυλιστικές νόσους, όπως η ΝΑ και η Νόσος με διάχυτα σωματίδια Lewy.

Διάγνωση

Η διάγνωση της ΝΠ παραμένει κυρίως κλινική, λόγω της έλλειψης ειδικών βιολογικών δεικτών ή νευροαπεικονιστικών γνωρισμάτων. Έτσι, η διάγνωση τίθεται από την παρουσία των παρκινσονικών σημείων και συμπτωμάτων που προαναφέρθηκαν, σε συνδυασμό με την απουσία σημείων άλλης νευρολογικής νόσου, προηγηθείσας λήψης φαρμάκων ή άλλων ουσιών, ή λοίμωξης. Διάφορα κλινικά κριτήρια έχουν κατά καιρούς προταθεί για την υποστήριξη της διάγνωσης και για την επιλογή ασθενών με ΝΠ στις κλινικές μελέτες. Τα πιο συνηθισμένα είναι τα κριτήρια της UK Brain Bank, που πρότειναν τη διάγνωση της ΝΠ επί παρουσίας βραδυκινησίας, και ενός των υπολοίπων 3 βασικών παρκινσονικών σημείων: βραδυκινησίας, τρόμου ηρεμίας και διαταραχής των αντανεκλαστικών στήριξης. Επίσης, στα κριτήρια αυτά συμπεριλαμβάνονται και αρκετά κριτήρια αποκλεισμού (όπως ή ύπαρξη ιστορικού επανειλημμένων αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων, και συμπτωμάτων δυσλειτουργίας του Αυτονόμου Νευρικού

Συστήματος), καθώς και μερικά δευτερεύοντα κριτήρια, όπως η προοδευτική επιδείνωση και η ανταπόκριση στη θεραπεία με λεβοντόπα. (13,14) Άλλα γνωστά και συχνά χρησιμοποιούμενα διαγνωστικά κριτήρια για τη ΝΠ είναι τα κριτήρια των Calne et al και των Gelb et al. (15,16)

Θνητότητα

Παρά την αργή εξέλιξη της νόσου στις περισσότερες περιπτώσεις, η πορεία της είναι δυστυχώς μη αναστρέψιμη. Έως σήμερα, δεν υπάρχει κάποια θεραπεία που να σταματά ή να επιβραδύνει την εξέλιξη της νευροεκφύλισης. Συνεπώς, η μόνη υπάρχουσα θεραπεία είναι συμπτωματική, με στόχο τη βελτίωση μερικών από τα συμπτώματα της νόσου, αλλά αρκετές φορές με σημαντικές παρενέργειες. (17) Μελέτες, που έγιναν με σκοπό την εκτίμηση της θνητότητας της ΝΠ, αναφέρουν περίπου διπλάσιο δείκτη θνητότητας σε ασθενείς με ΝΠ σε σύγκριση με τον γενικό πληθυσμό. (18-26) Δεδομένα από έξι Ευρωπαϊκές μελέτες θνητότητας στη ΝΠ κατέδειξαν μειωμένο προσδόκιμο επιβίωσης σε όλες τις ηλικιακές ομάδες ασθενών, περισσότερο δε σε αυτούς με νεαρή ηλικία έναρξης. (27) Για τους ασθενείς με έναρξη της νόσου σε ηλικία μεταξύ 25 και 39 ετών το προσδόκιμο επιβίωσης ήταν 38 έτη έναντι 49 στον γενικό πληθυσμό, για αυτούς με έναρξη μεταξύ 40 και 64 ήταν 21 έτη έναντι 31 στον γενικό πληθυσμό, ενώ για αυτούς με έναρξη σε ηλικία μεγαλύτερη από 65 ετών το προσδόκιμο επιβίωσης ήταν 5 έτη έναντι 9 στον γενικό πληθυσμό. (27)

ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΝΠ

Από την πρώτη περιγραφή της νόσου έως σήμερα, η ΝΠ έχει γίνει το αντικείμενο εντατικής έρευνας, με στόχο την κατανόηση της αιτιολογίας και παθοφυσιολογίας της, με απώτερο σκοπό την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών τεχνικών ή προληπτικών και νευροπροστατευτικών παρεμβάσεων. Η αιτιολογία της ΝΠ όμως είναι περίπλοκη, και φαίνεται να περιλαμβάνει γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες, άποψη που υποστηρίχθηκε από τη δεκαετία ακόμη του '70. (28)

Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες θεωρούνταν για πολύ καιρό το κύριο αίτιο της ΝΠ, ειδικά μετά την πανδημία της γρίπης το 1918, όταν ένα ποσοστό από τα άτομα που νόσησαν από γρίπη ανέπτυξαν μετεγκεφαλιτιδικό παρκινσονισμό. Κατόπιν τούτου, θεωρήθηκε ότι λοιμώδεις περιβαλλοντικοί παράγοντες ευθύνονταν για την ανάπτυξη της ΝΠ. (29) Η περιβαλλοντική αυτή υπόθεση ενισχύθηκε μετά την ανακάλυψη του MPTP (μεθυλ-φενυλ-τετραυδροπυριδίνης) στις αρχές του 1980, ουσίας που βρέθηκε να προκαλεί εκλεκτική εκφύλιση της μελαινοραβδωτής οδού, αναστέλλοντας τη λειτουργία των μιτοχονδρίων, με συνέπεια ανάπτυξη παρκινσονισμού στα πειραματόζωα και στους ανθρώπους. (30,31) Από τότε, ένας μεγάλος αριθμός περιβαλλοντικών παραγόντων και συνηθειών, όπως βιομηχανικές τοξίνες, εντομοκτόνα, βαρέα μέταλλα, αγροτικός τρόπος διαβίωσης, κάπνισμα, κατανάλωση καφέ ή τσαγιού, έχουν εξεταστεί σχετικά με τη πιθανότητα συσχέτισης με τη ΝΠ. (32,33)

Οι απόψεις σχετικά με την αιτιολογία της ΝΠ έχουν αλλάξει σημαντικά τις τελευταίες δεκαετίες, με την γενετική υπόθεση να κερδίζει συνεχώς έδαφος. Παρ' όλο που οι περισσότεροι ασθενείς με ιδιοπαθή ΝΠ δεν παρουσιάζουν εμφανή κληρονομικότητα, έχει βρεθεί ότι η παρουσία θετικού οικογενειακού ιστορικού σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο νόσησης από ΝΠ. (34) Επίσης, η μελέτη οικογενειών με παρκινσονισμό, κληρονομούμενο με μεντέλεια κληρονομικότητα, οδήγησε στην ανακάλυψη γονιδίων που προκαλούν μονογονιδιακές μορφές της νόσου και παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαλεύκανση των παθογενετικών μηχανισμών της.

Αυτοί φαίνεται να σχετίζονται με τη δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων και των λυσοσωματίων, με τη συσσώρευση πρωτεϊνών, το σύστημα ουμπικουϊτίνης-πρωτεασώματος και με μηχανισμούς δράσης των κινασών. (35-38)

Συμπερασματικά, η αιτιολογία της ΝΠ είναι πολυπαραγοντική, και συνδυάζει γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες. Η Tanner, πρόσφατα, χαρακτήρισε την έρευνα για τις πολυπαραγοντικές αλληλεπιδράσεις στη ΝΠ ως την τελική πρόκληση για

την ανακάλυψη της αιτιολογίας της νόσου, προβλέποντας ότι, η μελέτη συγκεκριμένων γονιδίων σε συνδυασμό με καλά ποσοτικοποιημένες εκθέσεις σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, θα διαφωτίσει τη σχέση μεταξύ της νόσου, του γονοτύπου και του περιβάλλοντος. (39)

ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Υπάρχουν αρκετές ενδείξεις ότι το κάπνισμα, και πιθανώς ο καφές, δρουν προστατευτικά έναντι της ΝΠ, αλλά οι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί αυτών των επιδράσεων δεν είναι γνωστοί. Άλλες συνήθειες δε φαίνεται να επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό τον κίνδυνο εμφάνισης της ΝΠ, ίσως όμως το αλκοόλ και η φυσική άσκηση να ασκούν μια ασθενή προστατευτική δράση. Η δίαιτα δε φαίνεται να παίζει ρόλο, αν και υπάρχουν κάποια ερευνητικά δεδομένα που υποστηρίζουν ότι τα γαλακτοκομικά προϊόντα και το γάλα αυξάνουν τον κίνδυνο της νόσου, ενώ η διατροφική πρόσληψη της βιταμίνης E τον μειώνει. Περιορισμένα είναι τα δεδομένα σχετικά με το ρόλο μετάλλων, χημικών, και μαγνητικών πεδίων, όμως για τα φυτοφάρμακα, υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις ότι αυξάνουν τον κίνδυνο της ΝΠ.

Οι περισσότερες μελέτες σχετικά με την επίδραση διαιτητικών και άλλων συνηθειών στη ΝΠ είναι αναδρομικές, συνεπώς επιρρεπείς σε μεροληψία ανάκλησης (recall bias), γιαυτό και υπάρχει ανάγκη για πραγματοποίηση περισσότερων μελετών με προοπτικό σχεδιασμό.

Φυτοφάρμακα – Αγροτική διαβίωση – Κατανάλωση νερού από πηγάδι

Η συσχέτιση της ΝΠ με τα φυτοφάρμακα είναι πιο ισχυρή συνολικά για τα φυτοφάρμακα, και ιδίως για τα εντομοκτόνα, παρά για κάποιον συγκεκριμένο χημικό παράγοντα. Μία μετα-ανάλυση 19 μελετών case-control, που δημοσιεύτηκαν μεταξύ 1989 και 1999, υπολόγισε το συνολικό κίνδυνο για ΝΠ, όταν κάποιος εκτίθεται σε εντομοκτόνα, σε 1.94 (95% Confidence Interval, CI= 1.49, 2.53), χωρίς όμως να τεκμηριώνεται δόσοεξαρτώμενη συσχέτιση. (40) Τέτοιες μελέτες συνήθως εμφανίζουν αρκετές μεθοδολογικές αδυναμίες, όπως λανθασμένη ταξινόμηση της έκθεσης, χαμηλή συχνότητα και ποσότητα της έκθεσης, ανεπαρκές μέγεθος δείγματος, και αναδρομικός σχεδιασμός. Είναι, λοιπόν, αναγκαίος ο σχεδιασμός μελετών με πιο ακριβή ποσοτικοποίηση των διαφόρων εκθέσεων, ενώ, από την άλλη μεριά, προοπτικές μελέτες δεν θα ήταν πρακτικό να πραγματοποιηθούν, λόγω του μεγάλου διαστήματος που μεσολαβεί μεταξύ του χρόνου της έκθεσης και του χρόνου εκδήλωσης της νόσου.

Παράλληλα με την υπόθεση ότι η έκθεση σε φυτοφάρμακα αυξάνει τον κίνδυνο της ΝΠ, μερικές μελέτες αναφέρουν υψηλότερο επιπολασμό ή επίπτωση της ΝΠ σε αγροτικές, παρά σε αστικές περιοχές. (41,42) Παρ' όλα αυτά, η συσχέτιση της ΝΠ με την αγροτική διαβίωση είναι αμφισβητούμενη, καθώς υπάρχουν και μελέτες με αντίθετα ευρήματα. (43,44) Άλλες μελέτες ερεύνησαν επίσης τη συσχέτιση άλλων μεταβλητών,

συγγενικών με τα φυτοφάρμακα, όπως η κατανάλωση νερού από πηγάδι, οι περισσότερες όμως από αυτές δεν τεκμηρίωσαν κάποια συσχέτιση με τη ΝΠ. (45)

Μέταλλα

Από τις αρχές του 19^{ου} αιώνα, παρατηρήθηκε ότι η υψηλή έκθεση σε μαγγάνιο μπορεί να προκαλέσει παρκινσονισμό, διαφορετικό όμως από την ιδιοπαθή ΝΠ. (46) Υπάρχουν, επίσης, αναφορές παρκινσονισμού από έκθεση σε μόλυβδο. (47) Ο σίδηρος είναι ένα άλλο μέταλλο που έχει υποτεθεί ότι παίζει ρόλο στη ΝΠ, επειδή ενέχεται στο οξειδωτικό στρες, και επειδή αυξημένα επίπεδα σιδήρου, όπως και χαλκού και ψευδαργύρου, βρέθηκαν στη μέλαινα ουσία ασθενών με ΝΠ σε σύγκριση με άτομα χωρίς ΝΠ. (48,49) Μία παλαιότερη μελέτη κατέδειξε αυξημένο κίνδυνο νόσησης από ΝΠ στα άτομα που είχαν τα υψηλότερα επίπεδα υδραργύρου στο αίμα. (50)

Παρ' όλα αυτά, δεν υπάρχουν πειστικά επιδημιολογικά δεδομένα ότι η έκθεση σε ορισμένα μέταλλα προκαλεί ΝΠ. Εκτός από λίγες μεγάλες μελέτες, (51-53) οι περισσότερες σχετικές μελέτες, έως σήμερα, υπήρξαν μικρές και αναδρομικές, χωρίς προοπτικά δεδομένα για τα περισσότερα μέταλλα.

Κάπνισμα

Το κάπνισμα είναι ένας από τους εκτενέστερα μελετημένους περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου για τη ΝΠ. Από 44 μελέτες case-control, οι 30 ανέφεραν αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ του καπνίσματος και της ΝΠ. (45) Η συσχέτιση αυτή ήταν μεγαλύτερη για τους ενεργούς καπνιστές έναντι αυτών που είχαν διακόψει το κάπνισμα. Ο Σχετικός Κίνδυνος (Relative Risk, RR) για τη ΝΠ συνολικά για τους ενεργούς και τους τέως καπνιστές έναντι αυτών που δεν κάπνισαν ποτέ κυμαινόταν μεταξύ 0.32 και 0.77. (45) Σε αρκετές από αυτές τις μελέτες αναφέρθηκε, επιπλέον, αντίστροφη δόσοεξαρτώμενη συσχέτιση μεταξύ του αριθμού των τσιγάρων (σε πακέτα-χρόνια) και του κινδύνου για ΝΠ, (54,55) ενώ δεν υπήρχε διαφορά ανάμεσα στα δύο φύλα. Τα αποτελέσματα από 9 προοπτικές μελέτες ήταν παρόμοια. Όλες υποστήριζαν την αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ του καπνίσματος και της ΝΠ. (45)

Η συσχέτιση όμως, που παρατηρείται μεταξύ του καπνίσματος και της ΝΠ στις περισσότερες case-control αναδρομικές μελέτες, θα μπορούσε να αποδοθεί στην ύπαρξη διαφόρων μεροληψιών (bias). (56,57) Π.χ. οι καπνιστές συνήθως πεθαίνουν νωρίτερα από τους μη καπνιστές, και έτσι είναι πιθανό να αντιπροσωπεύονται λιγότερο στην ομάδα των ατόμων με ΝΠ. Επίσης, τα άτομα με ΝΠ μπορεί να είναι λιγότερο επιρρεπή στο κάπνισμα ή να έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να το κόψουν. Τέλος, το

κάπνισμα και η ΝΠ μπορεί να μοιράζονται κοινές μεταβλητές, όπως κοινούς γενετικούς παράγοντες που να σχετίζονται και με αυξημένο κίνδυνο ΝΠ και με μεγαλύτερη πιθανότητα αποχής από το κάπνισμα.

Συμπερασματικά, ένας μεγάλος αριθμός μελετών υποστηρίζει ότι το κάπνισμα μειώνει τον κίνδυνο της ΝΠ κατά περίπου 50%. Αν και η αιτιολογική βάση της συσχέτισης αυτής έχει αμφισβητηθεί, τα δεδομένα από τις υπάρχουσες προοπτικές μελέτες υποστηρίζουν ότι η αντίστροφη συσχέτιση ΝΠ και καπνίσματος είναι πραγματική, καθώς η ύπαρξη μεροληψιών στις προοπτικές μελέτες είναι λιγότερη πιθανή. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι υπάρχει σαφής αντίστροφη δόσοεξαρτώμενη συσχέτιση. Τέλος, υπάρχουν εργαστηριακές έρευνες που αποδεικνύουν την ύπαρξη αλληλεπίδρασης μεταξύ της νικοτίνης και της α-συνουκλείνης, (58) ο ακριβής όμως μοριακός μηχανισμός για την προστατευτική δράση του καπνίσματος στη ΝΠ δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί.

Αλκοόλ

Είναι πιθανό ότι υπάρχει μία ασθενής αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της ΝΠ και της κατανάλωσης αλκοόλ. Μερικές μελέτες εξέτασαν την επίδραση διαφορετικών αλκοολούχων ποτών στη ΝΠ, και κάποιες από αυτές υποστηρίζουν ότι η συσχέτιση αυτή μπορεί να είναι ισχυρότερη για την μπύρα παρά για το κρασί ή τα λικέρ. Μία άλλη όμως εξήγηση για την παρατηρούμενη συσχέτιση μεταξύ του αλκοόλ και της ΝΠ μπορεί να είναι ότι πιθανώς αυτή συμπαρασύρεται και συγχέεται με τις συσχετίσεις της ΝΠ με το κάπνισμα και τον καφέ. (45)

Καφές και Τσάι

Η κατανάλωση του καφέ και του τσαγιού σε σχέση με τον κίνδυνο για ΝΠ έχει μελετηθεί εκτεταμένα. Η καφεΐνη δρα ως ανταγωνιστής των υποδοχέων αδενোসίνης και πειραματικά δεδομένα θέτουν την υποψία ότι μπορεί να έχει νευροπροστατευτική δράση. (59) Αρκετές case-control μελέτες βρήκαν μία αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της ΝΠ και του καφέ ή του συνολικού ποσού της προσλαμβάνουσας καφεΐνης, (54,59-61) ενώ μερικές ανέφεραν και δόσοεξαρτώμενη συσχέτιση. (54,60) Άλλες πάλι είχαν αρνητικά αποτελέσματα. (62,63) Σε μία μετα-ανάλυση 8 case-control και 5 προοπτικών μελετών, ο συνολικός Σχετικός Κίνδυνος για τη ΝΠ ήταν 0.69 (95% CI= 0.59, 0.80) για τα άτομα που έπιναν καφέ έναντι αυτών που δεν έπιναν. (64) Οι συγγραφείς της συμπεράναν ότι η αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης καφέ και της ΝΠ είναι πραγματική.

Τα δεδομένα για την επίδραση του τσαγιού στη ΝΠ είναι περιορισμένα και αντικρουόμενα. Από 7 case-control μελέτες, οι τρεις βρήκαν αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης τσαγιού και ΝΠ, (54,65,66) άλλες τρεις δεν βρήκαν καμία συσχέτιση, (62,67,68) ενώ μία βρήκε θετική συσχέτιση. (69) Τέλος, δύο μεγάλες προοπτικές μελέτες βρήκαν ότι δεν υπάρχει καμία συσχέτιση. (70,71)

Φυσική Άσκηση

Λίγες μελέτες, αναδρομικές και προοπτικές, έχουν μελετήσει τη συσχέτιση της φυσικής άσκησης με τη ΝΠ. Αρκετές από αυτές υποστηρίζουν ότι η έντονη φυσική άσκηση μπορεί να μειώνει τον κίνδυνο για ΝΠ, η συσχέτιση όμως αυτή φαίνεται να είναι ασθενής. (45)

Λοιμώξεις – Φλεγμονή

Η μεταλοιμώδης αιτιολογία της ΝΠ πιθανολογήθηκε, γιατί μερικοί ασθενείς, που προσβλήθηκαν από ληθαργική εγκεφαλίτιδα γύρω στο 1920, παρουσίασαν παρκινσονισμό. Προ της πανδημίας της ληθαργικής εγκεφαλίτιδας είχε προηγηθεί η πανδημία της γρίπης το 1918, και ιογενείς μελέτες κατέδειξαν ότι ο ιός της γρίπης ήταν πιθανώς ο κοινός αιτιολογικός παράγοντας. (72) Επειδή ο ιός της γρίπης Α μπορεί να προσβάλλει περιοχές του εγκεφάλου που ενέχονται στη ΝΠ (συμπεριλαμβανομένης της μέλαινας ουσίας του μεσεγκεφάλου), υποτέθηκε ότι μπορεί να παίζει ρόλο στη ΝΠ. (73) Μεταγενέστερες όμως μελέτες απέτυχαν να ανιχνεύσουν τον ιό της γρίπης σε εγκεφάλους ασθενών με ΝΠ. (74) Παρκινσονισμός επίσης παρατηρείται (είτε στην οξεία φάση είτε ως πιο μακροχρόνια επιπλοκή) σε ιογενή εγκεφαλίτιδα από ιούς άλλους από τον ιό της γρίπης. Παρ' όλα αυτά, δεν υπάρχει σαφής απόδειξη για τη συμμετοχή κάποιου λοιμώδους παράγοντα στην αιτιολογία της ΝΠ.

Η υπόθεση ότι η φλεγμονή μπορεί να σχετίζεται με την παθογένεια της ΝΠ προήλθε από παθολογοανατομικές μελέτες, που έδειχναν παρουσία ενεργοποιημένων μικρογλοιακών κυττάρων και αυξημένα επίπεδα κυτοκινών της φλεγμονής στη μέλαινα ουσία και το ραβδωτό σώμα ασθενών με ΝΠ. (75) Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs, NSAIDs) έχει παρατηρηθεί ότι δρούν προστατευτικά έναντι της νευρωνικής απώλειας που προκαλείται από το MPTP σε ζώα. (76) Βασισμένες σε αυτά τα δεδομένα, επιδημιολογικές μελέτες ερεύνησαν τον πιθανό ρόλο των NSAIDs στη ΝΠ. Παρ' όλο που τα στοιχεία από τη βιβλιογραφία είναι περιορισμένα, υπάρχουν ενδείξεις για πιθανή προστατευτική δράση των NSAIDs στη ΝΠ. (45)

Κρανιοεγκεφαλικές Κακώσεις

Από το 1960, είναι γνωστό ότι οι επανειλημμένες κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις, που υφίστανται οι μποξέρ, μπορεί να προκαλέσουν εγκεφαλική βλάβη και να οδηγήσουν σε προοδευτική νοητική έκπτωση, ψυχιατρικά συμπτώματα και παρκινσονισμό. (77) Το σύνδρομο αυτό είναι διαφορετικό από τη ΝΠ, αλλά ο ρόλος των κρανιοεγκεφαλικών κακώσεων σε σχέση με τη ΝΠ έχει ερευνηθεί σε αρκετές, αναδρομικές κυρίως, μελέτες, στις οποίες, όμως, η μεροληψία ανάκλησης είναι πολύ ισχυρή. Έτσι, συνολικά, αν και μερικές αναδρομικές μελέτες αναφέρουν μία συσχέτιση μεταξύ της ΝΠ και προηγηθείσας κρανιοεγκεφαλικής κακώσεως, η συσχέτιση αυτή δεν αποδεικνύεται λόγω της ύπαρξης των μεροληψιών. Επιπλέον, η συσχέτιση αυτή δεν έχει επιβεβαιωθεί από προοπτικές μελέτες, έτσι δεν υπάρχουν ισχυρά αποδεικτικά στοιχεία για την συσχέτιση προηγηθείσας κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης με την ΝΠ. (45)

Συμπέρασμα

Οι αιτιολογικές επιδημιολογικές μελέτες για την επίδραση των περιβαλλοντικών παραγόντων στη ΝΠ βασικά στηρίζονται στη μέθοδο της παρατήρησης. Η αμβληχρή έναρξη και η μακρά προκλινική περίοδος της ΝΠ κάνουν δύσκολο τον εντοπισμό των νέων περιπτώσεων της ΝΠ με τυποποιημένα εργαλεία, με αποτέλεσμα μεροληψίες, όπως η μεροληψία επιλογής (selection bias), η μεροληψία του αντίστροφου αιτίου (reverse causation bias) και άλλες. Τέλος, πολλοί από τους πιθανούς περιβαλλοντικούς αιτιολογικούς παράγοντες της ΝΠ είναι εξαιρετικά δύσκολο να υπολογιστούν και πολλές φορές συγχέονται μεταξύ τους. Επομένως, οι ελπίδες μας για την επίτευξη πρωτογενούς πρόληψης της ΝΠ στο άμεσο μέλλον δεν είναι υψηλές.

ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Η γενετική υπόθεση για την αιτιολογία της ΝΠ υποστηρίζεται από μελέτες Γενετικής Επιδημιολογίας και από την ύπαρξη μονογονιδιακών μορφών της νόσου.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΝΠ

Οι μελέτες διδύμων και οι μελέτες Οικογενειακής Συνάθροισης (Familial Aggregation studies) είναι τα δύο είδη επιδημιολογικών μελετών που συνηθίζεται να χρησιμοποιούνται για την απόδειξη της γενετικής αιτιολογίας μίας νόσου.

Μελέτες διδύμων

Μία κλασική μελέτη διδύμων δίνει τη δυνατότητα διάκρισης μεταξύ γενετικών ή περιβαλλοντικών παραγόντων στην αιτιολογία μιας νόσου, καθώς τα μονοζυγωτικά δίδυμα έχουν το ίδιο γενετικό υλικό, τα διζυγωτικά έχουν κοινό περίπου το μισό από το γενετικό τους υλικό, ενώ και τα δύο είδη διδύμων μεγαλώνουν στο ίδιο περιβάλλον κάτω από τις ίδιες συνθήκες. Στις μελέτες αυτές, κλασικά συγκρίνονται τα ποσοστά σύμπτωσης μιας νόσου στα ζεύγη μονοζυγωτικών και διζυγωτικών διδύμων, και, αν αυτά είναι μεγαλύτερα στα μονοζυγωτικά δίδυμα, τότε υπερτερεί ο ρόλος των γενετικών έναντι των περιβαλλοντικών παραγόντων στην αιτιολογία της νόσου.

Τα αποτελέσματα από τις μελέτες διδύμων στη ΝΠ δεν είναι σαφή. Οι πρώτες μελέτες διδύμων κατέδειξαν χαμηλά ποσοστά σύμπτωσης μεταξύ μονοζυγωτικών και διζυγωτικών διδύμων. (78-81) Σε μία ακόλουθη μελέτη, που συμπεριέλαβε ζευγάρια διδύμων αντρών, βετεράνων του 2^{ου} Παγκόσμιου Πολέμου, τα ποσοστά σύμπτωσης της ΝΠ ήταν επίσης χαμηλά και στις δύο ομάδες διδύμων (20% στους μονοζυγωτικούς και 12% στους διζυγωτικούς δίδυμους). (82) Στις περιπτώσεις, όμως, που η νόσος είχε διαγνωστεί σε νεαρή ηλικία (<50 ετών), τα ποσοστά αυτά ήταν 100% και 17% αντίστοιχα, υποστηρίζοντας έτσι τη γενετική αιτιολογία της ΝΠ σε άντρες με έναρξη σε νεαρή ηλικία. Σε μία πιο πρόσφατη μεγάλη πληθυσμιακή μελέτη με ζευγάρια διδύμων από τη Σουηδία, τα ποσοστά σύμπτωσης της ΝΠ ήταν χαμηλά και στα μονοζυγωτικά και στα διζυγωτικά ζευγάρια διδύμων, όπως και στις πρώτες μελέτες διδύμων. (83) Το συμπέρασμα της μελέτης αυτής ήταν ότι, σε πληθυσμιακό επίπεδο, γενετικοί παράγοντες που εκφράζονται μέσω έντονα διεισδυτικών γονιδίων φαίνεται να έχουν μικρή σημασία στην αιτιολογία της ΝΠ.

Ο σημαντικότερος περιορισμός των μελετών σε ζευγάρια διδύμων είναι ότι υπολογίζουν τα ποσοστά σύμπτωσης μιας νόσου σε μία δεδομένη στιγμή. Με την πάροδο του χρόνου όμως, μερικοί από τους μη πάσχοντες διδύμους μπορεί να νοσήσουν, ανεβάζοντας έτσι τα ποσοστά της σύμπτωσης. Πράγματι, όταν χρησιμοποιήθηκε το PET scan ως μέτρο ανίχνευσης υποκλινικής ΝΠ (μελαινораβδωτής εκφύλισης χωρίς εμφανή κλινική συμπτωματολογία), το ποσοστό σύμπτωσης της ΝΠ στα ζευγάρια των μονοζυγωτικών διδύμων ήταν πολύ μεγαλύτερο από αυτό στα ζευγάρια των διζυγωτικών διδύμων (75% έναντι 22%). (84) Ένας άλλος περιορισμός είναι ότι οι μελέτες διδύμων μπορεί να μην είναι κατάλληλες για τη μελέτη πολυπαραγοντικών νοσημάτων, όπως η ΝΠ, με χαμηλή συχνότητα μεταλλάξεων ή με μεταλλάξεις με ατελή διεισδυτικότητα, (85) και άλλα είδη μελετών πιθανώς να είναι πιο κατάλληλα για την εκτίμηση των γενετικών επιδράσεων ή της αλληλεπίδρασής τους με περιβαλλοντικούς παράγοντες για την παθογένεια της νόσου.

Μελέτες Οικογενειακής Συνάθροισης (Familial Aggregation Studies)

Οι μελέτες οικογενειακής συνάθροισης έχουν ως στόχο να αποδείξουν τον οικογενή χαρακτήρα μιας νόσου, συγκρίνοντας τα ποσοστά των πασχόντων συγγενών ανάμεσα σε πάσχοντα και μη πάσχοντα άτομα ελέγχου. Πρώτος ο Gowers, το 1893, πιθανολόγησε τη γενετική φύση της ΝΠ διαπιστώνοντας ότι 15% των ασθενών του είχαν θετικό οικογενειακό ιστορικό. (86) Αργότερα, ο Mjones ανέφερε θετικό οικογενειακό ιστορικό σε 41% από τους ασθενείς του με ΝΠ, και υπέθεσε ότι η νόσος κληρονομείται με τον αυτοσωματικό επικρατούντα χαρακτήρα με μεγάλη διεισδυτικότητα. (87) Τα αποτελέσματα όμως του Mjones μπορεί να οφείλονται, εν μέρει, στο γεγονός ότι συμπεριέλαβε ως πάσχοντες και συγγενείς με άτυπα παρκινσονικά συμπτώματα, ακόμη και αυτούς με μεμονωμένο τρόπο. Έως σήμερα, τα αποτελέσματα των μελετών οικογενειακής συνάθροισης δείχνουν ότι 15-25% των ασθενών με ΝΠ έχουν θετικό οικογενειακό ιστορικό, ενώ 10-20% των ασθενών αναφέρουν έναν τουλάχιστον πάσχοντα συγγενή α' βαθμού. (88-103) Συνολικά, οι μελέτες αυτές επιβεβαιώνουν ότι οι ασθενείς με ΝΠ έχουν 2-3 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να έχουν συγγενή με ΝΠ σε σύγκριση με τα άτομα ελέγχου. Ομοίως, οι συγγενείς ασθενούς με ΝΠ έχουν έως 3πλάσια πιθανότητα να πάσχουν από ΝΠ σε σχέση με τους συγγενείς απόμων χωρίς ΝΠ. (89,94,102,104,105) Μία μετα-ανάλυση των μελετών οικογενειακής συνάθροισης της ΝΠ των Thacker και Ascherio, που βασίστηκε στις πιο έγκυρες μεθοδολογικά

μελέτες, υπολόγισε τον Σχετικό Κίνδυνο της ΝΠ για κάποιον που έχει πάσχοντα συγγενή α' βαθμού σε 2.9 (95% CI= 2.2, 3.8). (106)

Τα παραπάνω ευρήματα υποστηρίζουν ότι η ΝΠ είναι συχνότερη ανάμεσα στους συγγενείς α' βαθμού ασθενών με ΝΠ, υποστηρίζοντας έτσι τη γενετική βάση της νόσου. Ένα σημαντικό όμως μειονέκτημα είναι ότι κοινοί περιβαλλοντικοί παράγοντες, ειδικά όταν επιδρούν σε νεαρή ηλικία, μπορεί επίσης να ευθύνονται για την αυξημένη οικογενειακή συνάθροιση μιας νόσου. Αν όμως περιβαλλοντικοί παράγοντες αποκλειστικά ευθύνονταν για το βαθμό της οικογενειακής συνάθροισης της ΝΠ, που παρατηρήθηκε στην μετα-ανάλυση των Thacker και Ascherio, (106) τότε θα έπρεπε οι διάφοροι σχετικοί κίνδυνοι να ήταν πολύ υψηλότεροι, συνεπώς γενετικοί παράγοντες πιθανά συμμετέχουν στην οικογενειακή συνάθροιση της νόσου. (107)

Μεθοδολογία των μελετών Οικογενειακής Συνάθροισης

Ανάλογα με μερικά βασικά μεθοδολογικά χαρακτηριστικά, οι μελέτες οικογενειακής συνάθροισης διακρίνονται σε: (106)

α) αυτές που απαριθμούν ξεχωριστά όλους τους συγγενείς και τους χαρακτηρίζουν έναν-έναν ως πάσχοντα ή μη πάσχοντα, και αυτές που τους υπολογίζουν ως σύνολο, το οποίο εμφανίζει ή όχι ΝΠ,

β) μελέτες όπου επιχειρείται επιβεβαίωση των αναφερομένων ως πασχόντων συγγενών με κλινική εξέταση ή άλλα μέσα (ιατρικά αρχεία, επικοινωνία με θεράποντες ιατρούς κ.α.), και σε αυτές που βασίζονται μόνο στις πληροφορίες από το ιστορικό,

γ) μελέτες όπου οι ασθενείς και τα άτομα ελέγχου προέρχονται από τον γενικό πληθυσμό (πληθυσμιακές μελέτες, population-based studies), και αυτές όπου ο μελετώμενος πληθυσμός προέρχεται από τα εξωτερικά ιατρεία νοσοκομείων (νοσοκομειακές μελέτες, hospital-based studies),

δ) ανάλογα με τη μέθοδο στατιστική ανάλυσης, μελέτες των οποίων η ανάλυση ήταν reconstructed cohort με υπολογισμό του hazard ratio ή του standardized incidence ratio (person-time data), ή του prevalence ratio ή του prevalence odds ratio (OR) (count data), και μελέτες case-control με υπολογισμό του OR.

Η εγκυρότητα μιας μελέτης οικογενειακής συνάθροισης είναι μεγαλύτερη όταν: α) είναι πληθυσμιακές, και β) απαριθμούνται όλοι οι συγγενείς, χαρακτηρίζονται ένας-ένας ως πάσχων ή μη πάσχων, και στη συνέχεια γίνεται προσπάθεια επιβεβαίωσης των

πασχόντων με κλινική εξέταση ή άλλη μέθοδο. Οι πληθυσμιακές μελέτες, των οποίων ο πληθυσμός προέρχεται από τον γενικό πληθυσμό, διασφαλίζουν ότι το δείγμα των ασθενών τους είναι αντιπροσωπευτικό του συνολικού πληθυσμού με ΝΠ της περιοχής, και τα άτομα ελέγχου όσο το δυνατό συγκρίσιμα με τους ασθενείς. (89,90,94,96,98,102,104,105) Από την άλλη, οι νοσοκομειακές μελέτες έχουν δύο βασικά μειονεκτήματα α) οι ασθενείς έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να έχουν νεαρότερη ηλικία έναρξης και περισσότερους πάσχοντες συγγενείς σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό των ασθενών με ΝΠ, β) η ακτίνα προέλευσης των ασθενών στα νοσοκομεία συχνά είναι δύσκολο να διευκρινιστεί, κάνοντας δυσχερή την κατάλληλη επιλογή ατόμων ελέγχου.

Οι μελέτες που απαριθμούν τους συγγενείς έναν-έναν, και επιχειρούν να επιβεβαιώσουν τη ΝΠ στους αναφερόμενους ως πάσχοντες, αυξάνουν την πιθανότητα να ανιχνεύσουν όλες τις πιθανές περιπτώσεις ΝΠ και να αποκλείσουν τις αμφίβολες, αυξάνοντας έτσι τη διαγνωστική ακρίβεια και την εγκυρότητα της μελέτης. Αντίθετα, όταν υποβάλλονται γενικές ερωτήσεις του τύπου «έχει ή είχε κάποιος συγγενής σας ΝΠ;», υπολογίζονται όλοι οι συγγενείς ως σύνολο, και έτσι είναι πιθανό να αγνοηθούν μερικοί πάσχοντες συγγενείς. Η εκτίμηση της διάγνωσης της ΝΠ στους συγγενείς μπορεί να γίνει με μία από τις παρακάτω μεθόδους, αρχίζοντας από την πιο αξιόπιστη: κλινική εξέταση, ιατρικά αρχεία, διαγνώσεις θεραπόντων ιατρών, ιατροδικαστικά πορίσματα, νοσοκομειακά αρχεία, κλπ, και μόνο επί απουσίας καλύτερης πηγής, η διάγνωση βασίζεται αποκλειστικά στις πληροφορίες από το ιστορικό που λαμβάνεται από τους συμμετέχοντες στη μελέτη.

Οι μελέτες οικογενειακής συνάθροισης, ανάλογα με την μέθοδο που ακολουθούν για την εκτίμηση της διάγνωσης της ΝΠ στους συγγενείς, διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: α) αυτές που ακολουθούν τη Family History method, και β) αυτές που ακολουθούν τη Family Study method. (108)

Family History method

Οι μελέτες, που ακολουθούν τη μέθοδο αυτή, βασίζονται αποκλειστικά στις πληροφορίες από το ιστορικό που δίνει ο ασθενής ή το άτομο ελέγχου για την εκτίμηση της διάγνωσης της ΝΠ στους συγγενείς. Με τον τρόπο αυτόν, όμως, χάνονται σημαντικές πληροφορίες για τους φαινοτύπους της νόσου στην οικογένεια και δημιουργούνται διάφορα είδη μεροληψιών που αναφέρονται παρακάτω.

Κατ' αρχάς, όπως αποδείχτηκε και από τις μελέτες επιπολασμού της ΝΠ, δυσκολίες που αφορούν στη διάγνωση της ΝΠ, αλλά και στη συνειδητοποίηση των συμπτωμάτων της από τους ασθενείς, μπορούν να οδηγήσουν σε υποεκτίμηση της παρουσίας της νόσου στους συγγενείς. Μία μελέτη από το Europarkinson group έδειξε ότι 24% των ασθενών με ΝΠ αγνοούσαν τη διάγνωσή τους και ήταν δυνατόν να εντοπιστούν μόνο με ενεργητική έρευνα. (109) Αυτό αντικατοπτρίζει την μακρά προκλινική φάση που χαρακτηρίζει τη ΝΠ, η οποία περιλαμβάνει μία ασυμπτωματική περίοδο κατά την οποία παρκινσονικά σημεία μπορούν να ανιχνευτούν μόνο κατά την κλινική εξέταση, και στη συνέχεια μία περίοδο με ήπια συμπτώματα που δεν ενοχλούν τον ασθενή αρκετά, ώστε να ζητήσει ιατρική βοήθεια. (110) Πάσχοντες συγγενείς, που βρίσκονται σε αυτήν την προκλινική φάση, δεν είναι δυνατόν να εντοπιστούν μόνο μέσω ερωτηματολογίου, χωρίς κλινική εξέταση. Επιπλέον, είναι πιθανό, κάποιιοι από τους ασθενείς ή τα άτομα ελέγχου να μην είναι ενήμεροι ότι κάποιος συγγενής τους έχει διαγνωστεί με ΝΠ.

Τέλος, οι μελέτες που ακολουθούν τη family history method είναι επιρρεπείς σε έναν ακόμη τύπο μεροληψίας που λέγεται μεροληψία του οικογενειακού ιστορικού (family information bias). (111,112) Σύμφωνα με αυτόν, οι ασθενείς με ΝΠ (ή οι κοντινοί τους συγγενείς, proxies) τείνουν να αναφέρουν την ύπαρξη ΝΠ στους συγγενείς τους με μεγαλύτερη ευαισθησία, αλλά μικρότερη ειδικότητα, σε σύγκριση με τα άτομα ελέγχου. Αυτό σημαίνει ότι οι ασθενείς με ΝΠ μπορούν καλύτερα να εντοπίζουν τους συγγενείς τους που πάσχουν από ΝΠ, ενώ τα άτομα ελέγχου μπορούν ακριβέστερα να εντοπίζουν τους συγγενείς τους που δε πάσχουν από ΝΠ. Αυτό έχει ως συνέπεια να υπερεκτιμάται η οικογενειακή συνάθροιση της ΝΠ ανάμεσα στους ασθενείς, αλλά όχι ανάμεσα στα άτομα ελέγχου (μεροληψία του οικογενειακού ιστορικού).

Δύο μελέτες επιχείρησαν να αξιολογήσουν την αξιοπιστία της μεθόδου family history. Οι Elbaz et al (112) διαπίστωσαν την ύπαρξη της μεροληψίας του οικογενειακού ιστορικού, το οποίο οδηγεί σε υψηλότερους Σχετικούς Κινδύνους, όπως αναφέρεται και στη μετα-ανάλυση των Thacker και Ascherio. (106) Οι Marder et al (113) εξέτασαν την αξιοπιστία της ίδιας μεθόδου, όταν για την εντόπιση των πασχόντων συγγενών χρησιμοποιούνταν ένα δομημένο ερωτηματολόγιο. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής υποστήριζαν ότι η μέθοδος αυτή είναι τόσο αξιόπιστη για τον εντοπισμό των πασχόντων συγγενών με ΝΠ όσο και η κλινική εξέταση. Παρ' όλα αυτά, το συμπέρασμα αυτό βασίστηκε σε μικρούς αριθμούς εξεταζομένων συγγενών, που ζούσαν όλοι σε μικρή απόσταση από το επίκεντρο της μελέτης, και είναι πιθανά υπερτιμημένο.

Family Study method

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, ιδανικά όλοι οι συγγενείς εξετάζονται κλινικά για να εκτιμηθεί αν πάσχουν ή όχι από ΝΠ. Έτσι, αποφεύγονται οι μεροληψίες που αναφέρθηκαν παραπάνω στη Family History method, και επί πλέον λαμβάνονται σημαντικές κλινικές πληροφορίες για τους διάφορους φαινοτύπους της νόσου στην οικογένεια. Παρ' όλα αυτά, πολλοί συγγενείς δεν είναι διαθέσιμοι για εξέταση (είτε γιατί έχουν πεθάνει, είτε γιατί δεν είναι δυνατόν να εντοπιστούν, είτε γιατί μένουν πολύ μακριά, είτε γιατί δεν επιθυμούν να συμμετάσχουν στη μελέτη), και η προσπάθεια προσέγγισης όσο το δυνατόν περισσότερων συγγενών απαιτεί αρκετά χρήματα. (114) Η ανάπτυξη και η χρησιμοποίηση εργαλείων διαλογής των συγγενών (screening instruments) διευκολύνει την εφαρμογή της Family Study method. Τα εργαλεία διαλογής μπορούν να χρησιμοποιηθούν στα πλαίσια ενός ιεραρχικού συστήματος διάγνωσης της ΝΠ για τους συγγενείς που δεν είναι διαθέσιμοι για απευθείας κλινική εξέταση, ή ως μέρος μιας διαδικασίας δύο φάσεων, με σκοπό, σε πρώτη φάση, τον εντοπισμό των συγγενών που είναι πιθανό να πάσχουν από ΝΠ, για να υποβληθούν, σε δεύτερη φάση, σε κλινική εξέταση προς επιβεβαίωση της διάγνωσης. (112-114) Δύο είναι οι μεγαλύτερες μελέτες οικογενειακής συνάθροισης της ΝΠ που πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με την family study method, (96,105) και οι δύο με τη διαδικασία των δύο φάσεων.

Εκτός από τις μεθοδολογικές μεταβλητές που συζητήθηκαν παραπάνω, κλινικές μεταβλητές, όπως η ηλικία έναρξης της νόσου και ο τύπος της συγγένειας, βρέθηκε ότι επιδρούν στο βαθμό συνάθροισης της ΝΠ. Στη μετα-ανάλυση των Thacker και Ascherio, οι συγγενείς α' βαθμού ασθενών με νεαρή ηλικία έναρξης (το ηλικιακό όριο ποίκιλε στις διάφορες μελέτες μεταξύ 40 και 50 ετών) είχαν μεγαλύτερο Σχετικό Κίνδυνο νόσησης από ΝΠ (RR= 4.7, 95% CI= 3.2, 6.8), σε σχέση με τους συγγενείς ασθενών με μεγαλύτερη ηλικία έναρξης (RR= 2.7, 95% CI= 1.9, 3.9). (106) Το εύρημα αυτό μπορεί να αντικατοπτρίζει τη μεγαλύτερη επίδραση γενετικών παραγόντων στη ΝΠ με έναρξη σε νεαρή ηλικία (Νεαρής Έναρξης ΝΠ: ΝΕΝΠ). Στο παραπάνω συμπέρασμα συνηγορεί και το γεγονός ότι τα μέλη οικογενειών με μεταλλάξεις στα γονίδια της α-συνουκλεΐνης, Parkin, PINK1 και DJ-1, εμφανίζουν ΝΕΝΠ. (115-118) Από την άλλη πλευρά, μεταλλάξεις στο γονίδιο LRRK2 φέρουν ασθενείς με ΝΠ με νεαρή, αλλά και πιο καθυστερημένη ηλικία έναρξης. (119)

Επί πλέον, η μετα-ανάλυση των Thacker και Ascherio εξέτασε ξεχωριστά τη συνάθροιση της ΝΠ για τις διάφορες μορφές συγγένειας α' βαθμού των ασθενών με ΝΠ.

(106) Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η συνάθροιση της ΝΠ ήταν μεγαλύτερη ανάμεσα σε αδέρφια, παρά ανάμεσα σε γονείς και παιδιά. Ο Σχετικός Κίνδυνος νόσησης από ΝΠ, όταν ο πάσχων συγγενής ήταν αδερφός/ή, ήταν 4.4 (95% CI= 3.1, 6.1), σε σύγκριση με 2.7 (95% CI= 2.0, 3.7), όταν ο πάσχων συγγενής ήταν γονέας. Η μεγαλύτερη συνάθροιση της ΝΠ ανάμεσα στα αδέρφια μπορεί να οφείλεται σε κοινούς περιβαλλοντικούς παράγοντες που επιδρούν νωρίς στη ζωή του ατόμου, καθώς τα αδέρφια μοιράζονται το ίδιο οικογενειακό περιβάλλον, συνήθως σε κοντινές και νεαρές ηλικίες, σε αντίθεση με τα παιδιά και τους γονείς τους, οι οποίοι διαφέρουν ηλικιακά κατά 2-4 δεκαετίες. Παρ' όλο που η κρίσιμη ηλικιακή περίοδος για την ανάπτυξη της ΝΠ παραμένει άγνωστη, υπάρχουν ενδείξεις ότι η έκθεση σε ορισμένους παράγοντες σε μικρή ηλικία μπορεί να αυξάνει τον κίνδυνο της ΝΠ. (120) Αντίθετα, άλλες επιδημιολογικές μελέτες έχουν ενοχοποιήσει περιβαλλοντικούς και διατροφικούς παράγοντες, καθώς και παράγοντες που σχετίζονται με τον τρόπο ζωής, που επιδρούν στην ενήλικη ζωή. (121) Εκτός από τους παράγοντες που σχετίζονται με το περιβάλλον, γενετικοί παράγοντες μπορεί επίσης να ευθύνονται για τη μεγαλύτερη συνάθροιση της ΝΠ ανάμεσα στα αδέρφια. Αν και τα αδέρφια, οι γονείς και τα παιδιά είναι όλοι συγγενείς α' βαθμού, η γενετική σχέση μεταξύ των αδερφιών και μεταξύ των γονέων και των παιδιών δεν είναι η ίδια. Για παράδειγμα, η μεγαλύτερη συνάθροιση της νόσου ανάμεσα στα αδέρφια θα μπορούσε να εξηγηθεί γενετικά με την υπόθεση ότι ο υπεύθυνος γενετικός παράγοντας είναι αυτοσωματικός υπολειπόμενος, (122) όπως στις οικογένειες με μεταλλάξεις στα γονίδια Parkin, PINK1 και DJ-1. (116-118) Συνεπώς, η πιο ισχυρή οικογενειακή συνάθροιση, που παρατηρήθηκε ανάμεσα στα αδέρφια στη μετα-ανάλυση των Thacker και Ascherio, (106) μπορεί να εξηγηθεί εν μέρει από την πιθανή συμμετοχή γενετικών παραγόντων με αυτοσωματική υπολειπόμενη κληρονομικότητα στους πληθυσμούς των ασθενών που συμπεριλήφθηκαν στη μετα-ανάλυση.

ΜΟΝΟΓΟΝΙΔΙΑΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΝΠ

Η κατανόηση των μηχανισμών που ευθύνονται για την ανάπτυξη και την πορεία της ΝΠ άρχισε με την ανακάλυψη των μεταλλάξεων στο γονίδιο της α-συνουκλεΐνης (SNCA), και τη διαπίστωση ότι η α-συνουκλεΐνη είναι το κύριο συστατικό των σωματίων Lewy. (115,123) Από τότε, τουλάχιστον 18 γενετικοί τόποι (PARK1-PARK18) και 13 γονίδια έχουν συσχετιστεί με κληρονομικές μορφές ΝΠ. (Πίνακας 1) (124) Η ανακάλυψη των διαφόρων αυτών γονιδίων έχει δείξει ότι η ΝΠ δεν είναι μία ενιαία νοσολογική οντότητα, αλλά μάλλον μία ετερογενής ομάδα ασθενειών με ευρύ φάσμα κλινικών σημείων και συμπτωμάτων και διαφορετική παθολογοανατομική εικόνα. Παρά τον αρχικό ενθουσιασμό που ακολούθησε τις γενετικές ανακαλύψεις, έχει διαπιστωθεί ότι μόνο 5-10% των ασθενών με ΝΠ είναι φορείς κάποιας από τις γνωστές μεταλλάξεις που προκαλούν αυτοσωματική επικρατούσα ή υπολειπόμενη μορφή της νόσου. Πολλές φορές, η κληρονομικότητα σε μονογονιδιακές μορφές της νόσου δεν είναι εμφανής, και αυτό μπορεί να οφείλεται σε υπολειπόμενη κληρονομικότητα, μειωμένη διεισδυτικότητα, καινούργια de novo μετάλλαξη, ή άλλους λόγους, όπως θάνατος ατόμων της οικογένειας προ της εκδήλωσης της νόσου ή απώλεια στο follow-up. Εναλλακτικά, η νόσος μπορεί να οφείλεται σε μία γενετικά ρυθμιζόμενη επιρρέπεια προς μία περιβαλλοντική τοξίνη, ή σε έναν συνδυασμό γονιδίων, που το καθένα αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου σε μικρό μόνο ή μέτριο βαθμό. (125)

ΑΥΤΟΣΩΜΑΤΙΚΕΣ ΕΠΙΚΡΑΤΟΥΣΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΝΠ (ΑΕΝΠ)

Έως σήμερα, για τρία γονίδια, τα SNCA, LRRK2 και VPS35, υπάρχει απόδειξη ότι σαφώς προκαλούν αυτοσωματική επικρατούσα ΝΠ (ΑΕΝΠ). Ο παθογόνος ρόλος άλλων επικρατητικών γονιδίων, όπως τα UCHL1, GIGYF2, HTRA2 και Nurr-1, είναι ακόμη αμφισβητήσιμος, καθώς μεταλλάξεις σε αυτά δεν έχουν επιβεβαιωθεί σε παραπάνω ασθενείς, ή φαίνεται ότι δρουν μάλλον ως προδιαθεσικοί παράγοντες, αυξάνοντας τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου, χωρίς, όμως, να είναι ικανά από μόνα τους να την προκαλέσουν.

SNCA (α-συνουκλεΐνη) (PARK1– PARK4)

Το γονίδιο της SNCA είναι το πρώτο γονίδιο που ανακαλύφθηκε να σχετίζεται με τη ΝΠ. Η πρώτη μετάλλαξη στο γονίδιο αυτό (A53T) εντοπίστηκε σε μία μεγάλη οικογένεια από την Ιταλία, από το χωριό Contursi, με ΑΕΝΠ και σωματία Lewy. Η ίδια αυτή μετάλλαξη εντοπίστηκε και σε 3 οικογένειες από την Δυτική Πελοπόννησο. (115,126)

Πίνακας 1. Γενετικοί τόποι και γονίδια που σχετίζονται με τη ΝΠ (τροπ. από Klein C. et al, 2012, 124)

Symbol	Gene locus	Disorder	Inheritance	Gene	Status and remarks	Mode of identification
<i>PARK1</i>	4q21-22	EOPD	AD	<i>SNCA</i>	Confirmed	Linkage analysis
<i>PARK2</i>	6q25.2–q27	EOPD	AR	<i>Parkin</i>	Confirmed	Linkage analysis
<i>PARK3</i>	2p13	Classical PD	AD	Unknown	Unconfirmed; may represent a risk factor; gene not found since first described in 1998	Linkage analysis
<i>PARK4</i>	4q21–q23	EOPD	AD	<i>SNCA</i>	Erroneous locus (identical to <i>PARK1</i>)	Linkage analysis
<i>PARK5</i>	4p13	Classical PD	AD	<i>UCHL1</i>	Unconfirmed (not replicated since described in 1998)	Functional candidate gene approach
<i>PARK6</i>	1p35–p36	EOPD	AR	<i>PINK1</i>	Confirmed	Linkage analysis
<i>PARK7</i>	1p36	EOPD	AR	<i>DJ-1</i>	Confirmed	Linkage analysis
<i>PARK8</i>	12q12	Classical PD	AD	<i>LRRK2</i>	Confirmed; variations in <i>LRRK2</i> gene include risk-conferring variants and disease-causing mutations	Linkage analysis
<i>PARK9</i>	1p36	Kufor-Rakeb syndrome; atypical PD with dementia, spasticity, and supranuclear gaze palsy	AR	<i>ATP13A2</i>	Confirmed; but complex phenotype that would not be mistaken for early-onset or classical parkinsonism	Linkage analysis
<i>PARK10</i>	1p32	Classical PD	Risk factor	Unknown	Confirmed susceptibility locus; gene unknown since first described in 2002	Linkage analysis
<i>PARK11</i>	2q36-27	Late-onset PD	AD	Unknown; not <i>GIGYF2</i>	Not independently confirmed; possibly represents a risk factor; gene not found since first described in 2002	Linkage analysis
<i>PARK12</i>	Xq21–q25	Classical PD	Risk factor	Unknown	Confirmed susceptibility locus; possibly represents a risk factor; gene not found since first described in 2003	Linkage analysis
<i>PARK13</i>	2p12	Classical PD	AD or risk factor	<i>HTRA2</i>	Unconfirmed	Candidate gene approach
<i>PARK14</i>	22q13.1	Early-onset dystonia-parkinsonism	AR	<i>PLA2G6</i>	Confirmed	Linkage analysis (homozygosity mapping)
<i>PARK15</i>	22q12–q13	Early-onset parkinsonian-pyramidal syndrome	AR	<i>FBX07</i>	Confirmed	Linkage analysis
<i>PARK16</i>	1q32	Classical PD	Risk factor	Unknown	Confirmed susceptibility locus	Genome-wide association studies
<i>PARK17</i>	16q11.2	Classical PD	AD	<i>VPS35</i>	Confirmed	Exome sequencing
<i>PARK18</i>	3q27.1	Classical PD	AD	<i>EIF4G1</i>	Unconfirmed; recently published (Chartier-Harlin et al. 2011)	Linkage analysis

AD, autosomal dominant; AR, autosomal recessive.

Από τότε, έχουν περιγραφεί δύο κατηγορίες μεταλλάξεων στο γονίδιο της SNCA που προκαλούν AENΠ: α) σημειακές μεταλλάξεις, οι οποίες προκαλούν παρανοηματικές (missense) παραλλαγές στην παραγόμενη πρωτεΐνη, και β) πολλαπλασιασμοί - διπλασιασμοί ή τριπλασιασμοί- ολόκληρου του γονιδίου, που οδηγούν σε παθολογικά αυξημένη έκφραση της φυσιολογικής πρωτεΐνης SNCA. (127,128)

Οι σημειακές μεταλλάξεις είναι πολύ σπάνιες: η A53T, η πρώτη που ανακαλύφθηκε, είναι και η συχνότερη, έχοντας περιγραφεί κυρίως σε οικογένειες Ελληνικής και Ιταλικής καταγωγής με πιθανώς κοινή προγονική μετάλλαξη, (115,129-133) αλλά και σε δύο οικογένειες από την Κορέα και μία από τη Σουηδία. (134-136) Πρόσφατα ευρήματα από μία γενετική μελέτη που διεξήγαμε σε Έλληνες ασθενείς με οικογενή ΝΠ ή σποραδική NENΠ (ηλικία έναρξης ≤ 50 ετών) κατέδειξαν ότι η μετάλλαξη A53T δεν είναι σπάνια στον Ελληνικό πληθυσμό, καθώς ανιχνεύτηκε σε ποσοστό 5.5% των ασθενών με οικογενή ΝΠ. (133) Έως πρόσφατα, είχαν ανακαλυφθεί μόνο άλλες δύο σημειακές μεταλλάξεις, οι A30P και E46K, η πρώτη σε μία Γερμανική και η δεύτερη σε μία Ισπανική οικογένεια. (137,138) Πρόσφατα, ανακοινώθηκε μία οικογένεια από τη Βρετανία με NENΠ που έφερε μία νέα σημειακή μετάλλαξη στο γονίδιο SNCA, την G51D. Τα παθολογοανατομικά ευρήματα των πασχόντων μελών της οικογένειας αυτής ήταν συμβατά με ΝΠ αλλά και με Ατροφία Πολλαπλών Συστημάτων (Multiple System Atrophy, MSA). (139) Μία επιπλέον σημειακή μετάλλαξη, η H50Q, έχει ανευρεθεί σε παθολογοανατομικό υλικό εγκεφάλου ασθενούς με σποραδική ΝΠ, καθώς και σε ανάλυση DNA από περιφερικό αίμα ασθενούς με οικογενή ΝΠ. (140,141)

Ασθενείς που φέρουν τη μετάλλαξη A53T έχουν ποικίλο φαινότυπο, που εκτείνεται από τον τυπικό φαινότυπο της ΝΠ με έναρξη σε προχωρημένη ηλικία, έως έναν φαινότυπο με άτυπα και βαρύτερα χαρακτηριστικά, όπως νεαρότερη ηλικία έναρξης, πιο γρήγορη εξέλιξη, και συχνή εμφάνιση άνοιας, ψυχιατρικών συμπτωμάτων και δυσλειτουργίας του Αυτονόμου Νευρικού Συστήματος. (132,135,136,142,143) Η μετάλλαξη A30P έχει συσχετιστεί με φαινότυπο ιδιοπαθούς ΝΠ με προχωρημένη ηλικία έναρξης και ήπια σχετικά συμπτώματα, (144) ενώ οι φορείς της E46K μετάλλαξης εμφανίζουν βαρύ παρκινσονισμό, με νεαρή ηλικία έναρξης και άνοια με διάχυτα σωμάτια Lewy. (138)

Οι ποσοτικές μεταλλάξεις (πολλαπλασιασμοί) του γονιδίου SNCA, πιθανώς, είναι συχνότερες από τις σημειακές μεταλλάξεις, αφού 13 συνολικά οικογένειες έχουν περιγραφεί έως σήμερα με διπλασιασμούς και 3 οικογένειες με τριπλασιασμούς. (127,128,145-153) Μάλιστα, μία από τις οικογένειες που περιγράφηκαν με

τριπλασιασμό του γονιδίου SNCA αποτελούσε κλάδο μίας άλλης οικογένειας που έφερε διπλασιασμό του ίδιου γονιδίου. (147) Η βαρύτητα της κλινικής εικόνας φαίνεται να εξαρτάται από τον αριθμό των πολλαπλασιασμών. Έτσι, οι ασθενείς με τριπλασιασμό παρουσιάζουν πιο βαρύ φαινότυπο από αυτούς που φέρουν διπλασιασμό του γονιδίου, με νεαρότερη ηλικία έναρξης, βαρύτερα συμπτώματα και γρηγορότερη εξέλιξη. (147,152) Οι ασθενείς που φέρουν διπλασιασμό έχουν κλινική εικόνα τυπικής ιδιοπαθούς ΝΠ. (128,146) Διπλασιασμοί του γονιδίου SNCA έχουν ανιχνευτεί και σε σποραδικές περιπτώσεις ΝΠ. (154-156)

Η α-συνουκλεΐνη εντοπίστηκε για πρώτη φορά στον ανθρώπινο εγκέφαλο, ως η πρόδρομη πρωτεΐνη του μη-αμυλοειδικού συστατικού των αμυλοειδικών πλακών που απαντώνται στη ΝΑ. (157) Ανήκει σε μία οικογένεια πρωτεϊνών με μοριακό βάρος 15- έως 25- kDa, (158) από τις οποίες τρεις είναι γνωστές: η α-συνουκλεΐνη, η β-συνουκλεΐνη και η γ-συνουκλεΐνη, (159) οι οποίες εκφράζονται στον εγκέφαλο των ανθρώπων και των ποντικών. (160) Αν και οι τρεις συνουκλεΐνες έχουν αρκετές δομικές ομοιότητες, η α-συνουκλεΐνη είναι η μοναδική που περιέχει μία αμυλοειδική περιοχή (NAC domain), η οποία έχει ισχυρή τάση να συσσωρεύεται και να σχηματίζει αρχικά ενδιάμεσους ολιγομερείς σχηματισμούς ή πρωτοϊνίδια, και στη συνέχεια αδιάλυτα πολυμερή από ινίδια. (161) Η α-συνουκλεΐνη εντοπίζεται κυρίως στις προσυναπτικές νευρωνικές απολήξεις, (162) έτσι φαίνεται ότι παίζει ρόλο στη συναπτική μεταβίβαση. (163) Και οι τρεις σημειακές μεταλλάξεις που έχουν περιγραφεί στο γονίδιο της SNCA φαίνεται ότι προκαλούν λειτουργική μετατροπή της πρωτεΐνης (toxic gain of function), έτσι ώστε να ενισχύεται ο σχηματισμός τοξικών ολιγομερών, πρωτοϊνιδίων και ινιδίων. (164) Είναι λοιπόν πιθανό, τα σωμάτια Lewy να αντιπροσωπεύουν την προσπάθεια του κυττάρου να απομακρύνει την τοξική α-συνουκλεΐνη. (165) Η φυσιολογική, μη μεταλλαγμένη, α-συνουκλεΐνη μεταφέρεται εκλεκτικά στα λυσοσώματα για να αποδομηθεί, (166) έτσι η δυσλειτουργία του λυσοσωμιακού ενζύμου β-γλυκοσερεβροσιδάση, μεταλλάξεις του οποίου αποτελούν γνωστό παράγοντα κινδύνου για τη ΝΠ, επηρεάζει τα επίπεδα της α-συνουκλεΐνης. (167,168) Τέλος, είναι πιθανό, η α-συνουκλεΐνη να έχει ειδική δράση στους ντοπαμινεργικούς νευρώνες και να ρυθμίζει αρνητικά τη λειτουργία της υδροξυλάσης της τυροσίνης, του ενζύμου που ρυθμίζει τη σύνθεση της ντοπαμίνης, όπως και του μεταφορέα της ντοπαμίνης, που είναι υπεύθυνος για την επαναπρόσληψή της από τη συναπτική σχισμή. (169)

LRRK2 (PARK8)

Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο LRRK2 αποτελούν το συχνότερο γενετικό αίτιο της οικογενούς ΑΕΝΠ με προχωρημένη ηλικία έναρξης, αλλά και της σποραδικής ΝΠ. Η συχνότητά τους κυμαίνεται από 2% έως 40%, ανάλογα με την εθνικότητα του μελετώμενου πληθυσμού. (170-172) Κλινικά, οι ασθενείς με ΝΠ που φέρουν μετάλλαξη στο γονίδιο LRRK2 έχουν ήπια συμπτώματα, με έναρξη σε μέση ή μεγάλη ηλικία (συνήθως πάνω από 60 ετών) με ετερόπλευρο τρόμο, αργή εξέλιξη, καλή ανταπόκριση στη θεραπεία με λεβοντόπα και σπάνια άνοια. (173-175) Τα παθολογοανατομικά ευρήματα ποικίλουν, και μπορεί να χαρακτηρίζονται από σωμάτια Lewy (ή και από άλλα πρωτεϊνικά έγκλειστα που περιέχουν tau- ή ουμπικουΐνη), ή από αμιγή εκφύλιση της μέλαινας ουσίας χωρίς σωμάτια Lewy, με ή χωρίς νευροϊνιδιακά συμπλέγματα. (176) Η ανακάλυψη των μεταλλάξεων στο γονίδιο LRRK2 ήταν πιθανώς το σημαντικότερο βήμα για την κατανόηση των παθογενετικών μηχανισμών της ΝΠ μετά την ανακάλυψη της SNCA, καθώς, όπως προαναφέρθηκε, οι μεταλλάξεις αυτές είναι συχνές, και ανευρίσκονται σε ασθενείς με τυπική οικογενή ή σποραδική ΝΠ. Επειδή η πρώτη μετάλλαξη στο γονίδιο LRRK2 ανακαλύφθηκε σε μία οικογένεια Βάσκων, που εμφάνιζε τρόμο ως προεξάρχον σύμπτωμα, η παραγόμενη πρωτεΐνη ονομάστηκε «δαρδαρίνη» («dardarin»), από τη βάσκιχη λέξη «δαρδάρ» («dardara»), που σημαίνει τρόμος. (177)

Το LRRK2 είναι ένα μεγάλο γονίδιο που αποτελείται από 51 εξόνια. Εκφράζει μία κυτταροπλασματική πρωτεΐνη με το όνομα leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2), η οποία φέρει στο καρβοξυλικό άκρο της ένα τμήμα με δράση κινάσης. Έως σήμερα, έχουν αναφερθεί πάνω από 50 διαφορετικές παρανοηματικές και μη-νοηματικές (nonsense) μεταλλάξεις στο γονίδιο LRRK2, από τις οποίες οι 7 θεωρούνται παθογόνες (N1437H, R1441G/C/H, Y1699C, G2019S, και I2020T). (175,178,179) Η συχνότερη και καλύτερα μελετημένη από αυτές είναι η G2019S, που απαντάται στο 40% των ασθενών με ΝΠ Αραβικής καταγωγής, (171) περίπου στο 20% των ασθενών Εβραϊκής καταγωγής της φυλής Ασκενάζυ, (172) και στο 1%-7% των ασθενών με Ευρωπαϊκή καταγωγή. (180,181) Από τις υπόλοιπες μεταλλάξεις, η R1441G είναι πολύ συχνή σε Βάσκους, (182,183) και η I2020T σε Γιαπωνέζους ασθενείς. (184) Ενώ η μετάλλαξη G2019S φαίνεται να έχει μειωμένη διεισδυτικότητα, έως και 24%, η R1441 εμφανίζει μεγάλη διεισδυτικότητα (95% στην ηλικία των 75 ετών). (185) Είναι ενδιαφέρον, ότι, σε αντίθεση με το γονίδιο της SNCA, στο LRRK2 δεν έχουν παρατηρηθεί ποσοτικές μεταλλάξεις. Οι ασθενείς με ομόζυγες μεταλλάξεις στο γονίδιο LRRK2, κυρίως Άραβες από τη Βόρεια

Αφρική, έχουν παρόμοια κλινική εικόνα με τους ασθενείς που φέρουν ετερόζυγες μεταλλάξεις στο ίδιο γονίδιο. (186)

Εκτός από τις μεταλλάξεις που προαναφέρθηκαν, των οποίων η παρουσία αρκεί για να προκαλέσει ΝΠ, δύο συχνοί πολυμορφισμοί στο γονίδιο LRRK2, οι G2385R and R1628P, φαίνεται ότι αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου στους Ασιάτες. Μελέτες σε μεγάλους Ασιατικούς πληθυσμούς έδειξαν ότι ο πολυμορφισμός G2385R σχετίζεται με Σχετικό Κίνδυνο νόσησης ίσο με 2.55 (95% CI= 2.10, 3.10) στην Κίνα, Ταϊβάν και Ιαπωνία, (187-191) ενώ ο R1628P αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης της ΝΠ κατά δύο ή τρεις φορές στους Κινέζους της φυλής Χαν. (191-195)

Οι παθογενετικοί μηχανισμοί που οδηγούν στην εμφάνιση της ΝΠ που σχετίζεται με μεταλλάξεις στο γονίδιο LRRK2 είναι ακόμη αβέβαιοι. Η πρωτεΐνη LRRK2 είναι μία μεγάλη πρωτεΐνη με πολλές περιοχές κατάλληλες για πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις, συνεπώς είναι πιθανό, αλλαγές σε αυτές τις περιοχές να επηρεάζουν τη σχέση της LRRK2 με άλλες πρωτεΐνες, π.χ. με άγνωστες προς το παρόν ουσίες με τις οποίες μπορεί να σχηματίζει συμπλέγματα ή τις οποίες μπορεί να φωσφορυλιώνει. Επί πλέον, έχει αποδειχθεί ότι μερικές μεταλλάξεις, όπως οι G2019S και I2020T, επηρεάζουν τη λειτουργία της κινάσης της πρωτεΐνης του γονιδίου. (196,197)

VPS35 (PARK17)

Πρόσφατα η μετάλλαξη Asp620Asn στο γονίδιο VPS35 (vacuolar protein sorting 35) βρέθηκε να σχετίζεται με ΑΕΝΠ σε οικογένειες από την Ευρώπη. (198,199) Στη συνέχεια, η ίδια μετάλλαξη ανιχνεύτηκε και σε ασθενείς με οικογενή αλλά και σποραδική ιδιοπαθή ΝΠ διαφόρων εθνικοτήτων. (200) Σήμερα, το γονίδιο VPS35 θεωρείται ότι αποδεδειγμένα σχετίζεται με ΑΕΝΠ με φαινότυπο κλασσικής ιδιοπαθούς νόσου με προχωρημένη ηλικία έναρξης.

Άλλες μη επιβεβαιωμένες μορφές ΑΕΝΠ

Υπάρχουν μερικοί επιπλέον αυτοσωματικοί επικρατώντες γενετικοί τόποι και γονίδια, που αρχικά σχετίστηκαν με τη ΝΠ, ο αιτιολογικός τους ρόλος όμως δεν έχει επιβεβαιωθεί. Το γονίδιο **UCHL1** στον γενετικό τόπο PARK5 φάνηκε στην αρχή ένα καλό υποψήφιο γονίδιο για τη ΝΠ, καθώς κωδικοποιεί ένα ένζυμο που εντοπίζεται στα νευρικά κύτταρα και διασπά τα πολυμερή της ουμπικουΐνης σε μονομερή, και επίσης, ανευρίσκεται στα σωμάτια Lewy. Μία ετερόζυγη σημειακή μετάλλαξη εντοπίστηκε σε δύο πάσχοντα αδέρφια, (201) αλλά στη συνέχεια δεν επιβεβαιώθηκε σε άλλες οικογένειες.

(202) Ένας συχνός πολυμορφισμός στο γονίδιο UCHL1, ο S18Y, έχει συσχετιστεί με μειωμένο κίνδυνο ΝΠ σε αρκετές μελέτες αλλά και σε μία μετα-ανάλυση. (202-206)

Το μιτοχονδριακό ένζυμο **HTRA2** στον γενετικό τόπο PARK13, αποτελεί άλλο ένα υποψήφιο γονίδιο για τη ΝΠ, του οποίου η παθογενετική ικανότητα έχει υποστηριχθεί από *in vitro* και *in vivo* ερευνητικά δεδομένα. (207-209) Μία ετερόζυγη μετάλλαξη, η G399S, εντοπίστηκε σε τέσσερις Γερμανούς ασθενείς με σποραδική ΝΠ, αλλά στη συνέχεια βρέθηκε σε παρόμοια συχνότητα σε ασθενείς και άτομα ελέγχου σε άλλες μελέτες. Έτσι, είναι πιθανό, ότι η μετάλλαξη αυτή απλώς αποτελεί σπάνια γενετική παραλλαγή ειδική στον Γερμανικό πληθυσμό. (210,211) Παρομοίως, σε μία άλλη μελέτη, η υποκατάσταση A141S στο γονίδιο HTRA2 παρατηρήθηκε σε αυξημένη συχνότητα σε ασθενείς με ΝΠ, (212) αλλά το εύρημα αυτό δεν επιβεβαιώθηκε σε άλλες μελέτες. (210,211) Συμπερασματικά, ο ρόλος του γονιδίου HTRA2 στην αιτιολογία της ΝΠ δεν έχει ακόμη επιβεβαιωθεί.

Ο γενετικός τόπος PARK11, στο χρωμόσωμα 2q, βρέθηκε να σχετίζεται με τη ΝΠ σε μία μελέτη από τις ΗΠΑ, (213) αλλά δεν επιβεβαιώθηκε αργότερα σε οικογένειες με ΝΠ από την Ευρώπη. (214) Το γονίδιο **GIGYF2** προτάθηκε ως το υπεύθυνο γονίδιο στον γενετικό αυτόν τόπο. (215) Μελέτες σε μεγάλες σειρές ασθενών με σποραδική ή οικογενή ΝΠ διαφορετικής εθνικότητας, δεν εντόπισαν μεταλλάξεις στο GIGYF2 που να σχετίζονται με τη ΝΠ. (216-223) Παρ' όλα αυτά, μία πρόσφατη μελέτη εντόπισε εννέα καινούργιες γενετικές παραλλαγές στο γονίδιο αυτό, που πιθανά σχετίζονται με σποραδική ΝΠ σε ασθενείς από την Κίνα. (224) Συνολικά όμως, τα ερευνητικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι οι γενετικές παραλλαγές στο γονίδιο GIGYF2 δεν παίζουν σημαντικό ρόλο στη σποραδική ή οικογενή ΝΠ, τουλάχιστον στους πληθυσμούς που μελετήθηκαν.

Ένας άλλος επικρατών γενετικός τόπος, ο PARK3, ταυτοποιήθηκε στο χρωμόσωμα 2p13 σε μερικές μεγάλες οικογένειες με ΝΠ, αλλά το υπεύθυνο γονίδιο δεν έχει ακόμη εντοπιστεί. Είναι ενδιαφέρον ότι δύο ανεξάρτητες μελέτες υποστηρίζουν ότι ο PARK3 μπορεί να έχει ρυθμιστική δράση και να επηρεάζει την ηλικία έναρξης της ΝΠ. (225,226) Η έρευνα για πιθανά υποψήφια γονίδια στον PARK3 οδήγησε στο γονίδιο της ρεδοκτάσης της σεπιαπτερίνης (Sepiapterin Reductase, **SPR**), το οποίο ενέχεται στη σύνθεση της ντοπαμίνης. (227,228) Παρ' όλα αυτά, ο γενετικός αυτός τόπος μπορεί να περιέχει γονίδια που αυξάνουν απλά την προδιάθεση για την εμφάνιση τυπικής ΝΠ.

Τέλος, πιο πρόσφατα, μεταλλάξεις στο γονίδιο **EIF4G1** (eukaryotic translation initiation factor 4-gamma), το οποίο κωδικοποιεί ένα συστατικό του συμπλέγματος έναρξης της

μετάφρασης eIF4F, ανακοινώθηκε ότι μπορεί να προκαλούν ΑΕΝΠ, χωρίς όμως η παθογενετικότητά τους να έχει επιβεβαιωθεί. (229)

ΑΥΤΟΣΩΜΑΤΙΚΕΣ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΝΠ (ΑΥΝΠ)

Ομόζυγες ή διπλές ετερόζυγες (compound heterozygote) μεταλλάξεις στα υπολειπόμενα γονίδια Parkin (PARK2), PINK1 (PARK6), και DJ-1 (PARK7) έχει αποδειχθεί ότι αναμφισβήτητα προκαλούν κληρονομική ΝΠ, με έναρξη σε νεαρή ηλικία, καλή ανταπόκριση στη λεβοντόπα και, γενικά, χωρίς άτυπη συμπτωματολογία. Επίσης, ένα τέταρτο γονίδιο, το ATP13A2 (PARK9), το οποίο αρχικά συσχετίστηκε με ένα άτυπο πολυσυστηματικό σύνδρομο, είναι πιθανό να παίζει ρόλο σε σπάνιες περιπτώσεις ΝΕΝΠ. Πιο πρόσφατα, δύο επιπλέον γονίδια, τα PLAG26 και FBX07, βρέθηκε ότι σχετίζονται με αυτοσωματική υπολειπόμενη νόσο με σύνθετη συμπτωματολογία. Μέχρι σήμερα, τα γονίδια Parkin και PINK1, είναι αυτά που συχνότερα σχετίζονται με αυτοσωματική υπολειπόμενη ΝΕΝΠ (ΑΥΝΕΝΠ). Κληρονομικότητα φαινομενικά επικρατητική, γνωστή και ως «ψευδο-επικρατητική», έχει επίσης αναφερθεί σε υπολειπόμενα γονίδια, κυρίως σε ενδογαμικές (consanguineous) οικογένειες. (230-232) Τα περισσότερα υπολειπόμενα γονίδια προκαλούν είτε μη παραγωγή πρωτεΐνης είτε παραγωγή αδρανούς πρωτεΐνης, οδηγώντας έτσι σε απώλεια της λειτουργίας της.

Parkin (PARK2)

Το γονίδιο Parkin (PARK2) είναι το δεύτερο γονίδιο, μετά το γονίδιο SNCA, που βρέθηκε να σχετίζεται με τη ΝΠ, και το πρώτο που να προκαλεί αυτοσωματική υπολειπόμενη νόσο. Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο Parkin είναι το πιο συχνό αίτιο ΝΕΝΠ, καθώς απαντώνται σε συχνότητα 10-20% των ασθενών με ΝΕΝΠ παγκοσμίως, 50% των ασθενών με οικογενή υπολειπόμενη ΝΕΝΠ, και 15% των σποραδικών ασθενών με ΝΕΝΠ στην Ευρώπη. (233,234) Μεταλλάξεις στο γονίδιο Parkin έχουν ανιχνευτεί σε οικογένειες διαφόρων εθνικοτήτων. (235) Παρ' όλα αυτά, η συχνότητά τους μειώνεται σημαντικά όσο αυξάνεται η ηλικία έναρξης της νόσου. Έτσι, ενώ απαντώνται σε 80% των ασθενών με ηλικία έναρξης νεότερη από 20 ετών, είναι πολύ σπάνιες σε αυτούς με έναρξη μεγαλύτερη από 50 ετών. (233,234,236)

Εξονικά ελλείμματα (deletions) στο γονίδιο Parkin αναφέρθηκαν για πρώτη φορά σε οικογένειες από την Ιαπωνία με ΑΥΝΕΝΠ (έναρξη συχνά σε ηλικία νεότερη των 20 ετών). (116) Οι ασθενείς αυτοί είχαν πολύ καλή ανταπόκριση στη θεραπεία με

λεβοντόπα, αλλά εμφάνιζαν συχνά δυσκινησίες. Από τότε, έχουν ταυτοποιηθεί περισσότερες από 170 διαφορετικές μεταλλάξεις κατά μήκος αυτού του ιδιαίτερα μεγάλου γονιδίου (1.35 Mb), συμπεριλαμβανομένων μεγάλων ελλειμμάτων ή πολλαπλασιασμών, μικρών ελλειμμάτων ή προσθηκών (insertions), και παρανοηματικών μεταλλάξεων. (237) Οι ασθενείς με μεταλλάξεις στο γονίδιο Parkin έχουν παρόμοιο φαινότυπο με τους ασθενείς με σποραδική ΝΠ, αλλά εμφανίζουν μερικά ιδιαίτερα κλινικά χαρακτηριστικά: εκτός από έναρξη σε νεότερη ηλικία, έχουν περισσότερο συμμετρική προσβολή, συχνή εμφάνιση δυστονίας ως πρώτης εκδήλωσης, επίταση τενοντίων αντανακλαστικών, σχετικά ήπια και αργή εξέλιξη, βελτίωση της συμπτωματολογίας με τον ύπνο, καλύτερη ανταπόκριση στη λεβοντόπα, αλλά και πρώιμη εμφάνιση κινητικών επιπλοκών (διακυμάνσεων και δυσκινησιών). (238-240) Έχουν επίσης αναφερθεί πυραμιδικά και παρεγκεφαλιδικά σημεία, όπως και ψυχιατρικά συμπτώματα, ενώ η εμφάνιση άνοιας και δυσαυτονομίας φαίνεται ότι είναι σπάνια. (238,240)

Παθολογοανατομικά, οι μεταλλάξεις στο γονίδιο Parkin χαρακτηρίζονται από σημαντική απώλεια των ντοπαμινεργικών νευρώνων της μέλαινας ουσίας του στελέχους και μικρότερη απώλεια των νευρώνων στον υπομέλανα τόπο, συχνά χωρίς σωματίδια Lewy. (241) Από λειτουργική άποψη, η πρωτεΐνη Parkin είναι μέλος μίας οικογένειας E3 λιγκασών της ουμπικουϊτίνης, που είναι υπεύθυνες για τη μεταφορά των ενεργοποιημένων μορίων ουμπικουϊτίνης προς τα πρωτεϊνικά υποστρώματα στο πρωτεάσωμα. (242) Η διαδικασία αυτή μπορεί να έχει διάφορες λειτουργικές συνέπειες, όπως την πρωτεασωμική αποδόμηση της τροποποιημένης πρωτεΐνης. Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο Parkin πιστεύεται ότι μειώνουν την λειτουργία της λιγκάσης της ουμπικουϊτίνης, με αποτέλεσμα την ανεπαρκή απομάκρυνση των πρωτεϊνών και τη συσσώρευσή τους. (242)

PINK1 (PARK6)

Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο PINK1 (phosphatase and tensin homolog (PTEN)-induced putative kinase 1) είναι το δεύτερο συχνότερο αίτιο ΑΥΝΕΝΠ. Η συχνότητά τους κυμαίνεται από 1%-9%, με σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των διαφόρων εθνικοτήτων. (117,243-247) Επίσης, οι μεταλλάξεις στο γονίδιο PINK1 αποτελούν σπάνιο αίτιο σποραδικής ΝΕΝΠ. (248,249) Είναι ενδιαφέρον, ότι, αντίθετα με το Parkin, η πλειοψηφία των μεταλλάξεων που έχουν αναφερθεί στο PINK1 είναι παρανοηματικές ή μη-νοηματικές και μόνο λίγες οικογένειες έχουν αναφερθεί με ελλείμματα ολόκληρων

εξονίων ή ολόκληρου του γονιδίου. (247,250-252) Η πιο συνηθισμένη μετάλλαξη είναι η p.Q456X.

Ο φαινότυπος των ασθενών με μεταλλάξεις στο γονίδιο PINK1 είναι σε γενικές γραμμές παρόμοιος με αυτόν των ασθενών με μεταλλάξεις στα γονίδια Parkin ή DJ-1, παρ' όλο που οι ασθενείς με μεταλλάξεις σε αυτό το γονίδιο τείνουν να έχουν καλύτερη ανταπόκριση στη λεβοντόπα και ηπιότερη νόσο, με μεγαλύτερη διάρκεια. (253) Είναι αξιοσημείωτο ότι η δυστονία ως πρώτη εκδήλωση της νόσου και η επίταση των τενοντίων αντανακλαστικών, που αρχικά θεωρήθηκαν τυπικές εκδηλώσεις των ασθενών με μεταλλάξεις Parkin, φαίνεται ότι είναι το ίδιο συχνές και στους ασθενείς με μεταλλάξεις PINK1. Οι τελευταίοι φαίνεται όμως ότι εμφανίζουν συχνότερα ψυχιατρικές διαταραχές. (254,255)

Η πρωτεΐνη PINK1 είναι μία κινάση που αποτελείται από ένα αμινικό άκρο με μιτοχονδριακό υποδοχέα, μία περιοχή κινάσης σερίνης-θρεονίνης και από μία αυτορυθμιστική περιοχή με καρβοξυλικό άκρο. Είναι ενδιαφέρον, ότι οι πρωτεΐνες PINK1 and Parkin δρουν σε ένα κοινό μονοπάτι, με στόχο τον εντοπισμό και την εκλεκτική απομάκρυνση των κατεστραμμένων μιτοχονδρίων από το μιτοχονδριακό δίκτυο. (256) Τα παραπάνω υποστηρίζουν την υπόθεση ότι η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και το οξειδωτικό στρες μπορεί να παίζουν ρόλο στην παθογένεση της ΝΠ. Μερικές μεταλλάξεις στο γονίδιο PINK1 αποσταθεροποιούν την παραγόμενη πρωτεΐνη, ενώ άλλες μπορεί να μειώνουν τη δράση της κινάσης. (257)

DJ-1 (PARK7)

Το DJ-1 είναι το τρίτο γονίδιο που σχετίστηκε με ΑΥΝΠ. Μεταλλάξεις σε αυτό απαντώνται σε περίπου 1%-2% των ασθενών με ΝΕΝΠ. (258) Οι πρώτες μεταλλάξεις στο γονίδιο DJ-1 ανιχνεύτηκαν σε δύο ενδογαμικές οικογένειες από την Ολλανδία και την Ιταλία, και επρόκειτο για ένα μεγάλο ομόζυγο έλλειμμα και μία ομόζυγη παρανοηματική μετάλλαξη, τη L166P. (259) Έως σήμερα, έχουν περιγραφεί 10 διαφορετικές σημειακές μεταλλάξεις και εξονικά ελλείμματα, κυρίως σε ομόζυγη ή διπλή ετερόζυγη κατάσταση. Ο φαινότυπος που σχετίζεται με μεταλλάξεις στο γονίδιο DJ-1, μοιάζει αρκετά με αυτόν των ασθενών με μεταλλάξεις στα γονίδια Parkin ή PINK1, με έναρξη της νόσου σε νεαρή ηλικία και αργή εξέλιξη.

Η πρωτεΐνη DJ-1 ανήκει στην οικογένεια των μοριακών σαππερονών, που παράγονται κατά τη διάρκεια του οξειδωτικού στρες. Κατά την παρουσία οξειδωτικού στρες, αυτή

μεταφέρεται από το κυτταρόπλασμα στην εξωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη, και θεωρείται ότι παίζει ρόλο στη νευροπροστασία. (260) Η μετάλλαξη L166P αποσταθεροποιεί την πρωτεΐνη, προκαλώντας ταχεία αποδόμησή της στο πρωτεάσωμα, πιθανώς επηρεάζοντας τον νευροπροστατευτικό μηχανισμό. (261-263)

ATP13A2 (PARK9)

Ομόζυγες και διπλές ετερόζυγες μεταλλάξεις στο γονίδιο ATP13A2 βρέθηκαν να προκαλούν μία άτυπη μορφή ΑΥΝΠ, γνωστή ως σύνδρομο Kufor-Rakeb. (264) Το σύνδρομο αυτό έχει έναρξη σε εφηβική ηλικία και χαρακτηρίζεται από παρκινσονισμό με ανταπόκριση στη λεβοντόπα, ταχεία εξέλιξη, υπερπυρηνική παράλυση του βλέμματος, πυραμιδικά σημεία, άνοια και προοδευτική εγκεφαλική ατροφία. (265,266) Έχουν, επίσης, περιγραφεί μονήρεις, ετερόζυγες παρανοηματικές μεταλλάξεις σε ασθενείς με πιο τυπική ΝΠ, αλλά ο ρόλος των μεταλλάξεων αυτών στην παθογένεια της ΝΠ είναι προς το παρόν αβέβαιος. (267-269) Έως σήμερα, δεν έχουν περιγραφεί ποσοτικές μεταλλάξεις, δηλαδή ελλείμματα εξονίων, ή ελλείμματα και πολλαπλασιασμοί ολόκληρου του γονιδίου. Πρόσφατες γενετικές μελέτες συσχέτισης έδειξαν ότι γενετικές παραλλαγές στο γονίδιο αυτό δεν παίζουν ρόλο στην εμφάνιση της ιδιοπαθούς ΝΠ. (270,271)

Το γονίδιο ATP13A2 κωδικοποιεί μία μεγάλη διαμεμβρανική πρωτεΐνη με πιθανή δράση ΑΤΡάσης, που βρίσκεται στα λυσοσώματα, συνδέοντας έτσι την ανώμαλη λυσοσωμιακή λειτουργία με τη νευροεκφύλιση. (264) Λειτουργικές μελέτες αποδεικνύουν ότι η φυσιολογική πρωτεΐνη ATP13A2 βρίσκεται στη μεμβράνη των λυσοσωμάτων, ενώ η ασταθής μεταλλαγμένη πρωτεΐνη διατηρείται στο ενδοπλασματικό δίκτυο και αποδομείται από το πρωτεάσωμα. (264) Η ακριβής λειτουργία αυτής της πρωτεΐνης παραμένει άγνωστη, αλλά είναι ενδιαφέρον, ότι τα επίπεδα του mRNA του γονιδίου ATP13A2 στη μέλαινα ουσία ασθενών με κλασική ΝΠ ήταν 10 φορές υψηλότερα από αυτά στους εγκεφάλους μη πασχόντων από ΝΠ. (264)

Άλλα υπολειπόμενα γονίδια με σύνθετη συμπτωματολογία

Ο έλεγχος για μεταλλάξεις σε δύο μη συγγενικές οικογένειες με υπολειπόμενο παρκινσονισμό ενήλικης έναρξης και δυστονία με ανταπόκριση στη λεβοντόπα οδήγησε στον εντοπισμό ομόζυγων μεταλλάξεων στο γονίδιο **PLA2G6** (phospholipase A2) στον γενετικό τόπο PARK14. (272) Μεταλλάξεις στο γονίδιο αυτό ήταν γνωστό ότι προκαλούν βρεφική νευροαξονική δυστροφία (infantile neuroaxonal dystrophy: INAD) και

νευροεκφύλιση με εγκεφαλική εναπόθεση σιδήρου (neurodegeneration with brain iron accumulation: NBIA). (273,274) Παρ' όλα αυτά, δεν ανιχνεύθηκαν μεταλλάξεις στο γονίδιο αυτό σε ασθενείς με NENΠ που ελέγχθηκαν για μεταλλάξεις στο γονίδιο PANK2, το οποίο προκαλεί pantothenate kinase-associated neurodegeneration (PKAN) (275), επίσης γνωστή ως NBIA τύπου 1. (276)

Η ανάλυση ολόκληρου του γονιδιώματος που έγινε σε μία μεγάλη οικογένεια από το Ιράν με ένα σπάνιο αυτοσωματικό υπολειπόμενο παρκινσονικό-πυραμιδικό σύνδρομο εντόπισε μία ομόζυγη μετάλλαξη στο γονίδιο F-box protein 7 (**FBXO7**), στο χρωμόσωμα 22, στο PARK15. (277) Η πρωτεΐνη FBXO7 ανήκει στην οικογένεια των F-box πρωτεϊνών, που συμμετέχουν στην πρωτεϊνική αποδόμηση μέσω του συστήματος της ουμπικουϊίνης-πρωτεασώματος. (277,278) Επίσης, ομόζυγες και διπλές ετερόζυγες μεταλλάξεις στο γονίδιο αυτό βρέθηκαν σε οικογένειες από την Ιταλία και την Ολλανδία, που εμφανίζουν ένα αυτοσωματικό υπολειπόμενο παρκινσονικό-πυραμιδικό σύνδρομο με νεαρή έναρξη. (279)

ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ

(Γονίδια που αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης ΝΠ, Susceptibility genes)

Παρά την ανακάλυψη ολοένα και μεγαλύτερου αριθμού γονιδιακών μεταλλάξεων που σχετίζονται με τη ΝΠ, αυτές ευθύνονται για τις σπάνιες μονογονιδιακές μορφές της νόσου και δε φαίνονται αρκετές να εξηγήσουν την κοινή ιδιοπαθή ΝΠ, μια σύνθετη νόσο που φαίνεται ότι οφείλεται στην αλληλεπίδραση πολλαπλών γενετικών και μη-γενετικών παραγόντων. Εκτός λοιπόν από τις μεταλλάξεις που προαναφέρθηκαν, υπάρχουν μερικές γενετικές παραλλαγές σε ορισμένα γονίδια, που, ενώ δεν αρκούν από μόνες τους να προκαλέσουν νόσο, αποτελούν προδιαθεσικούς παράγοντες και αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης της ΝΠ δρώντας πιθανώς σε συνδυασμό με άλλους γενετικούς ή περιβαλλοντικούς παράγοντες. Τυπικά, οι παραλλαγές αυτές είναι συχνότερες και ο προκαλούμενος κίνδυνος για την εμφάνιση ΝΠ μικρότερος σε σύγκριση με τις υψηλής διεισδυτικότητας μεταλλάξεις. Έως σήμερα, έχει δημοσιευτεί μεγάλος αριθμός Μελετών Συσχέτισης (Association Studies), μελετών δηλαδή που έχουν ως στόχο τον εντοπισμό τέτοιων προδιαθεσικών γενετικών παραλλαγών. (280) Πιο πρόσφατα, η πρόοδος της τεχνολογίας έχει επιτρέψει την πραγματοποίηση τέτοιων μελετών σε ολόκληρο το γονιδίωμα, έτσι οι genome-wide association studies (GWAS) αποτελούν πλέον ένα πολύ σημαντικό εργαλείο για τον εντοπισμό προδιαθεσικών γενετικών παραγόντων. Οι μελέτες αυτές πραγματοποιούνται σε μεγάλους αριθμούς ασθενών και ατόμων ελέγχου,

και είναι έτσι ικανές να εντοπίσουν αλληλία με μικρή διεισδυτικότητα που δεν μπορούν να ανιχνευτούν με μελέτες σύνδεσης (linkage). Έως σήμερα, γενετικές παραλλαγές σε αρκετά PARK- (SNCA, UCHL1, LRRK2, PARK 16) αλλά και άλλα γονίδια (MAPT, GBA, NAT2, INOS2A, GAK, HLA-DRA, RIT2, ACMSD, STK39, MCCC1/LAMP3, SYT11, CCDC62/HIP1R και APOE) έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΝΠ, είτε μέσω GWAS, (281-291) είτε μέσω μελετών σε λειτουργικά υποψήφια γονίδια. Είναι ενδιαφέρον, ότι παραλλαγές στο γονίδιο SNCA έχουν επανειλημμένα αποδειχθεί να βρίσκονται ανάμεσα στους πιο σημαντικούς προδιαθεσικούς παράγοντες για τη ΝΠ, με τους πολυμορφισμούς G2385R και R1628P στο γονίδιο LRRK2 να ακολουθούν αμέσως μετά. Εκτός από τα γονίδια SNCA και LRRK2, που μπορούν να προκαλούν μονογονιδιακή νόσο αλλά και να δρουν και ως παράγοντες κινδύνου, ιδιαίτερης προσοχής αξίζει το γονίδιο της β-γλυκοσερεβροσιδάσης (GBA), το οποίο αποτελεί έναν σημαντικό, καλά μελετημένο προδιαθεσικό παράγοντα για τη ΝΠ.

β-γλυκοσερεβροσιδάση (GBA)

Το γονίδιο GBA κωδικοποιεί ένα λυσοσωμιακό ένζυμο, τη β-γλυκοσερεβροσιδάση, που παίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό των γλυκολιπιδίων. Ομόζυγες ή διπλές ετερόζυγες μεταλλάξεις στο γονίδιο αυτό οδηγούν σε συσσώρευση της γλυκοσερεβροσιδής, προκαλώντας έτσι την εκδήλωση της νόσου Gaucher, η οποία χαρακτηρίζεται από σωρεία συμπτωμάτων από το συκώτι, αίμα, μυελό των οστών, σπλήνα, πνεύμονες και το νευρικό σύστημα. (292) Η νόσος Gaucher είναι ιδιαίτερα συχνή ανάμεσα στους Εβραίους της φυλής Ασκενάζυ. Η παρουσία παρκινσονισμού ανάμεσα στις νευρολογικές εκδηλώσεις της νόσου, αλλά και η εύρεση σωματίων Lewy σε ασθενείς με νόσο Gaucher, οδήγησε στην αναζήτηση μεταλλάξεων στο γονίδιο GBA σε ασθενείς με ΝΠ. Η πρώτη ένδειξη της συσχέτισης μεταξύ της νόσου Gaucher και της ΝΠ προήλθε από παθολογοανατομικές μελέτες, στις οποίες βρέθηκε ότι η συχνότητα των μεταλλάξεων στο γονίδιο GBA στους εγκεφάλους ασθενών με ΝΠ, ειδικά σε αυτούς με νεαρότερη έναρξη, ήταν μεγαλύτερη σε σχέση με αυτή στους εγκεφάλους χωρίς ευρήματα ΝΠ. (293) Επί πλέον, μη πάσχοντες συγγενείς ασθενών με νόσο Gaucher, οι οποίοι έφεραν ετερόζυγες μεταλλάξεις στο γονίδιο GBA, είχαν αυξημένη επίπτωση ΝΠ. (294,295) Έτσι, οι μεταλλάξεις στο γονίδιο GBA βρέθηκε ότι αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης ΝΠ, (296-297) ιδιαίτερα στους Εβραίους της φυλής Ασκενάζυ, όπου η συχνότητά τους είναι 31% σε ασθενείς με ΝΠ έναντι 6% στα άτομα ελέγχου. (298) Μία μεγάλη πολυκεντρική μελέτη σε 5.691 ασθενείς και 4.898 άτομα ελέγχου ανέφερε OR=

5.43 (95% CI= 3.89, 7.57) συνολικά για μεταλλάξεις στο γονίδιο GBA σε ασθενείς με ΝΠ σε σχέση με τα άτομα ελέγχου. (299) Στην ίδια μελέτη, μεταλλαγμένα GBA αλληλία έφεραν 19.6% των Εβραίων ασθενών της φυλής Ασκενάζυ και 6.9% των μη-Εβραίων ασθενών με ΝΠ. Η ηλικία έναρξης βρέθηκε να είναι μικρότερη στους ασθενείς που έφεραν GBA μετάλλαξη έναντι αυτών χωρίς GBA μετάλλαξη. (299)

Ετερόζυγες μεταλλάξεις στο ίδιο γονίδιο έχουν επίσης ανιχνευτεί σε ασθενείς με Άνοια με σωμάτια Lewy. (300,301) Έτσι, ο φαινότυπος των ασθενών που φέρουν μία GBA μετάλλαξη κυμαίνεται από τυπική ΝΕΝΠ με ανταπόκριση στη λεβοντόπα, έως Άνοια με σωμάτια Lewy. Οι περισσότερες μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία υποστηρίζουν ότι η παρουσία ενός ή δύο μεταλλαγμένων αλληλίων GBA είναι ο συνηθέστερος προδιαθεσικός γενετικός παράγοντας για την ανάπτυξη μίας α-συνουκλειϊνοπάθειας, ειδικά ΝΕΝΠ (302-304) ή νοσημάτων με σωμάτια Lewy. (305-308) Μία μεγάλη μετα-ανάλυση δεδομένων από 16 διαφορετικά κέντρα στις ΗΠΑ, Ευρώπη, Ισραήλ και Ασία, όπως και η μεγαλύτερη μελέτη ανάλυσης αλληλουχίας DNA (sequencing) του γονιδίου GBA στη Γαλλία, αδιαμφισβήτητα επιβεβαιώνουν τη σημασία των ετερόζυγων GBA μεταλλάξεων στην προδιάθεση για ΝΠ. (309,310)

Ο μηχανισμός με τον οποίο οι μεταλλάξεις στο γονίδιο GBA εξασκούν την παθογόνο δράση τους ή αυξάνουν την προδιάθεση για ΝΠ δεν είναι ακόμη γνωστός. Έχει πιθανολογηθεί ότι μπορεί να επιδρούν στη λειτουργία των λυσοσωματίων, στον μεταβολισμό των κεραμιδίων, στο σύστημα του πρωτεασώματος ή στον μεταβολισμό των λιπιδίων, σε σχέση με την αποδόμηση της α-συνουκλειΐνης. (311)

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΗΝ ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΝΠ

Παρά το γεγονός ότι γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες έχουν ενοχοποιηθεί στην αιτιολογία της ΝΠ, τα δεδομένα για το ρόλο της αλληλεπίδρασής τους στον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου είναι πολύ περιορισμένα.

Ένα γονίδιο που έχει μελετηθεί σε σχέση με την κατανάλωση του καφέ είναι το APOE, εξαιτίας του ρόλου του στη ΝΑ. Μία μετα-ανάλυση 40 μελετών έδειξε ελαφρά αυξημένο κίνδυνο ΝΠ για το αλληλίο ε2 έναντι του ε3 (OR= 1.14, 95% CI= 1.03, 1.27), αλλά καμία συσχέτιση για το αλληλίο ε4 που ενέχεται στη ΝΑ. (312) Μία άλλη μελέτη διερεύνησε την αλληλεπίδραση μεταξύ του γονιδίου APOE και της κατανάλωσης καφέ και βρήκε ότι η αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της ΝΠ και της κατανάλωσης καφέ ήταν πιο έντονη στους φορείς του ε2 αλληλίου. (313)

Το γονίδιο CYP2D6 κωδικοποιεί ένα ένζυμο που μεταβολίζει ξενοβιοτικές ουσίες, κυρίως οργανοφωσφορικά φυροφάρμακα και το MPTP. Τα αποτελέσματα από 35 μελέτες υποστηρίζουν ότι η ύπαρξη ενός αλληλίου, που σχετίζεται με τον φαινότυπο του αργού μεταβολίτη, σε ομόζυγη κατάσταση, αυξάνει τον κίνδυνο της ΝΠ (OR= 1.13, 95% CI= 1.01, 1.25). (312) Παρομοίως, μία γαλλική μελέτη ανέφερε ότι ο κίνδυνος για ΝΠ, σε σχέση με την επαγγελματική έκθεση σε φυτοφάρμακα, ήταν πάνω από τον διπλάσιο για τα άτομα που ήταν αργοί μεταβολίτες, αλλά εξισωνόταν με τον κίνδυνο που είχαν τα άλλα άτομα, όταν απουσίαζε η έκθεση σε φυτοφάρμακα. (314) Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξε μία μελέτη από την Αυστραλία, (315) αλλά μία Πανευρωπαϊκή πολυκεντρική μελέτη είχε αντίθετα ευρήματα. (316)

Μία μετα-ανάλυση 27 μελετών πάνω σε μία γενετική παραλλαγή του γονιδίου MAPT (microtubule-associated protein tau), στο οποίο οφείλεται το σύνδρομο της Μετωποκροταφικής Άνοιας με Παρκινσονισμό (FTDP), (317) κατέληξε σε OR= 0.76 (95% CI= 0.71, 0.81) σε σχέση με τη ΝΠ. (312) Μία άλλη μελέτη, που διερεύνησε τις πιθανές γενετικές-περιβαλλοντολογικές αλληλεπιδράσεις για αυτήν την παραλλαγή, δεν κατέδειξε κάποια αλληλεπίδραση με το κάπνισμα ή τον καφέ. (318) Οι GWAS που διενεργήθηκαν στην Ευρώπη ανέφεραν ισχυρή συσχέτιση της ΝΠ με το γονίδιο MAPT, (319) αλλά το εύρημα αυτό δεν επιβεβαιώθηκε σε GWAS από την Ιαπωνία, (320) γεγονός που αποδεικνύει την ύπαρξη γενετικής ετερογένειας μεταξύ των πληθυσμών.

Μία άλλη μετα-ανάλυση από 28 μελέτες βρήκε ότι ένας πολυμορφισμός στο φυλοσύνδετο γονίδιο της MAO-B (monoamine oxidase B) αυξάνει τον κίνδυνο της ΝΠ

(OR= 1.10, 95% CI= 1.01, 1.20). (312) Μία αλληλεπίδραση αυτού του πολυμορφισμού με το κάπνισμα υποστηρίχθηκε από δύο μελέτες να σχετίζεται με τη ΝΠ, (321,322) αλλά όχι από μία τρίτη. (323)

Στο μέλλον, οι μελέτες για την αιτιολογία της ΝΠ μπορούν να βελτιωθούν, συλλέγοντας πληροφορίες για περιβαλλοντικές εκθέσεις σε συνδυασμό με την ύπαρξη γενετικών πολυμορφισμών σε σχετικά γονίδια, για δείγματα ικανού αριθμού ατόμων για την ανίχνευση πιθανών αλληλεπιδράσεων. Τέτοια γονίδια ενδιαφέροντος είναι, μεταξύ άλλων, τα γονίδια που ενέχονται στον μεταβολισμό των τοξινών, όπως είναι τα γονίδια CYP. Έτσι, μία πρόσφατη GWAS σε 18176 άτομα με περαιτέρω επιβεβαίωση των ευρημάτων σε επιπλέον 7929 άτομα, διαπίστωσε συσχέτιση μεταξύ των γονιδίων CYP1A1 και CYP1A2 και του NRCAM με την κατανάλωση του καφέ. (324) Το γονίδιο CYP1A1 μεταβολίζει πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες, οι οποίοι αποτελούν σημαντικό συστατικό του καφέ, ενώ το CYP1A2 ενέχεται στον πρωτογενή μεταβολισμό της καφεΐνης. Όπως προαναφέρθηκε, ένα αλληλίο του συγγενικού γονιδίου CYP2D6 έχει συσχετιστεί με τη ΝΠ. (312,314,315) Το NRCAM είναι ένα γονίδιο που σχετίζεται γενικά με την επιρρέπεια στην εξάρτηση. Σε μία άλλη GWAS (genome-wide association and interaction study) σε 1458 άτομα με ΝΠ και 931 χωρίς ΝΠ, μία παραλλαγή στο γονίδιο GRIN2A βρέθηκε να αυξάνει τον κίνδυνο της ΝΠ στα άτομα που κάνουν βαριά κατανάλωση καφέ, έναντι αυτών με ελαφριά κατανάλωση καφέ. (325) Το γονίδιο GRIN2A κωδικοποιεί μία υπομονάδα του NMDA γλουταμινεργικού υποδοχέα και ρυθμίζει την ερεθιστική νευροδιαβίβαση στον εγκέφαλο.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΒΑΣΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ ΠΑΡΚΙΝΣΟΝ ΣΤΙΣ ΚΥΚΛΑΔΕΣ

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΒΑΣΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ ΠΑΡΚΙΝΣΟΝ ΣΤΙΣ ΚΥΚΛΑΔΕΣ

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ – ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ

Σκοπός της διατριβής αυτής είναι η διερεύνηση του ρόλου των γενετικών παραγόντων στην αιτιολογία της ΝΠ στις Κυκλάδες. Για τον σκοπό αυτό, διεξήγαμε δύο παράλληλες μελέτες: α) μία επιδημιολογική μελέτη Οικογενειακής Συνάθροισης της ΝΠ στη Σύρο, και β) μία Γενετική μελέτη, κατά την οποία αναλύσαμε ασθενείς με ΝΠ και άτομα ελέγχου από τις Κυκλάδες για την ύπαρξη μεταλλάξεων και άλλων γενετικών παραλλαγών σε γνωστά γονίδια που σχετίζονται με τη νόσο.

ΜΕΛΕΤΗ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΗΣ ΣΥΝΑΘΡΟΙΣΗΣ ΤΗΣ ΝΠ ΣΤΗ ΣΥΡΟ

Εισαγωγή: Όπως αναφέραμε στο Γενικό Μέρος, μία από τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την απόδειξη της γενετικής αιτιολογίας μιας νόσου είναι οι μελέτες οικογενειακής συνάθροισης. Η διαπίστωση ότι οι συγγενείς ενός πάσχοντος ατόμου έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να πάσχουν από τη νόσο από τους συγγενείς ενός μη πάσχοντος ατόμου είναι ένα στοιχείο υπέρ της συμμετοχής γενετικών παραγόντων στην αιτιολογία της. Ένα μειονέκτημα των μελετών αυτών είναι ότι κοινοί περιβαλλοντικοί παράγοντες μέσα σε μία οικογένεια, ειδικά όταν αυτοί επιδρούν σε νεαρή ηλικία, μπορεί να οδηγήσουν σε παρόμοια ευρήματα.

Αντικείμενο και σκοπός της μελέτης: Διεξήγαμε μία case-control επιδημιολογική μελέτη οικογενειακής συνάθροισης της ΝΠ στη Σύρο, με σκοπό να διερευνήσουμε τη γενετική βάση της νόσου στο νησί. Καθώς η Σύρος είναι ένα μικρό, απομονωμένο γεωγραφικά μέρος με 21.500 κατοίκους (απογραφή του 2011), του οποίου οι κάτοικοι μοιράζονται το ίδιο περιβάλλον, συνήθειες και πολιτισμικά χαρακτηριστικά, η διαπίστωση οικογενειακής συνάθροισης της ΝΠ στη Σύρο είναι πιθανότερο να οφείλεται σε γενετικούς παρά περιβαλλοντικούς παράγοντες.

Πληθυσμός της μελέτης – Μέθοδοι: Ασθενείς με ΝΠ. Στη μελέτη μας συμπεριλάβαμε μόνο ασθενείς με καταγωγή από τη Σύρο, τους οποίους συγκεντρώσαμε από το εξωτερικό νευρολογικό ιατρείο του Γενικού Νοσοκομείου Σύρου προοπτικά, μέσα σε διάστημα 2 ετών (2007-2009). Παρ' όλο που η προέλευση των ασθενών μας ήταν νοσοκομειακή, η μελέτη μας έχει χαρακτήρες περισσότερο μελέτης κοινότητας (community study) ή πληθυσμιακής μελέτης (population-based study), καθώς το Νοσοκομείο Σύρου είναι το μοναδικό Νοσοκομείο του νησιού, και το εξωτερικό

νευρολογικό ιατρείο ή μοναδική ιατρική υπηρεσία που μπορούν να απευθύνονται οι ασθενείς με νευρολογικά προβλήματα. Έτσι, ο πληθυσμός των ασθενών με ΝΠ που εξετάζονται σε αυτό είναι πλήρως αντιπροσωπευτικός, αν όχι σχεδόν ταυτόσημος, του συνολικού πληθυσμού των ασθενών με ΝΠ στη Σύρο. Η διάγνωση της ΝΠ στους ασθενείς έγινε κλινικά, με βάση την κλινική εμπειρία του εξετάζοντος και συγγραφέα της διατριβής (ΜΜ), και δημοσιευμένα κλινικά κριτήρια. (16) Εξαιρέθηκαν ασθενείς με δευτεροπαθή παρκινσονισμό, άτυπα παρκινσονικά σύνδρομα, και αυτοί που εμφάνιζαν άνοια προ της εμφάνισης του παρκινσονισμού.

Άτομα ελέγχου. Τα άτομα ελέγχου απετέλεσαν οι σύζυγοι των ασθενών, αλλά και άλλα άτομα που εξετάστηκαν στο νευρολογικό ιατρείο ή νοσηλεύτηκαν στο Νοσοκομείο εκείνη την περίοδο (2007-2009). Όλα είχαν καταγωγή από τη Σύρο, δεν είχαν διάγνωση ΝΠ και δεν εμφάνιζαν κλινικά σημεία παρκινσονισμού. Επίσης, προϋπόθεση ήταν να μην πάσχουν από άνοια ώστε να μπορούν να συνεργαστούν και να δώσουν όσο το δυνατόν πιο αξιόπιστες πληροφορίες για το οικογενειακό τους ιστορικό. Όπως και οι ασθενείς, έτσι και τα άτομα ελέγχου ήταν αντιπροσωπευτικά του πληθυσμού του νησιού.

Μέθοδοι. Ακολουθήσαμε έναν συνδυασμό Family History και Family Study method, καθώς, για την εκτίμηση του οικογενειακού ιστορικού, στηριχθήκαμε κυρίως στις πληροφορίες που έδιναν με απευθείας συνέντευξη οι ασθενείς (ή οι πιο κοντινοί τους συγγενείς, αν αυτοί έπασχαν από άνοια) ή τα άτομα ελέγχου (Family History method). Επιπλέον όμως, μπορέσαμε να εξετάσουμε κλινικά ένα μέρος των ζώντων συγγενών. (Family Study method) Πιο συγκεκριμένα, σε πρώτη φάση, ζητήσαμε από κάθε συμμετέχοντα στη μελέτη να απαριθμήσει όλους τους συγγενείς α' βαθμού (γονείς και αδέρφια). Για όσους από τους συγγενείς του δεν μπορέσαμε να εξετάσουμε κλινικά, του ζητήσαμε να απαντήσει σε μια σειρά ερωτήσεων για κάθε έναν ξεχωριστά σχετικά με την ύπαρξη συμπτωμάτων ή διάγνωσης ΝΠ με βάση ένα δομημένο ερωτηματολόγιο, όπως αυτό περιγράφεται στη μελέτη των Marder et al, 2003. (113) Με βάση το ερωτηματολόγιο αυτό και έναν αλγόριθμο, οι συγγενείς χαρακτηρίζονταν ως πάσχοντες ή μη πάσχοντες από ΝΠ.

Περιγραφή Ερωτηματολογίου. Το ερωτηματολόγιο αυτό περιλαμβάνει έξι αρχικές ερωτήσεις διαλογής για κάθε συγγενή ξεχωριστά σχετικά με την ύπαρξη ή όχι των κύριων κινητικών εκδηλώσεων της ΝΠ. (Πίνακας 2) Θετική απάντηση σε μία τουλάχιστον από τις παραπάνω ερωτήσεις οδηγεί σε μία ομάδα περαιτέρω ερωτήσεων, (Πίνακας 2) με σκοπό την επιβεβαίωση της διάγνωσης και τον χαρακτηρισμό της,

ανάλογα με το βαθμό βεβαιότητας, ως σίγουρης, πιθανής, ενδεχόμενης, αβέβαιης ή αμφίβολης. (Πίνακας 2)

Πίνακας 2. Ερωτηματολόγιο για την εκτίμηση του Οικογενειακού Ιστορικού
(προσαρμοσμένο από Marder et al, 2003) (113)

Ερωτήσεις διαλογής για ΝΠ

1. Έχει ο/η συγγενής σας ΝΠ;
2. Έχει ο/η συγγενής σας τρόμο όταν ξεκουράζεται ή κάθεται ήρεμα;
3. Σέρνει ο/η συγγενής σας τα πόδια του ή κάνει μικρά βήματα όταν περπατά;
4. Έχει ο/η συγγενής σας σκυφτή στάση;
5. Έχετε παρατηρήσει ότι δεν κουνά τα χέρια του/της όταν περπατά;
6. Έχει ο/η συγγενής σας μυϊκή δυσκαμψία ή εκτελεί τις διάφορες λειτουργίες του δύσκαμπτα ή αργά;

Ερωτήσεις δεύτερης φάσης (μόνο επί θετικής απάντησης τουλάχιστον σε μία από τις ερωτήσεις διαλογής)

1. Επισκέφτηκε ο/η συγγενής σας γιατρό για αυτά τα συμπτώματα; Αν ναι, η διάγνωση ήταν ΝΠ; Πόσων ετών ήταν όταν τέθηκε η διάγνωση;
2. Επισκέφτηκε ο/η συγγενής σας νευρολόγο για αυτά τα συμπτώματα; Αν ναι, η διάγνωση ήταν ΝΠ; Πόσων ετών ήταν όταν τέθηκε η διάγνωση;
3. Έλαβε ο/η συγγενής σας αγωγή με λεβοντόπα;(Sinemet, Madopar)
4. Υποβλήθηκε ο/η συγγενής σας σε νεκροψία που αποδείκνυε την ύπαρξη ΝΠ;
5. Σε ποια ηλικία άρχισε να έχει συμπτώματα όπως τρόμο, αλλαγή στη βάδιση και στη στάση, και δυσκαμψία;
6. Ποιο ήταν το πρώτο σύμπτωμα του/της συγγενούς σας;

Πίνακας 3. Διαγνωστικός αλγόριθμος για τη ΝΠ

Ελευθέρια διάγνωση ΝΠ = σίγουρη, πιθανή, ενδεχόμενη ή αβέβαιη; **Συντηρητική διάγνωση ΝΠ** = σίγουρη, πιθανή ή ενδεχόμενη.

Αμφίβολη ΝΠ

1. Τουλάχιστον ένα από τα παρακάτω: (α) τρόμος ηρεμίας, (β) βάδιση με συρτά βήματα, (γ) σκυφτή στάση ή μειωμένη αιώρηση άνω άκρων στη βάδιση, (δ) εκτέλεση πράξεων αργά ή δύσκαμπτα

Αβέβαιη ΝΠ

1. Τουλάχιστον δύο από τα παρακάτω: (α) τρόμος ηρεμίας, (β) βάδιση με συρτά βήματα, (γ) σκυφτή στάση ή μειωμένη αιώρηση άνω άκρων στη βάδιση, (δ) εκτέλεση πράξεων αργά ή δύσκαμπτα

Ενδεχόμενη ΝΠ

1. Τουλάχιστον τρία από τα παρακάτω: (α) τρόμος ηρεμίας, (β) βάδιση με συρτά βήματα, (γ) σκυφτή στάση ή μειωμένη αιώρηση άνω άκρων στη βάδιση, (δ) αργή ή δύσκαμπτη εκτέλεση πράξεων

2. Ή τουλάχιστον ένα από τα παραπάνω και ένα από τα παρακάτω: (α) διάγνωση από μη-νευρολόγο γιατρό, ή (β) διάγνωση από νευρολόγο ή σε θεραπεία με λεβοντόπα

Πιθανή ΝΠ

1. Τρόμος ηρεμίας ή εκτέλεση πράξεων αργά ή δύσκαμπτα

2. Τουλάχιστον ένα από τα υπόλοιπα τρία χαρακτηριστικά

3. Ένα από τα παρακάτω: (α) διάγνωση από μη-νευρολόγο γιατρό, ή (β) διάγνωση από νευρολόγο ή σε θεραπεία με λεβοντόπα

Σίγουρη ΝΠ

1. Τρόμος ηρεμίας ή εκτέλεση πράξεων αργά ή δύσκαμπτα

2. Τουλάχιστον ένα από τα υπόλοιπα τρία χαρακτηριστικά

3. Διάγνωση από νευρολόγο **και** σε θεραπεία με λεβοντόπα

Στη συνέχεια, η διάγνωση ταξινομείται, σύμφωνα με έναν αλγόριθμο, σε μία από τις παρακάτω τέσσερις κατηγορίες: α) σίγουρη, β) σίγουρη ή πιθανή γ) σίγουρη, πιθανή ή ενδεχόμενη (συντηρητική – conservative - διάγνωση), και δ) σίγουρη, πιθανή, ενδεχόμενη ή αβέβαιη (ελευθέρια – liberal - διάγνωση). (Πίνακας 3) Αν οι απαντήσεις σε όλες τις αρχικές ερωτήσεις διαλογής ήταν αρνητικές, τότε θεωρείται ότι ο συγγενής αυτός δεν έχει ΝΠ. Η αξιοπιστία αυτού του ερωτηματολογίου για την εκτίμηση του οικογενειακού ιστορικού έχει εκτιμηθεί να είναι πολύ υψηλή, σχεδόν ισάξια με την κλινική εξέταση ή τα ιατρικά αρχεία (η ευαισθησία και η ειδικότητά της, για την κατηγορία της συντηρητικής διάγνωσης, υπολογίστηκαν σε 95.5% και 96.2% αντίστοιχα). (113)

Στη μελέτη μας, σύμφωνα με τα παραπάνω, ως πάσχων θεωρήθηκε ένας συγγενής αν πληρούσε τα κριτήρια για τη συντηρητική διάγνωση. Αν ο ασθενής ή το άτομο ελέγχου δεν γνώριζε με βεβαιότητα ή αγνοούσε πλήρως πληροφορίες για κάποιον συγγενή του, τότε ο συγγενής αυτός θεωρούνταν ως μη πάσχων από ΝΠ.

Στατιστική Ανάλυση: Με χρήση logistic regression, υπολογίσαμε την πιθανότητα ύπαρξης θετικού οικογενειακού ιστορικού για ΝΠ (outcome), για τους ασθενείς με ΝΠ σε σχέση με τα άτομα της ομάδας ελέγχου (predictor). Εν συνεχεία υπολογίσαμε τα παραπάνω μοντέλα ξεχωριστά για άνδρες και γυναίκες ασθενείς με ΝΠ (stratified analyses).

Αρχικά τα μοντέλα υπολογίστηκαν χωρίς προσαρμογή-έλεγχο-στάθμιση (unadjusted models) και εν συνεχεία με προσαρμογή-έλεγχο-στάθμιση (adjusted models) για παράγοντες όπως η ηλικία, το φύλο και ο αριθμός συγγενών.

Συγκρίναμε τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με οικογενειακό ιστορικό ΝΠ έναντι των ασθενών χωρίς οικογενειακό ιστορικό χρησιμοποιώντας t-test για τις μεταβλητές ηλικία, ηλικία έναρξης, διάρκεια νόσου, αριθμό συγγενών.

Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε στο $p \leq 0.05$.

Αποτελέσματα: Τον πληθυσμό της μελέτης μας απετέλεσαν 71 ασθενείς με ΝΠ και 175 άτομα ελέγχου. Ο πληθυσμός των ασθενών με ΝΠ είναι περίπου ο αναμενόμενος για τον πληθυσμό της Σύρου (21.500 κάτοικοι), αν λάβουμε υπόψη μας ότι ο επιπολασμός της ΝΠ στις αναπτυγμένες χώρες υπολογίζεται σε 0.3% του συνολικού πληθυσμού ($21.500 \times 0.3\% = 64.5$). (326,327) Τα χαρακτηριστικά των ατόμων της μελέτης μας συνοψίζονται στον Πίνακα 4.

Πίνακας 4. Χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης μας

	N	A	Γ	MH ±SD (εύρος)	MHE ±SD (εύρος)	Συγγενείς* (N)	Ζώντες συγγενείς* (N)	ΜΑΣ*±SD (εύρος)
Ασθενείς	71	28	43	76.4±6.5 (57-81)	70,7±7.4 (48-87)	436	183	6,1±2.2 (2-12)
Υγιείς	175	78	97	73.5±7.7 (50-89)		1031	475	5,9±2.2 (2-11)

N: απόλυτος αριθμός, A: Άντρες, Γ: Γυναίκες

MH: Μέση Ηλικία (έτη), MHE: Μέση Ηλικία Έναρξης (έτη)

ΜΑΣ: Μέσος Αριθμός Συγγενών

* α' βαθμού

Δεκαοκτώ από τους 71 ασθενείς μας (25.3%) σε σύγκριση με 10 από τα 175 άτομα ελέγχου (5.7%) ανέφεραν έναν τουλάχιστον συγγενή α' βαθμού με ΝΠ (OR= 5.6; 95% CI= 2.4, 12.9, $p < 0.0001$). Τα αποτελέσματά μας ήταν παρόμοια όταν εκτελέσαμε την ίδια ανάλυση (Logistic Regression) με προσαρμογή-έλεγχο-στάθμιση για ηλικία και φύλο (OR= 5.6; 95% CI= 2.4, 13.2, $p < 0.0001$), αριθμό συγγενών (OR= 5.5; 95% CI= 2.4, 12.8, $p < 0.0001$) και για ηλικία, φύλο και αριθμό συγγενών μαζί (OR= 5.6; 95% CI= 2.4, 12.3, $p < 0.0001$).

Τέσσερις από τους 18 ασθενείς που ανέφεραν θετικό οικογενειακό ιστορικό είχαν από δύο πάσχοντες συγγενείς: 3 είχαν έναν/μία πάσχοντα/ουσα αδερφό/ή και έναν πάσχοντα γονέα, ενώ 1 είχε δύο πάσχοντα αδέρφια. Από τους υπόλοιπους, 7 ανέφεραν έναν/μία πάσχοντα/ουσα αδερφό/ή και οι υπόλοιποι 7 ανέφεραν έναν πάσχοντα γονέα. Από το σύνολο των 658 ζώντων συγγενών, εξετάσαμε 56 (επτά πάσχοντες από σύνολο 10 ζώντων πασχόντων συγγενών και 49 μη πάσχοντες). Οι άντρες και οι γυναίκες ασθενείς είχαν παρόμοια πιθανότητα να έχουν συγγενή με ΝΠ (OR= 1.03; 95% CI= 0,34, 3.08, και OR= 1.05; 95% CI= 0,34, 3.16 όταν εκτελέσαμε Logistic Regression με προσαρμογή-έλεγχο-στάθμιση για την ηλικία).

Στη συνέχεια, θελήσαμε να συγκρίνουμε τα χαρακτηριστικά των ασθενών που είχαν οικογενειακό ιστορικό ΝΠ έναντι αυτών που δεν είχαν οικογενειακό ιστορικό ΝΠ. Οι δύο ομάδες δε διέφεραν ως προς την ηλικία, ηλικία έναρξης ή αριθμό α' βαθμού συγγενών. Διέφεραν, όμως, ως προς τη μέση διάρκεια της νόσου, που ήταν σημαντικά μεγαλύτερη για τους ασθενείς με θετικό οικογενειακό ιστορικό (8.2 έτη έναντι 4.8 για τους ασθενείς

χωρίς οικογενειακό ιστορικό, $p= 0.04$). Τα χαρακτηριστικά των δύο ομάδων και τα αποτελέσματα από τις μεταξύ τους συγκρίσεις συνοψίζονται στον Πίνακα 5.

Πίνακας 5. Χαρακτηριστικά των ασθενών με ΝΠ με και χωρίς οικογενειακό ιστορικό

	N	A	Γ	MH \pm SD (εύρος)	MHE \pm SD (εύρος)	MΔN \pm SD (εύρος)	ΜΑΣ \pm SD (εύρος)
(+)	18	7	11	77.6 \pm 8.1 (57-92)	69.4 \pm 10 (48-87)	8.2 \pm 6.3 (2-24)	6.5 \pm 2.0 (2-10)
(-)	53	21	32	76 \pm 5.9 (61-88)	71.2 \pm 6.2 (55-86)	4.8 \pm 4.3 (0-18)	6.0 \pm 2.2 (2-12)
p				0.4	0.5	0.04	0.4

(+): ασθενείς με οικογενειακό ιστορικό ΝΠ,

(-): ασθενείς χωρίς οικογενειακό ιστορικό ΝΠ,

N: απόλυτος αριθμός, A: Άντρες, Γ: Γυναίκες

MH: Μέση Ηλικία (έτη), MHE: Μέση Ηλικία Έναρξης (έτη)

MΔN: Μέση Διάρκεια νόσου (έτη), ΜΑΣ: Μέσος Αριθμός Συγγενών α' βαθμού

Συζήτηση: Τα αποτελέσματα της μελέτης μας δείχνουν ότι στη Σύρο οι ασθενείς με ΝΠ έχουν μεγαλύτερη από 5πλάσια πιθανότητα να έχουν συγγενή α' βαθμού με ΝΠ σε σχέση με τα άτομα ελέγχου. Παρομοίως, οι συγγενείς α' βαθμού των ασθενών με ΝΠ έχουν μεγαλύτερη από 5πλάσια πιθανότητα να πάσχουν από ΝΠ, σε σχέση με τους συγγενείς των ατόμων χωρίς ΝΠ. Τα αποτελέσματά μας συμφωνούν με τα αποτελέσματα των περισσότερων μελετών οικογενειακής συνάθροισης της ΝΠ, που δείχνουν ότι οι ασθενείς με ΝΠ έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να έχουν θετικό οικογενειακό ιστορικό ΝΠ σε σχέση με τα άτομα ελέγχου. Στη δική μας όμως μελέτη στις Κυκλάδες, η πιθανότητα αυτή βρέθηκε να είναι μεγαλύτερη από ό, τι στις περισσότερες μελέτες σε άλλους πληθυσμούς, που είναι κατά μέσο όρο 3πλάσια, (106) όπως και στη μοναδική ανάλογη μελέτη οικογενειακής συνάθροισης στον Ελλαδικό χώρο που πραγματοποιήθηκε στην Κρήτη. (328) Η αυξημένη οικογενειακή συνάθροιση της ΝΠ στη Σύρο σε σχέση με τις περισσότερες μελέτες και με τη μοναδική προϋπάρχουσα ελληνική μελέτη θα μπορούσε να εξηγηθεί από την ιδιαιτερότητα του πληθυσμού της, ο οποίος μπορεί να χαρακτηριστεί ως γενετικά απομονωμένος πληθυσμός (genetic

isolate) με σχετικά ομοιογενές γενετικό υλικό, καθώς η Σύρος είναι μια νησιωτική περιοχή μικρής έκτασης με περιορισμένες πληθυσμιακές μετακινήσεις.

Η μεγαλύτερη συνάθροιση της ΝΠ στις οικογένειες των ασθενών σε σχέση με των ατόμων ελέγχου έχει αποδοθεί σε γενετικούς αλλά και περιβαλλοντικούς παράγοντες. Εκτιμώντας ότι οι κάτοικοι ενός μικρού, απομονωμένου γεωγραφικά μέρους, όπως η Σύρος, είναι πιθανότερο να εκτίθενται σε κοινούς περιβαλλοντικούς παράγοντες και να έχουν κοινές συνήθειες, μπορούμε να υποθέσουμε ότι γενετικοί μάλλον, παρά περιβαλλοντικοί παράγοντες ευθύνονται για την οικογενειακή συνάθροιση της ΝΠ στη Σύρο.

Στη μετα-ανάλυση των Thacker και Ascherio, (106) τα αδέρφια των ασθενών ήταν πιθανότερο να πάσχουν από τη νόσο σε σύγκριση με τους γονείς τους. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί εν μέρει από τη συμμετοχή γενετικών παραγόντων με αυτοσωματική υπολειπόμενη κληρονομικότητα στους πληθυσμούς που συμμετείχαν στη μετα-ανάλυση. Στη δική μας μελέτη, 8 ασθενείς είχαν πάσχοντα/ουσα αδερφό/ή και 7 είχαν πάσχοντα γονέα, ενώ 3 ασθενείς είχαν πάσχοντα/ουσα αδερφό/ή και γονέα. Οι μικροί αριθμοί των ασθενών μας και των πασχόντων συγγενών τους δεν μας επιτρέπουν να πραγματοποιήσουμε μία δόκιμη στατιστική ανάλυση. Φαίνεται όμως, αν υποθέσουμε ότι για την κληρονομική ΝΠ στη Σύρο ευθύνονται παράγοντες που ακολουθούν μεντέλεια κληρονομικότητα, ότι αυτοί είναι εξίσου πιθανό να είναι αυτοσωματικοί επικρατητικοί ή υπολειπόμενοι, με μία μικρή ίσως τάση υπεροχής των επικρατητικών παραγόντων (συνολικά 10 ασθενείς με πάσχοντα γονέα έναντι 8 με πάσχοντα/ουσα αδερφό/ή). Με το τελευταίο συμβαδίζει και η μεγάλη ηλικία έναρξης της νόσου στο δείγμα των ασθενών μας, αφού τα γνωστά έως σήμερα γονίδια που κληρονομούνται με αυτοσωματική υπολειπόμενη κληρονομικότητα χαρακτηρίζονται από πολύ νεαρότερη ηλικία έναρξης. (116-118)

Συγκρίνοντας τα χαρακτηριστικά των ασθενών μας με θετικό οικογενειακό ιστορικό με αυτά των ασθενών χωρίς οικογενειακό ιστορικό, διαπιστώσαμε ότι οι δύο αυτές ομάδες είχαν παρόμοια ηλικία, ηλικία έναρξης και αριθμό συγγενών, και διέφεραν μόνο ως προς τη διάρκεια της νόσου, η οποία ήταν μεγαλύτερη για τους πρώτους (8.2 έτη έναντι 4.8, $p= 0.012$). Το αποτέλεσμά μας αυτό δεν συμφωνεί με τα ευρήματα άλλων μελετών οικογενειακής συνάθροισης, που δείχνουν ότι οι συγγενείς των ασθενών με νεαρότερη ηλικία έναρξης έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο να πάσχουν από τη νόσο σε σύγκριση με τους συγγενείς ασθενών με πιο καθυστερημένη ηλικία έναρξης, (82,89,98,100,106) μόνο 2 όμως από τους ασθενείς μας είχαν ηλικία έναρξης <50 ετών.

Η παρούσα μελέτη οικογενειακής συνάθροισης έχει μερικά μεθοδολογικά προτερήματα αλλά και μειονεκτήματα. (βλέπε Γενικό Μέρος – Γενετική Επιδημιολογία της ΝΠ – Μελέτες Οικογενειακής Συνάθροισης στη ΝΠ - Μεθοδολογία) Στα προτερήματά της συμπεριλαμβάνονται η απαρίθμηση όλων των συγγενών α' βαθμού, η κλινική εξέταση μέρους αυτών και η αξιολόγηση των υπολοίπων με βάση ένα αξιόπιστο δομημένο ερωτηματολόγιο με αποδεδειγμένη υψηλή αξιοπιστία. Επίσης, σημαντικό προτέρημα είναι το γεγονός ότι, αν και ο πληθυσμός των ασθενών μας έχει νοσοκομειακή προέλευση, είναι απόλυτα αντιπροσωπευτικός του πληθυσμού με ΝΠ του νησιού, χωρίς έτσι η μελέτη μας να υπόκειται ουσιαστικά στη μεροληψία των νοσοκομειακών μελετών. Τέλος, επιλέγοντας να συμπεριλάβουμε μόνο συγγενείς α' βαθμού, δηλαδή γονείς και αδέρφια, κάναμε τα αποτελέσματά μας συγκρίσιμα με αυτά των περισσότερων μελετών Οικογενειακής Συνάθροισης της ΝΠ της διεθνούς βιβλιογραφίας.

Από την άλλη πλευρά, ο μικρός αριθμός των κατοίκων του νησιού της Σύρου περιόρισε τη μελέτη μας σε χαμηλά νούμερα ασθενών. Επί πλέον, μπορέσαμε να εξετάσουμε κλινικά έναν μικρό μόνο αριθμό συγγενών, με αποτέλεσμα η μελέτη μας να έχει τελικά περισσότερο χαρακτηριστικά family history study παρά family study. Τέλος, ο σχεδιασμός της μελέτης μας, που ήταν case-control και όχι reconstructed cohort, πιθανώς οδήγησε σε μικρή υπερεκτίμηση του OR. Η μετα-ανάλυση, όμως, των Thacker και Ascherio (106) έδειξε ότι το συνολικό OR των μελετών που δεν τηρούσαν κανένα από τα μεθοδολογικά κριτήρια εγκυρότητας είχε μικρή σχετικά απόκλιση από το συνολικό OR των μελετών που τηρούσαν το σύνολο αυτών των κριτηρίων (OR= 4.2 έναντι 2.9). (94,98,104,105) Έτσι, η υπερεκτίμηση του OR, που πιθανώς χαρακτηρίζει τη μελέτη μας λόγω της μη τήρησης ενός μέρους των μεθοδολογικών κριτηρίων εγκυρότητας, εκτιμάται να είναι μικρή, χωρίς να επηρεάζει ουσιαστικά τα τελικά αποτελέσματά μας.

Συμπεράσματα: Παρά την ύπαρξη κάποιων μεθοδολογικών αδυναμιών, η σημαντικότητα των αποτελεσμάτων μας (OR= 5.6; 95% CI= 2.4, 12.9) μπορεί να μας οδηγήσει με ασφάλεια στο συμπέρασμα ότι η ΝΠ στη Σύρο εμφανίζει ισχυρή οικογενειακή συνάθροιση, και, λόγω της ιδιαιτερότητας του πληθυσμού της, αυτό είναι περισσότερο πιθανό να οφείλεται σε γενετικούς παρά σε περιβαλλοντικούς παράγοντες.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Στη γενετική μας μελέτη μελετήσαμε τα γονίδια α-συνουκλεΐνη (SNCA), LRRK2, βήτα-γλυκοσερεβροσιδάση (GBA), Parkin, DJ-1, PINK1 και το πιο πρόσφατο VPS35, για παθογόνες μεταλλάξεις ή άλλες γενετικές παραλλαγές στον πληθυσμό των Κυκλάδων, κυρίως της Σύρου. Η Σύρος, όπως προαναφέραμε, αποτελεί μία γεωγραφικά απομονωμένη νησιωτική περιοχή με 21.500 κατοίκους (απογραφή 2011). Η νησιωτική της φύση δυσχεραίνει και περιορίζει τις πληθυσμιακές μετακινήσεις, έτσι μπορεί να θεωρηθεί ως γενετικά απομονωμένη περιοχή (genetic isolate) με σχετικά ομοιογενές γενετικό υλικό. Οι κάτοικοι μιας γενετικά απομονωμένης περιοχής έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να μοιράζονται κάποιο κοινό παθογόνο γενετικό χαρακτηριστικό, που απαντάται έτσι σε μεγαλύτερη συχνότητα, και αποτελούν κατάλληλο υπόστρωμα για την ανακάλυψη νέων γονιδίων και μεταλλάξεων.

Πληθυσμός της μελέτης: Συλλέξαμε αίμα και απομονώσαμε DNA από 114 ασθενείς (57 άντρες, 57 γυναίκες, 32 με οικογενή ΝΠ και 5 με σποραδική ΝΕΝΠ, μέση ηλικία: 75.69 ± 7.59 έτη, μέση ηλικία έναρξης της νόσου: 69.88 ± 8.78 έτη) και από 109 άτομα ελέγχου (51 άντρες, 58 γυναίκες, μέση ηλικία: 73.19 ± 7.62 έτη) κατά τη διάρκεια των 2 ετών διαρκείας της μελέτης μας (2007-2009). Στην πλειοψηφία τους τα άτομα της μελέτης μας προέρχονταν από το Νοσοκομείο της Σύρου, το οποίο εκείνη την περίοδο αποτελούσε το μοναδικό νοσοκομείο των Κυκλάδων, και το νευρολογικό εξωτερικό του ιατρείου το μοναδικό νευρολογικό ιατρείο σε ολόκληρο τον νομό, επομένως και ιατρείο αναφοράς για ασθενείς με νευρολογικά νοσήματα. Εκτός από τους ασθενείς από τη Σύρο, σε αυτό απευθύνονταν και ασθενείς κυρίως από τη Τήνο, Μύκονο, Πάρο και Νάξο, λόγω των συγκοινωνιακών συνδέσεων που ίσχυαν στο νομό των Κυκλάδων. Ένα μικρότερο μέρος των ατόμων της μελέτης μας συγκεντρώθηκαν με ταξίδια που κάναμε στα νησιά της Τήνου, της Πάρου, της Σίφνου και της Φολεγάνδρου. Έτσι, 33 από τους ασθενείς μας προέρχονταν από άλλα νησιά των Κυκλάδων (15 από την Τήνο, 9 από Πάρο, 3 από Μύκονο, 2 από Νάξο, 2 από Φολέγανδρο, 1 από Σίφνο και 1 από Σαντορίνη). Από τα άτομα ελέγχου μόνο 9 είχαν καταγωγή από νησιά εκτός Σύρου. Η διάγνωση της ΝΠ στους ασθενείς έγινε κλινικά με βάση την κλινική εμπειρία του εξεταστή και συγγραφέα αυτής της διατριβής (MM) και δημοσιευμένα κλινικά κριτήρια. (16) Τα άτομα ελέγχου απετέλεσαν οι σύζυγοι των ασθενών, αλλά και άλλα άτομα που επισκέφθηκαν το νευρολογικό ιατρείο και δεν έπασχαν από ΝΠ ή άλλο παρκινσονικό σύνδρομο, δεν εμφάνιζαν κλινικά σημεία παρκινσονισμού ή τρόμο και δεν είχαν συγγενή α' ή β' βαθμού με ΝΠ.

Επειδή οι μεταλλάξεις στα γονίδια GBA και LRRK2 έχουν συσχετιστεί με σημαντικό ποσοστό οικογενών αλλά και σποραδικών περιπτώσεων ΝΠ, (170-172,299,309,310) στην ανάλυση για τα γονίδια αυτά, όπως και για το VPS35, (198-200) συμπεριλάβαμε ασθενείς με οικογενή αλλά και σποραδική ΝΠ. Για την ύπαρξη μεταλλάξεων στα γονίδια SNCA, Parkin, DJ-1 και PINK1, τα οποία κυρίως ευθύνονται για οικογενή ΝΕΝΠ, (115-118) αναλύσαμε μόνο ασθενείς με οικογενή ΝΠ ή σποραδική ΝΕΝΠ.

ΑΥΤΟΣΩΜΑΤΙΚΑ ΕΠΙΚΡΑΤΟΥΝΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ

A-συνουκλεΐνη (SNCA)

Όπως αναφέρθηκε και στο γενικό μέρος, σημειακές και ποσοτικές μεταλλάξεις στο γονίδιο SNCA έχουν περιγραφεί σε ασθενείς με οικογενή κυρίως ΝΠ. Η πρώτη μετάλλαξη που εντοπίστηκε στο γονίδιο αυτό ήταν η σημειακή μετάλλαξη A53T, που συναντάται κυρίως σε οικογένειες Ελληνικής και Ιταλικής καταγωγής με ΑΕΝΠ. (115,129-133). Σε μία πρόσφατη γενετική μελέτη που διεξήγαμε σε Έλληνες ασθενείς, η μετάλλαξη A53T ανιχνεύτηκε σε 5.5% των ασθενών με οικογενή ΝΠ. (133) Έως σήμερα, έχουν περιγραφεί άλλες τέσσερις σημειακές μεταλλάξεις (A30P, E46K και οι πιο πρόσφατες H50Q και G51D), (137-141) καθώς και διπλασιασμοί και τριπλασιασμοί του γονιδίου. (127,128,145-153)

Στα πλαίσια της μελέτης αυτής, θελήσαμε να διερευνήσουμε την παρουσία της μετάλλαξης A53T καθώς και άλλων σημειακών ή ποσοτικών μεταλλάξεων στο γονίδιο της SNCA σε ασθενείς με ΝΠ από τις Κυκλάδες.

Υλικό-Μέθοδοι: Περιορίσαμε την ανάλυση για μεταλλάξεις στο γονίδιο SNCA στους ασθενείς μας με οικογενή ΝΠ ή σποραδική ΝΕΝΠ. Από το συνολικό μας δείγμα αναλύσαμε 29 ασθενείς, που προέρχονταν από 24 οικογένειες, με οικογενή ΝΠ και 1 ασθενή με σποραδική ΝΕΝΠ (ομάδα Α). Αναλύσαμε και τους 30 αυτούς ασθενείς της ομάδας Α για την ύπαρξη της μετάλλαξης A53T χρησιμοποιώντας την μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) και την μετέπειτα επώαση του τμήματος DNA μεγέθους 500 bp με το ένζυμο Tsp 45 I. Η ανάλυση έγινε στο Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών (ΙΙΒΕΑΑ), και περιελάμβανε ως θετικά controls και δείγματα με επιβεβαιωμένη μετάλλαξη A53T από γενετικό υλικό ασθενών που παρακολουθούνται στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο «Αττικών».

Παράλληλα, βιολογικό υλικό από τους ασθενείς αυτούς στάλθηκε στο Τμήμα Νευρογενετικής του Πανεπιστημίου του Τούμπιγκεν της Γερμανίας για περαιτέρω

ανάλυση. Εκεί, και τα 30 δείγματα της ομάδας A αναλύθηκαν με Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA), (329) για την ανίχνευση ποσοτικών μεταλλάξεων στο γονίδιο SNCA, ενώ σε 10 από αυτά (υποομάδα A1), που προέρχονταν από ασθενείς με ΑΕΝΠ, διενεργήθηκε ανάλυση αλληλουχίας του DNA ολόκληρου του γονιδίου για την ανίχνευση άλλων σημειακών μεταλλάξεων (οι αναλυτικοί μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν είναι διαθέσιμοι αν ζητηθούν). Τα χαρακτηριστικά των ασθενών που αναλύθηκαν συνολικά για μεταλλάξεις στο γονίδιο SNCA απεικονίζονται στον Πίνακα 6.

Πίνακας 6. Χαρακτηριστικά των ασθενών που αναλύθηκαν για μεταλλάξεις στο γονίδιο SNCA

	Ομάδα A	Υποομάδα A1
Ασθενείς	30	10
A	13	2
Γ	17	8
ΘΟΙ	29	10
NENΠ	1	0
MH± SD (έτη) (εύρος)	75.5±9.4 (4592)	75.3±7.9 (5782)
MHE± SD (έτη) (εύρος)	67.7±9.6 (4482)	67.6±9.3 (4878)

A: Άντρες, Γ: Γυναίκες

ΘΟΙ: ασθενείς με Θετικό Οικογενειακό Ιστορικό

NENΠ: ασθενείς με σποραδική Νεαρήs Έναρξης ΝΠ

MH: Μέση Ηλικία, MHE: Μέση Ηλικία Έναρξης

Αποτελέσματα: Από τους ελεγχθέντες ασθενείς του δείγματος μας κανένας δεν έφερε την μετάλλαξη A53T στο γονίδιο SNCA. Ομοίως, η ανάλυση αλληλουχίας DNA και η MLPA δεν ανέδειξε άλλες σημειακές ή ποσοτικές μεταλλάξεις.

Συζήτηση: Παρόλο που η ανάλυσή μας περιορίστηκε σε ασθενείς με οικογενή ΝΠ ή σποραδική NENΠ, οι οποίοι θεωρητικά έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να πάσχουν από κληρονομική μορφή ΝΠ, οι μεταλλάξεις στο γονίδιο SNCA ήταν απύσες από το δείγμα μας. Σε μία πρόσφατη μελέτη, που διεξήγαμε σε Έλληνες ασθενείς με οικογενή ΝΠ ή σποραδική NENΠ, στους οποίους συμπεριλήφθηκαν και οι ασθενείς του δείγματός μας, βρήκαμε ότι 4.5% (5/111) από αυτούς ήταν φορείς της μετάλλαξης A53T, ενώ το ποσοστό αυτό ήταν 5.5% στους ασθενείς με οικογενή ΝΠ και 15.4% σε αυτούς με οικογενή NENΠ. (133) Οι φορείς της A53T μετάλλαξης είχαν ΑΕΝΠ και νεαρή ηλικία έναρξης (οι 4 από τους 5 είχαν εμφανίσει συμπτώματα σε ηλικία ≤50 ετών). Τα ποσοστά

αυτά είναι τα υψηλότερα που έχουν αναφερθεί στη διεθνή βιβλιογραφία, και δείχνει ότι η μετάλλαξη SNCA-A53T αποτελεί σημαντικό αίτιο αυτοσωματικής επικρατούσας ΝΕΝΠ (ΑΕΝΕΝΠ) στη Ελλάδα. Ο μικρός αριθμός των ελεγχθέντων ασθενών μας (συνολικά 30 ασθενείς, και από αυτούς 29 με οικογενή ΝΠ, 10 με ΑΕΝΠ, κανείς με ΑΕΝΕΝΠ), και η μεγάλη ηλικία έναρξης της νόσου (~68 έτη) στο σύνολο των ασθενών, αλλά και σε αυτούς με ΑΕΝΠ, πιθανώς δικαιολογούν την απουσία της A53T, αλλά και των άλλων μεταλλάξεων στο γονίδιο SNCA, στον πληθυσμό μας.

LRKK2

Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο LRRK2 αποτελούν το συχνότερο γενετικό αίτιο της ΝΠ και απαντώνται περίπου στο 5% των οικογενών και στο 1% των σποραδικών περιπτώσεων. (170-172,330) Έχουν περιγραφεί 7 παθογόνες μεταλλάξεις (N1437H, R1441C/G/H, Y1699C, G2019S και I2020T), των οποίων η συχνότητα ποικίλει ανάλογα με την εθνικότητα. Από αυτές, η συχνότερη και η πιο γνωστή είναι η G2019S, που απαντάται στο 40% των ασθενών με ΝΠ Αραβικής καταγωγής, (171,331) περίπου στο 20% των ασθενών Εβραϊκής καταγωγής της φυλής Ασκενάζυ, (172,332) και στο 1%-7% των ασθενών Ευρωπαϊκής καταγωγής. (180,181) Εκτός από τις παραπάνω μεταλλάξεις, οι πολυμορφισμοί R1628P και G2385R έχουν συσχετιστεί με τη ΝΠ σε ασθενείς από την Ασία. (187,195) Πιο πρόσφατα, μία μεγάλη μελέτη από την ερευνητική ομάδα GEOPD σε 8.611 ασθενείς και 6.929 άτομα ελέγχου από 23 διαφορετικά κέντρα από όλον τον κόσμο, στην οποία συμμετείχαμε με ασθενείς από τις Κυκλάδες, διερεύνησε την παρουσία 123 διαφορετικών γενετικών παραλλαγών στο γονίδιο LRRK2, συμπεριλαμβανομένων των επτά γνωστών παθογόνων μεταλλάξεων. (333) Τα αποτελέσματα κατέδειξαν τον πρώτο συχνό (Minor Allele Frequency: MAF \geq 0.5%) πολυμορφισμό (M1646T) που βρέθηκε να αυξάνει τον κίνδυνο της ΝΠ σε Καυκάσιους (OR= 1.43, 95% CI= 1.15, 1.78), καθώς και έναν άλλον πολυμορφισμό, τον A419V, που είναι ο τρίτος, μετά τους R1628P and G2385R, που βρέθηκε να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ΝΠ σε Ασιάτες. Επίσης, ένας απλότυπος αποτελούμενος από 3 πολυμορφισμούς (p.N551K-p.R1398H-p.K1423K) παρατηρήθηκε σε μεγάλη συχνότητα (>5%) σε όλες τις εθνικότητες που μελετήθηκαν (Καυκάσιους, Ασιάτες, Άραβες) και βρέθηκε ότι δρα προστατευτικά έναντι της ΝΠ. (333)

Οι έρευνες που έχουν γίνει έως σήμερα στον Ελλαδικό χώρο, έχουν δείξει ότι οι μεταλλάξεις στο γονίδιο LRRK2 είναι σπάνιες σε Έλληνες ασθενείς με οικογενή ή σποραδική ΝΠ. (334-337) Συνολικά, έχουν αναφερθεί μερικοί μεμονωμένοι ασθενείς με

τη μετάλλαξη G2019S, (336,337) δύο αδέρφια στην Κρήτη με τη σπάνια μετάλλαξη R1441H (ο ένας μάλιστα είχε φαινότυπο ΝΠ που εξελίχθηκε σε Προϊούσα Υπερπυρηνική Παράλυση) (337) και δύο ασθενείς με ΑΕΝΠ από τη Λάρισα που έφεραν δύο σπάνιες γενετικές παραλλαγές, τις K544E και A221V. (336) Από τις δύο αυτές παραλλαγές, η τελευταία πιθανολογείται ότι είναι προστατευτική για τη νόσο. (333)

Θέλοντας να διερευνήσουμε τον ρόλο του γονιδίου LRKK2 στη ΝΠ στις Κυκλάδες, αναλύσαμε μία ομάδα ασθενών με οικογενή ή σποραδική ΝΠ και μία ομάδα υγιών ατόμων ελέγχου για την ύπαρξη των γνωστών παθογόνων μεταλλάξεων αλλά και ενός μεγάλου αριθμού άλλων γενετικών παραλλαγών στα πλαίσια της παραπάνω μελέτης του GEOPD.

Υλικό-Μέθοδοι: Αναλύθηκαν 88 ασθενείς με ΝΠ και 84 υγιή άτομα ελέγχου για τη παρουσία 123 εξονικών γενετικών παραλλαγών στο γονίδιο LRKK2, συμπεριλαμβανομένων και των επτά γνωστών παθογόνων μεταλλάξεων. Τα χαρακτηριστικά των ατόμων που συμμετείχαν στην ανάλυση συνοψίζονται στον Πίνακα 7. Το σύνολο των γενετικών παραλλαγών που μελετήθηκαν απεικονίζεται στον Συμπληρωματικό Πίνακα 1 (Παράρτημα, στο τέλος του κειμένου).

Γενετική Ανάλυση: Η γενετική ανάλυση έγινε στο Εργαστήριο της Νευρογενετικής της Mayo Clinic στη Florida, USA. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση αναφέρονται αναλυτικά στο άρθρο των Ross OA et al, 2011. (333)

Στατιστική Ανάλυση: Παρ' όλο που μερικές γενετικές παραλλαγές εμφανίζονταν σε ομόζυγη μορφή, διενεργήσαμε την ανάλυση ως case-control με βάση την παρουσία ή απουσία του μελετώμενου αλληλίου, καθώς οι μεταλλάξεις στο γονίδιο LRKK2 είναι γνωστό ότι προκαλούν ΑΕΝΠ. Επιπλέον, οι περισσότερες γενετικές παραλλαγές παρατηρήθηκαν στη μεγάλη τους πλειοψηφία σε ετερόζυγη μορφή, και οι ασθενείς που έχουν παρατηρηθεί με ομόζυγες μεταλλάξεις στο γονίδιο LRKK2, κυρίως Άραβες από τη Βόρεια Αφρική, έχουν παρόμοια κλινική εικόνα με αυτούς με ετερόζυγες μεταλλάξεις. (186) Υπολογίσαμε τα Odds ratios (ORs) και τα 95% confidence intervals (CIs), για κάθε γενετική παραλλαγή ξεχωριστά, για τους ασθενείς σε σχέση με τα άτομα ελέγχου, καθώς και το p χρησιμοποιώντας Fisher's exact test (αποτέλεσμα στατιστικά σημαντικό όταν $p \leq 0.05$). Για τις σπάνιες γενετικές παραλλαγές (MAF <0.5), παρ' όλο που υπολογίσαμε τους φορείς στους ασθενείς και τα άτομα ελέγχου, δεν ήταν δυνατό να εκτελεστούν στατιστικές αναλύσεις για την ανάδειξη της πιθανής συσχέτισης με τη ΝΠ λόγω του μικρού αριθμού των φορέων.

Πίνακας 7. Χαρακτηριστικά των ατόμων που ελέγχθηκαν για μεταλλάξεις στα γονίδια LRKK2 και VPS35.

	Ασθενείς	Ομάδα ελέγχου
N	88	84
A	45	39
Γ	43	45
ΘΟΙ	30	
NENΠ	5	
MH±SD (έτη) (εύρος)	75.6±8.3 (4593)	73.1±7.9 (4888)
MHE±SD (έτη) (εύρος)	69±9.3 (4488)	

N: Συνολικός αριθμός, A: Άντρες, Γ: Γυναίκες

ΘΟΙ: ασθενείς με Θετικό Οικογενειακό Ιστορικό

NENΠ: ασθενείς με σποραδική Νεαρής Έναρξης ΝΠ

MH: Μέση Ηλικία, MHE: Μέση Ηλικία Έναρξης

Αποτελέσματα: Κανένα από τα άτομα που μελετήθηκαν δεν έφερε κάποια από τις γνωστές παθογόνες μεταλλάξεις στο γονίδιο LRKK2. Ανιχνεύσαμε 20 γενετικές παραλλαγές, από τις οποίες οι 17 ήταν συχνές (MAF \geq 0.5%). Από αυτές, η M2397T ήταν η συχνότερη (MAF= 56.1%) και η μόνη που βρέθηκε να σχετίζεται με τη ΝΠ στον πληθυσμό μας, εξασκώντας προστατευτική δράση (OR= 0.34, 95% CI= 0.15, 0.78, $p=$ 0.0109). Από τα υπόλοιπα ευρήματα, σε ένα μικρό αριθμό ασθενών και ατόμων ελέγχου ανιχνεύσαμε τους πολυμορφισμούς M1646T και K1423K, που έχουν βρεθεί να σχετίζονται με τη ΝΠ σε Καυκάσιους, ο πρώτος θετικά και ο δεύτερος αρνητικά, (333) ο μικρός όμως αριθμός των φορέων δεν επέτρεψε την τεκμηρίωση κάποιας συσχέτισης στον πληθυσμό μας. Ο προστατευτικός απλότυπος p.N551K-p.R1398Hp.K1423K παρατηρήθηκε σε μικρότερη συχνότητα (2.9%) σε σύγκριση με αυτή που αναφέρεται συνολικά σε Καυκάσιους στο άρθρο των Ross OA et al. (333) Συνολικά, τέσσερις ασθενείς και έξι άτομα ελέγχου έφεραν τον απλότυπο αυτό, και παρ' όλο που φαίνεται να τείνει να είναι συχνότερος στα άτομα ελέγχου, οι αριθμοί είναι πολύ μικροί για να τεκμηριωθεί στατιστικά σημαντική προστατευτική συσχέτιση ($p=$ 0.528). Σε σύνολο 506

ασθενών και 429 ατόμων ελέγχου από την Ελλάδα, συμπεριλαμβανομένων και των δικών μας ασθενών, που συμμετείχαν στη μελέτη των Ross OA et al., (333) οι συσχέτισεις για τον p. M1646T και για τον προστατευτικό απλότυπο p.N551K-p.R1398H-p.K1423K με τη ΝΠ ήταν OR= ~2.7, 95% CI= 0.6, >8 και OR= ~0.6, 95% CI= 0.3, 1.5 αντίστοιχα, χωρίς όμως και πάλι να φτάνουν να είναι στατιστικά σημαντικές.

Πίνακας 8. Γενετικές παραλλαγές στο γονίδιο LRKK2 που ανιχνεύτηκαν στον πληθυσμό μας, MAF και συσχέτιση με τη ΝΠ, σε σύγκριση με τα αποτελέσματα για τις ίδιες παραλλαγές σε Καυκάσιους ασθενείς και άτομα ελέγχου στη μελέτη των Ross OA et al, 2011. (332)

Γενετική Παραλλαγή	Ασθενείς	Άτομα ελέγχου	MAF	MAF*	OR (95%CI)	p-value	OR* (95%CI)	p-value*
K1423K	5	8	3.8%	6.6%	0.57 (0.18, 1.83)	0.396	0.83 (0.74, 0.92)	0.0006
R1398H	4	6	2.9%	6.6%	0.62 (0.17, 2.28)	0.528	0.89 (0.80, 0.99)	0.034
N551K	4	8	3.5%	6.7%	0.45 (0.13, 1.56)	0.241	0.88 (0.79, 0.98)	0.025
M1646T	2	2	1.2%	1.6%	0.95 (0.13, 6.93)	1.00	1.43 (1.15, 1.78)	0.0012
K1637K	63	59	45.6%	45.0%	1.07 (0.55, 2.06)	0.868	1.02 (0.94, 1.11)	0.60
S1647T	49	47	28.7%	29.9%	0.99 (0.54, 1.81)	1.00	0.93 (0.86, 1.00)	0.048
G1819G	60	59	45.9%	45.2%	0.91 (0.47, 1.74)	0.869	1.06 (0.98, 1.15)	0.16
G1624G	51	49	36.6%	34.7%	0.98 (0.54, 1.80)	1.00	1.06 (0.98, 1.14)	0.15
E2108E	38	35	23.8%	31.4%	1.06 (0.58, 1.95)	0.878	0.96 (0.89, 1.03)	0.27
M2397T	65	75	56.1%	34.4%	0.34 (0.15, 0.78)	0.011	1.06 (0.98, 1.14)	0.17
L153L	61	67	49.4%	39.6%	0.57 (0.28, 1.15)	0,16	0.98 (0.91, 1.06)	0.57
N2081D	7	8	4.3%	2.6%	0.82 (0.28, 2.37)	0.79	1.24 (1.05, 1.47)	0.013
G2385G	16	22	11.3%	15.7%	0.63 (0.30, 1.30)	0.27	0.97 (0.89, 1.06)	0.49
I723V	15	15	9.0%	7.4%	0.95 (0.43, 2.08)	1.00	0.94 (0.84, 1.04)	0.23
L953L	15	10	7.8%	12.8%	1.52 (0.64, 3.60)	0.39	0.98 (0.90, 1.07)	0.66
P1542S	6	5	3.2%	2.8%	1.16 (0.34, 3.94)	1.00	0.90 (0.77, 1.06)	0.21
R1514Q	1	1	0.6%	0.9%	0.95 (0.06, 15.51)	1.00	1.13 (0.85, 1.49)	0.41
T2356I	1	0	<0.5%	<0.5%	N.A		N.A	N.A
I1371V	0	1	<0.5%	<0.5%	N.A		N.A	N.A
N289N	0	1	<0.5%	<0.5%	N.A		N.A	N.A

MAF: Minor Allele Frequency, OR (95%CI): odds ratio (95% confidence interval)

MAF*, OR* (95%CI) και p-value*: αποτελέσματα σε Καυκάσιους ασθενείς και άτομα ελέγχου στη μελέτη των Ross OA et al, 2011. (332)

Τέλος, κανείς από τους ασθενείς μας ή τα άτομα ελέγχου δεν έφεραν κάποια από τις δύο γενετικές παραλλαγές K544E και A221V που ανιχνεύτηκαν σε ασθενείς από τη Λάρισα, (333) ή την επίσης σπάνια, πιθανώς παθογόνα, παραλλαγή T1410M, που ανιχνεύτηκε σε έναν Έλληνα ασθενή με οικογενή ΝΠ και ηλικία έναρξης 78 ετών, ο οποίος προερχόταν από τη Β' Πανεπιστημιακή Νευρολογική Κλινική του Νοσοκομείου «Αττικόν» στα πλαίσια της ίδιας μελέτης. (333, Ross OA, προσωπική επικοινωνία)

Το σύνολο των γενετικών παραλλαγών στο γονίδιο LRRK2 που ανιχνεύσαμε στον πληθυσμό μας, απεικονίζεται στον Πίνακα 8, σε σύγκριση με τα αποτελέσματα για τις ίδιες παραλλαγές σε 6995 Καυκάσιους ασθενείς και 5595 άτομα ελέγχου στη μελέτη των Ross OA et al, 2011. (333)

Συζήτηση: Κανείς από τους 88 ασθενείς μας ή από τα 84 υγιή άτομα ελέγχου δεν έφερε κάποια από τις γνωστές μεταλλάξεις στο γονίδιο LRRK2, επιβεβαιώνοντας τη σπανιότητά τους στον Κυκλαδικό, όπως και στον υπόλοιπο Ελλαδικό χώρο. Ο πιο συχνός πολυμορφισμός στον πληθυσμό μας, και ο μόνος που βρέθηκε να σχετίζεται με τη ΝΠ, ήταν ο M2397T τον οποίο έφερε το 56.1% του συνόλου των αλληλίων του γονιδίου LRRK2 (MAF), και ήταν σημαντικά συχνότερος στα άτομα ελέγχου σε σύγκριση με τους ασθενείς ($p= 0.0109$). Ο πολυμορφισμός αυτός έχει αναφερθεί και σε άλλους πληθυσμούς, με μικρότερη όμως MAF (34.4% σε Καυκάσιους, 43.9% σε Ασιάτες και 39.8% σε Άραβες), (333) χωρίς όμως να έχει διαπιστωθεί κάποια συσχέτιση με τη ΝΠ. Παρ' όλα αυτά, τα ευρήματα της μελέτης μας υποστηρίζουν ότι ο πολυμορφισμός M2397T στο γονίδιο LRRK2 απαντάται σε αυξημένη συχνότητα στις Κυκλάδες, όπου φαίνεται να έχει προστατευτική δράση έναντι της ΝΠ.

VPS 35

Πρόσφατα, η μετάλλαξη Asp620Asn στο γονίδιο VPS35 (vacuolar protein sorting 35) ανιχνεύτηκε σε οικογένειες με ΑΕΝΠ αλλά και σε ασθενείς με σποραδική ιδιοπαθή ΝΠ διαφόρων εθνικοτήτων. (198-200) Σήμερα, το γονίδιο VPS35 θεωρείται ότι αποδεδειγμένα σχετίζεται με ΑΕΝΠ με φαινότυπο κλασσικής ιδιοπαθούς νόσου με προχωρημένη ηλικία έναρξης. Στη μελέτη μας, διερευνήσαμε την ύπαρξη μεταλλάξεων στο γονίδιο αυτό σε οικογενείς και σποραδικούς ασθενείς των Κυκλάδων.

Υλικό-Μέθοδοι: Η αναζήτηση για μεταλλάξεις στο γονίδιο VPS35 έγινε στο ίδιο δείγμα 88 ασθενών και 84 ατόμων ελέγχου που αναλύθηκαν και για μεταλλάξεις στο γονίδιο LRRK2, στα πλαίσια μιας μεγάλης πολυκεντρικής μελέτης στην οποία συμμετείχαν 23

κέντρα από 19 χώρες και 4 ηπείρους από το GEOPD consortium. (200) Τα χαρακτηριστικά των ατόμων του δείγματός μας συνοψίζονται στον Πίνακα 7. Οι μέθοδοι που ακολουθήθηκαν για την γενετική ανάλυση περιγράφονται αναλυτικά στο άρθρο των Sharma M et al, 2012. (200)

Αποτελέσματα: Κανείς από τους ελεγχθέντες ασθενείς μας ή τα άτομα ελέγχου δεν έφεραν την παθογόνο μετάλλαξη Asp620Asn ή άλλη γενετική παραλλαγή στο γονίδιο VPS35. Σε σύνολο 15383 ατόμων (8870 ασθενών και 6513 ατόμων ελέγχου) που συμμετείχαν στην προαναφερθείσα πολυκεντρική μελέτη των Sharma M et al, 2012, η μετάλλαξη Asp620Asn ανιχνεύτηκε σε 5 ασθενείς με οικογενή και 2 με σποραδική ΝΠ, αποδεικνύοντας ότι οι μεταλλάξεις στο γονίδιο αυτό αποτελούν σπάνιο αίτιο οικογενούς και ακόμη σπανιότερο σποραδικής ΝΠ.

ΑΥΤΟΣΩΜΑΤΙΚΑ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΑ ΓΟΝΙΔΙΑ

PARKIN, DJ-1, PINK1

Τρία είναι τα κυριότερα γονίδια που έχει αποδειχθεί ότι προκαλούν ΑΥΝΕΝΠ, με σειρά σπουδαιότητας τα Parkin, PINK1 και DJ-1. Εκτός από οικογενή ΝΕΝΠ, ευθύνονται και για ένα ποσοστό σποραδικών περιπτώσεων ΝΕΝΠ. Έτσι, μεταλλάξεις στο γονίδιο Parkin ανευρίσκονται στο 50% των ασθενών με ΑΥΝΕΝΠ και στο 15% αυτών με σποραδική ΝΕΝΠ στην Ευρώπη. (233,234) Το PINK1 είναι το δεύτερο σε συχνότητα γονίδιο μετά το Parkin που βρέθηκε να σχετίζεται με ΑΥΝΕΝΠ, και απαντάται στο 1%-9% των σποραδικών ασθενών με ΝΕΝΠ, ανάλογα με την εθνικότητα. (248,249) Τέλος, το γονίδιο DJ-1 αποτελεί σπάνιο μόνο αίτιο ΑΥΝΕΝΠ και έχει ανιχνευτεί στο 1%-2% των περιπτώσεων με ΝΕΝΠ. (258,338) Η κλινική εικόνα που σχετίζεται με τις μεταλλάξεις και στα τρία αυτά γονίδια είναι παρόμοια, με έναρξη σε νεαρή ηλικία, συχνή εμφάνιση δυστονίας ως πρώτης εκδήλωσης, επίταση τενοντίων αντανακλαστικών, σχετικά ήπια και αργή εξέλιξη, καλή ανταπόκριση στη λεβοντόπα, αλλά πρώιμη εμφάνιση κινητικών επιπλοκών (διακυμάνσεων και δυσκινησιών). Έχουν επίσης αναφερθεί πυραμιδικά και παρεγκεφαλιδικά σημεία, όπως και ψυχιατρικά συμπτώματα. (238,253,259) Το φάσμα των μεταλλάξεων και στα τρία γονίδια περιλαμβάνει σημειακές και ποσοτικές μεταλλάξεις.

Θελήσαμε να μελετήσουμε το ρόλο των μεταλλάξεων στα γονίδια Parkin, PINK1 και DJ-1 στην αιτιολογία της ΝΠ στη Σύρο, καθώς μάλιστα η Σύρος αποτελεί γενετικά

απομονωμένο πληθυσμό με αυξημένη πιθανότητα ενδογαμίας και εμφάνισης υπολειπόμενων νοσημάτων.

Υλικό-Μέθοδοι: Για την αναζήτηση μεταλλάξεων στα γονίδια Parkin, PINK1 και DJ-1 ελέγξαμε και πάλι τους 30 ασθενείς της ομάδας A, που πάσχουν από οικογενή ΝΠ ή σποραδική ΝΕΝΠ, και που έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να πάσχουν από γενετική μορφή ΝΠ. Τα χαρακτηριστικά των ασθενών της ομάδας A απεικονίζονται στους Πίνακες 6 και 9. Το DNA των ασθενών αυτών αναλύθηκε στο Τμήμα Νευρογενετικής του Πανεπιστημίου του Τούμπιγκεν της Γερμανίας με MLPA για την αναζήτηση ποσοτικών μεταλλάξεων στα γονίδια Parkin, PINK1 και DJ-1, ενώ το γενετικό υλικό από 14 από αυτούς τους ασθενείς (13 με κληρονομικότητα συμβατή με αυτοσωματική υπολειπόμενη και 1 με σποραδική ΝΕΝΠ) (υποομάδα A2), αναλύθηκε με ανάλυση αλληλουχίας DNA και των τριών γονιδίων για την ανίχνευση σημειακών μεταλλάξεων (οι αναλυτικοί μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν είναι διαθέσιμοι αν ζητηθούν).

Πίνακας 9. Χαρακτηριστικά των ασθενών που αναλύθηκαν για τα υπολειπόμενα γονίδια Parkin, PINK1 και DJ-1.

	Ομάδα A	Υποομάδα A2
Ασθενείς	30	14
A	13	2
Γ	17	8
ΘΟΙ	29	13
ΝΕΝΠ	1	1
MH± SD (έτη) (εύρος)	75.5±9.4 (4592)	75.8±11.4 (4592)
MHE± SD (έτη) (εύρος)	67.7±9.6 (4482)	68.3±10.5 (4482)

A: Άντρες, Γ: Γυναίκες

ΘΟΙ: Θετικό Οικογενειακό Ιστορικό,

ΝΕΝΠ: σποραδική Νεαρής Έναρξης ΝΠ

MH: Μέση Ηλικία, MHE: Μέση Ηλικία Έναρξης

Αποτελέσματα: Δεν ανιχνεύσαμε καμία παθογόνο μετάλλαξη, σημειακή ή ποσοτική, στα γονίδια PINK1 και DJ-1. Επτά ασθενείς έφεραν την παραλλαγή c.-99 T>C (οι 2 σε ομόζυγο μορφή) στο γονίδιο DJ-1, την οποία δε συναντήσαμε στη διεθνή βιβλιογραφία, (339) και είναι πιθανό να αντιπροσωπεύει μη παθογόνο πολυμορφισμό στον πληθυσμό

των Κυκλάδων. Και οι 14 ασθενείς της υποομάδας A2 έφεραν συνδυασμό μη παθογόνων γνωστών πολυμορφισμών στο γονίδιο PINK1, (339) σε ομόζυγο ή ετερόζυγο μορφή. Οι πολυμορφισμοί αυτοί απεικονίζονται στον Πίνακα 10.

Στο γονίδιο Parkin εντοπίσαμε πέντε γενετικές παραλλαγές (V380L σε δύο ασθενείς, και S167N, E16E, IVS3-20T>C και pos. 62 T>C, σε έναν ασθενή την καθεμία) και μία ποσοτική μετάλλαξη (διπλασιασμό των εξονίων 2+3, ex2-3dup), όλες σε ετερόζυγο μορφή. Ένας ασθενής έφερε δύο παραλλαγές συγχρόνως στο γενετικό του υλικό (IVS3-20T>C και V380L). Από τις γενετικές αυτές παραλλαγές που ανιχνεύσαμε στο δείγμα μας, οι τέσσερις αποτελούν γνωστούς μη παθογόνους πολυμορφισμούς, ενώ δεν εντοπίσαμε στη διεθνή βιβλιογραφία αναφορά για την pos. 62 T>C. (339) Όλες οι μεταλλάξεις και οι γενετικές παραλλαγές που εντοπίσαμε στο γενετικό υλικό των ασθενών μας στα γονίδια Parkin, PINK1 και DJ-1 απεικονίζονται στον Πίνακα 10.

Φορέας της ex2-3dup μετάλλαξης ήταν μία γυναίκα 83 ετών, που εμφάνισε ασύμμετρο τρόπο μαζί με δυσκαμψία και βραδυκινησία σε ηλικία 82 ετών, για να προστεθούν τα επόμενα χρόνια άνοια και μεγάλη κινητική επιδείνωση. Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι η ασθενής είχε να επισκεφθεί το ιατρείο πολύ καιρό και είχε παραμείνει σε χαμηλές δόσεις φαρμακευτικής αγωγής. Η γυναίκα αυτή είχε μία αδερφή από 7 συνολικά αδέρφια με ΝΠ.

Πίνακας 10. Μεταλλάξεις και γενετικές παραλλαγές στα γονίδια Parkin, PINK1 και DJ-1

Parkin	PINK1	DJ-1
V380L	L63L	c -99 T>C
IVS3-20 T>C	c *37 A>T	
S167N	N521T	
E16E	IVS2-7 A>G	
pos. 62 T>C	IVS5-5 G>A	
ex2-3dup		

μετάλλαξη με έντονη γραμματοσειρά (**bold**): παθογόνος μετάλλαξη

Συζήτηση: Παρά την προέλευση των ασθενών μας από έναν σχετικά απομονωμένο νησιωτικό πληθυσμό με μεγάλη πιθανότητα ενδογαμίας και αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης υπολειπόμενων νοσημάτων, δεν ανιχνεύσαμε καμία παθογόνο μετάλλαξη στα υπολειπόμενα γονίδια της ΝΠ που μελετήθηκαν, πλην μίας ποσοτικής μετάλλαξης σε ετερόζυγο μορφή στο γονίδιο Parkin. Αυτό ήταν μάλλον αναμενόμενο, δεδομένου του μικρού αριθμού του δείγματός μας, της μεγάλης ηλικίας έναρξης της νόσου (γύρω στα 68 έτη για τους ασθενείς της ομάδας A, αλλά και της υποομάδας A2), και της σπανιότητας των μεταλλάξεων στα γονίδια PINK1 και DJ-1, τα οποία ευθύνονται για ένα πολύ μικρό ποσοστό ασθενών με ΑΥΝΕΝΠ. Εντοπίσαμε δύο γενετικές παραλλαγές για τις οποίες δεν βρήκαμε αναφορά στη διεθνή βιβλιογραφία, (339) την pos. 62 T>C στο γονίδιο Parkin και την c.-99 T>C στο γονίδιο DJ-1. Οι γενετικές αυτές παραλλαγές είναι πιθανόν να αντιπροσωπεύουν μη παθογόνους πολυμορφισμούς στον πληθυσμό των Κυκλάδων, αλλά η απουσία ανάλυσης και προσδιορισμού της συχνότητάς τους αντίστοιχα σε ομάδα ελέγχου δεν μας επιτρέπει να εξάγουμε πιο ασφαλή συμπεράσματα για την παθογενετικότητά τους.

Στο γονίδιο Parkin εντοπίσαμε μία γνωστή παθογόνο ποσοτική μετάλλαξη σε ετερόζυγο μορφή, τον διπλασιασμό των εξονίων 2 και 3 (ex2-3dup). Φορέας της μετάλλαξης ήταν μία γυναίκα με τυπική ΝΠ και έναρξη σε ηλικία 82 ετών, η οποία σε λίγα χρόνια από την εκδήλωση της νόσου εμφάνισε άνοια. Η άνοια είναι συχνό σύμπτωμα σε ασθενείς με ΝΠ μεγάλης ηλικίας. (340) Η ασθενής αυτή είχε μία αδερφή που έπασχε επίσης από ΝΠ.

Στην Ελλάδα έχει περιγραφεί μία οικογένεια με ΝΕΝΠ (μέση ηλικία έναρξης: ~25 έτη) και ομόζυγο έλλειμμα των εξονίων 5-7 (ex5-7del) στο γονίδιο Parkin, αποδεικνύοντας ότι οι μεταλλάξεις στο γονίδιο Parkin ευθύνονται για ένα ποσοστό περιπτώσεων με οικογενή ΝΕΝΠ στον ελλαδικό χώρο. (341) Στη δική μας περίπτωση, η ασθενής είχε οικογενή νόσο με κληρονομικότητα συμβατή με αυτοσωματική υπολειπόμενη, έφερε όμως μία μόνο ετερόζυγο ποσοτική μετάλλαξη, και η κλινική της εικόνα ήταν αυτή της τυπικής ΝΠ με έναρξη σε μεγάλη ηλικία, φαινομενικά ασύμβατη με την τυπική κλινική εικόνα των μεταλλάξεων στο γονίδιο Parkin.

Υπάρχει συνεχιζόμενη αντιγνωμία για το αν μία μονήρης ετερόζυγη μετάλλαξη στο γονίδιο Parkin μπορεί να προκαλέσει νόσο. Δεδομένα από μερικές μελέτες υποστηρίζουν ότι η παρουσία μίας μόνο μετάλλαξης στο γονίδιο Parkin μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο εμφάνισης οικογενούς αλλά και σποραδικής ΝΠ και μπορεί να σχετίζεται με νεαρότερη ηλικία έναρξης της νόσου. (234,342) Φαίνεται ότι οι ποσοτικές

μεταλλάξεις στο γονίδιο αυτό έχουν μεγαλύτερη παθογενετικότητα και είναι πιο ικανές να προκαλέσουν νόσο σε ετερόζυγο μορφή σε σχέση με τις σημειακές μεταλλάξεις. (343-345) Η πιθανή παθογενετική δράση των ετερόζυγων μεταλλάξεων στο γονίδιο Parkin θα μπορούσε να εξηγηθεί με τις εξής υποθέσεις: α) μερικές μεταλλάξεις μπορεί να είναι ουσιαστικά επικρατούσες προκαλώντας αναστολή (dominant-negative effect) ή μετατροπή της λειτουργίας του προϊόντος του γονιδίου (toxic gain of function), ή β) υπάρχουν πρόσθετες μεταλλάξεις σε άλλες περιοχές του γονιδίου, που δεν ανιχνεύθηκαν, ή γ) οι μεταλλάξεις αυτές δρουν περισσότερο σαν παράγοντες κινδύνου, που χρειάζεται να συνδυαστούν με άλλους γενετικούς ή περιβαλλοντολογικούς παράγοντες για να προκαλέσουν νόσο. (234)

Η ασθενής μας, που φέρει τον ετερόζυγο διπλασιασμό των εξονίων 2 και 3, έχει τυπική ΝΠ με έναρξη σε μεγάλη ηλικία, φαινότυπο ασύμβατο με τον τυπικό φαινότυπο των μεταλλάξεων Parkin. Παρ' όλα αυτά, έχουν περιγραφεί μεταλλάξεις στο γονίδιο Parkin με ποικίλους φαινότυπους και ποικίλη ηλικία έναρξης. (346-348) Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι οι ασθενείς που φέρουν μονήρη ετερόζυγη μετάλλαξη μπορούν να έχουν φαινότυπο περισσότερο συμβατό με τυπική ΝΠ, με πιο ασύμμετρη έναρξη σε σημαντικά μεγαλύτερη ηλικία, σε σχέση με τους ασθενείς που φέρουν δύο μεταλλάξεις του γονιδίου. (239,349) Συνεπώς, συνεκτιμώντας όλα αυτά τα στοιχεία, η ετερόζυγη μετάλλαξη που φέρει η ασθενής μας στο γονίδιο Parkin είναι πιθανό να σχετίζεται με τη νόσο της.

ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ

GBA (β-γλυκοσερεβροσιδάση)

Πολυάριθμες κλινικές μελέτες, που έχουν γίνει τα τελευταία χρόνια, έχουν αποδείξει τη συσχέτιση μεταξύ των μεταλλάξεων στο γονίδιο της β-γλυκοσερεβροσιδάσης (GBA), που προκαλούν τη Νόσο Gaucher, και της ΝΠ. (288-293) Η παρουσία ενός ή δύο μεταλλαγμένων αλληλίων GBA φαίνεται να είναι ο κυριότερος γενετικός παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη μίας α-συνουκλείνοπάθειας, ειδικά οικογενούς ΝΠ (303) ή ΝΕΝΠ (296-298), και γενικά νοσημάτων με σωμάτια Lewy. (299-302) Σε συμφωνία με τα παραπάνω, υπάρχουν ερευνητικά δεδομένα που υποστηρίζουν ότι είναι πιθανό η ύπαρξη μεταλλάξεων στο γονίδιο αυτό να σχετίζεται με πρωϊμότερη έναρξη της νόσου. (350,351)

Στον Ελληνικό χώρο, η πρώτη μελέτη που διερεύνησε τον ρόλο των GBA μεταλλάξεων στη ΝΠ, κατέδειξε αυξημένη συχνότητα αυτών μόνο σε ασθενείς με ΝΕΝΠ σε σύγκριση με τα άτομα ελέγχου ($p= 0.019$, $OR= 4.2$; $95\%CI= 1.28, 13.82$), και υπέθεσε ότι η παρουσία αυτών των μεταλλάξεων μπορεί να επηρεάζει την ηλικία έναρξης της νόσου στον Ελληνικό πληθυσμό. (352) Σε μία άλλη πρόσφατη ελληνική μελέτη όπου συμμετείχαμε με σποραδικούς ασθενείς με ΝΠ από τις Κυκλάδες, η συχνότητα των μεταλλάξεων στο γονίδιο GBA σε σποραδικούς ασθενείς ήταν 9.5%, σε σύγκριση με 3.4% στα άτομα ελέγχου (διαφορά στατιστικά σημαντική, $p= 0.006$; $OR= 3.24$; $95\% CI= 1.35, 7.81$), ενώ οι ασθενείς με ΝΕΝΠ (ηλικία έναρξης ≤ 50 ετών) είχαν ακόμη μεγαλύτερη πιθανότητα να είναι φορείς μιας τέτοιας μετάλλαξης ($p<0.0001$, $OR= 11.37$; $95\% CI= 3.73, 34.6$). (353) Επομένως, η ύπαρξη μιας GBA μετάλλαξης σχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο νόσησης από ΝΠ σε σποραδικούς ασθενείς, αλλά και με έναρξη των συμπτωμάτων σε νεαρότερη ηλικία. (353) Σε μία μεταγενέστερη μελέτη σε Ελληνικό πληθυσμό ασθενών με οικογενή ΝΠ, όπου επίσης συμμετείχαμε με ασθενείς από τις Κυκλάδες, το ποσοστό των ασθενών που έφεραν μία GBA μετάλλαξη (10.3%) ήταν παρόμοιο με αυτό στους σποραδικούς ασθενείς της προηγούμενης μελέτης (9.5%), ενώ δεν παρατηρήθηκε μεγαλύτερη συχνότητα σε αυτούς με ΝΕΝΠ. (133)

Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο GBA διακρίνονται σε ήπιες, όταν προκαλούν μερική ανεπάρκεια του ενζύμου GBA και νόσο Gaucher τύπου I, και σε πιο σοβαρές, όταν προκαλούν τις βαρύτερες μορφές της νόσου (τύπου II και III). (354) Υπάρχει αντιγνωμία για το αν οι πιο σοβαρές μεταλλάξεις, όπως η L444P, αυξάνουν περισσότερο τον κίνδυνο εμφάνισης της ΝΠ, άποψη που πάντως υποστηρίζεται από μερικές μελέτες. (350,355) Σε μία μάλιστα από αυτές, οι σοβαρές μεταλλάξεις σχετίζονταν με αυξημένο κίνδυνο ΝΠ κατά 13.6 φορές, με νεαρότερη ηλικία έναρξης (55.7 έναντι 60.7 ετών των ασθενών χωρίς GBA μεταλλάξεις) και με παρουσία νοητικών συμπτωμάτων σε 55.6% των ασθενών. Αντίθετα, οι ήπιες μεταλλάξεις αύξαναν τον κίνδυνο της ΝΠ κατά 2.2 φορές, μείωναν την ηλικία έναρξης σε 57.9 έτη και σχετίζονταν με νοητικά συμπτώματα σε 25% των ασθενών. (350)

Υλικό-Μέθοδοι: Στην παρούσα μελέτη αναλύθηκε το γενετικό υλικό από 79 ασθενείς (43 άντρες και 36 γυναίκες), και 49 άτομα ελέγχου (21 άντρες και 28 γυναίκες) από τις Κυκλάδες για μεταλλάξεις στο γονίδιο GBA. Τα χαρακτηριστικά των ασθενών και των ατόμων ελέγχου συνοψίζονται στον Πίνακα 11.

Όλα τα άτομα που συμμετείχαν στη μελέτη ελέγχθηκαν για την ύπαρξη 8 μεταλλάξεων στο γονίδιο GBA, οι οποίες καλύπτουν το 87% των μεταλλάξεων που ανιχνεύονται σε Έλληνες ασθενείς με νόσο Gaucher. Οι μεταλλάξεις αυτές συνοψίζονται στον Συμπληρωματικό Πίνακα 2. (Παράρτημα, στο τέλος του κειμένου) (353) Η μοριακή ανάλυση έγινε στο Τμήμα Ενζυμολογίας και Κυτταρικής λειτουργίας του Ινστιτούτου Υγείας του Παιδιού στην Αθήνα. Η απομόνωση του DNA έγινε από περιφερικά λευκοκύτταρα με την τροποποιημένη μέθοδο αλάτων (modified salting out procedure). Στη συνέχεια, όλα τα δείγματα ελέγχθηκαν με την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης και με ανάλυση με περιοριστικές ενδονουκλεάσες (restriction enzyme analysis).

Πίνακας 11. Χαρακτηριστικά των ατόμων που ελέγχθηκαν για μεταλλάξεις στο γονίδιο GBA.

	Ασθενείς	Άτομα ελέγχου
N	79	49
A	43	21
Γ	36	28
ΘΟΙ	31	
NENΠ	5	
MH±SD (έτη) (εύρος)	75.5±8 (4593)	70.7±7.7 (4887)
MHE±SD (έτη) (εύρος)	69±9.3 (4488)	

N: Απόλυτος αριθμός, A: Άντρες, Γ: Γυναίκες,
 ΘΟΙ: ασθενείς με Θετικό Οικογενειακό Ιστορικό
 NENΠ: ασθενείς με σποραδική Νεαρής Έναρξης ΝΠ
 MH: Μέση Ηλικία, MHE: Μέση Ηλικία Έναρξης

Στατιστική Ανάλυση: Υπολογίσαμε τα ORs και 95% CIs μεταξύ των ασθενών και των ατόμων ελέγχου για την ύπαρξη μεταλλάξεων στο γονίδιο GBA. Συγκρίναμε τα ποσοστά χρησιμοποιώντας Fisher's exact test, ενώ για τη σύγκριση συνεχών μεταβλητών (π.χ.

της μέσης ηλικίας έναρξης) χρησιμοποιήσαμε t-test (θέσαμε το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας όταν $p \leq 0.05$).

Αποτελέσματα: Από τους 79 ασθενείς μας, οι 6 (7.59%) έφεραν μία μετάλλαξη στο γονίδιο GBA, καθώς και 1 από τα 49 άτομα ελέγχου (2.04%) (διαφορά μη σημαντική, OR= 3.94, 95% CI= 0.46, 33.82, $p= 0.249$). Απομονώνοντας τις ομάδες των ασθενών με οικογενή ΝΠ ή σποραδική ΝΕΝΠ, τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 9.67% (3/31) και 20% (1/5), κανένα όμως από αυτά δεν ήταν στατιστικά σημαντικό σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (OR= 5.14, 95% CI= 0.51, 51.88, $p= 0.293$ και OR= 12,00, 95% CI= 0.62, 230.2, $p= 0.178$ αντίστοιχα). Όταν θεωρήσαμε ως μία ενιαία ομάδα τους ασθενείς με αυξημένο γενετικό κίνδυνο, δηλαδή αυτούς με οικογενή ΝΠ και αυτούς με σποραδική ΝΕΝΠ μαζί, το ποσοστό των φορέων μιας GBA μετάλλαξης σε σχέση με τα άτομα ελέγχου δεν διέφερε και πάλι σημαντικά (OR= 6.00, 95% CI= 0.64, 56.19, $p= 0.157$).

Η μέση ηλικία έναρξης της νόσου στους ασθενείς που έφεραν μία GBA μετάλλαξη ήταν περίπου 3 χρόνια μικρότερη σε σύγκριση με τους ασθενείς που δεν ήταν φορείς μετάλλαξης, η διαφορά όμως αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική (66.5 ± 11.7 έναντι 69.3 ± 9.1 , $p= 0.29$).

Από τους φορείς μίας GBA μετάλλαξης, δύο ασθενείς και ένα άτομο ελέγχου έφεραν τη μετάλλαξη N370S, ενώ οι υπόλοιποι τέσσερις ασθενείς έφεραν τη μετάλλαξη L444P.

Τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών που έφεραν GBA μεταλλάξεις συνοψίζονται στον Πίνακα 12.

Πίνακας 12. Χαρακτηριστικά των ασθενών με GBA μετάλλαξη

Ασθενείς	Μετάλλαξη	Φύλο	Ηλικία	Ηλικία έναρξης	Οικογενειακό Ιστορικό	Αρχικό Σύμπτωμα	Άνοια
1	N370S	A	83	77	Ναι	Βραδυκινησία	Ναι
2	N370S	A	79	69	Όχι	Τρόμος	Ναι
3	L444P	A	56	49	Ναι	Βραδυκινησία	Όχι
4	L444P	A	61	55	Ναι	Βραδυκινησία	Όχι
5	L444P	A	75	75	Όχι	Τρόμος	Όχι
6	L444P	A	77	74	Όχι	Τρόμος	Όχι

Συζήτηση: Αν και το δείγμα μας είναι μικρό και τα αποτελέσματά μας πρέπει να ερμηνευτούν με επιφύλαξη, το ποσοστό των ασθενών μας που έφεραν μία GBA μετάλλαξη (7.59%) είναι συγκρίσιμο με αυτό ανάλογων Ευρωπαϊκών μελετών (6.7%). (309) Η ύπαρξη μίας GBA μετάλλαξης ήταν πολύ πιο συχνή, σε ετερόζυγη μορφή, στους ασθενείς με ΝΠ σε σχέση με τα άτομα ελέγχου (OR= 3.94), αλλά, πιθανότατα λόγω του μικρού αριθμού του δείγματος, η διαφορά αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Η έλλειψη στατιστικής σημαντικότητας μπορεί να προκύπτει και από την μεγάλη μέση ηλικία έναρξης της νόσου στους ασθενείς μας (69 έτη), αφού και οι δύο μελέτες που έχουν γίνει έως τώρα σε ελληνικό πληθυσμό έχουν δείξει αυξημένη συχνότητα GBA μεταλλάξεων κυρίως σε ασθενείς με νεαρή ηλικία έναρξης (≤ 50 ετών). (352,353) Στη διεθνή βιβλιογραφία, η ύπαρξη μιας μετάλλαξης στο γονίδιο GBA έχει συσχετιστεί με νεαρότερη ηλικία έναρξης της ΝΠ από 4 έως 10 έτη (299,350,351). Στο δικό μας δείγμα, μόνο 5 από τους 79 ασθενείς μας είχαν ηλικία έναρξης ≤ 50 ετών, μειώνοντας την πιθανότητα ανεύρεσης GBA μεταλλάξεων ανάμεσα στους ασθενείς μας με ΝΠ.

Από τους ασθενείς με GBA μετάλλαξη, τέσσερις έφεραν τη μετάλλαξη L444P και δύο την N370S. Ένα άτομο ελέγχου έφερε την N370S, ενώ κανένα δεν έφερε την L444P. Στη μεγάλη πολυκεντρική Ευρωπαϊκή μελέτη των Lesage et al, το 70% των μεταλλαγμένων αλληλίων GBA έφεραν αυτές τις δύο μεταλλάξεις. (309) Κανένας από τους ασθενείς μας δεν έφερε τις μεταλλάξεις D409H, IVS10-1G>A, D409H;H255Q, E326K και H255Q που παρατηρήθηκαν στις άλλες δύο ελληνικές μελέτες των Kalinderi et al. και Moraitou et al. (352,353) Υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι ο κίνδυνος εμφάνισης ΝΠ είναι μεγαλύτερος στους ασθενείς με ΝΠ που φέρουν τις σοβαρότερες GBA μεταλλάξεις (κυρίως την L444P) σε σύγκριση με τις πιο ήπιες (όπως η N370S), και ότι ίσως η ύπαρξη σοβαρότερων GBA μεταλλάξεων συνδέεται με νεότερη ηλικία έναρξης της νόσου. (350,355) Σε συμφωνία με τα παραπάνω δεδομένα, στη δική μας μελέτη, η σοβαρότερη μετάλλαξη L444P ήταν πιο συχνή από την N370S σε ασθενείς με ΝΠ, ενώ το μοναδικό άτομο ελέγχου έφερε την N370S. Επιπλέον, η μέση ηλικία έναρξης της νόσου σε αυτούς που έφεραν τη μετάλλαξη L444P ήταν 10 χρόνια μικρότερη σε σχέση με τους φορείς της μετάλλαξης N370S (63.2 έναντι 73.0, $p= 0.3$), αν και δεν μπορεί να τεκμηριωθεί στατιστική σημαντικότητα λόγω του μικρού αριθμού του δείγματός μας.

Όπως προαναφέρθηκε, τα αποτελέσματα της μελέτης μας πρέπει να ερμηνευτούν με επιφύλαξη, λόγω του μικρού μεγέθους του δείγματός μας και της αναζήτησης συγκεκριμένων μεταλλάξεων στο γονίδιο GBA, αντί της ανάλυσης όλου του γονιδίου με την τεχνική της ανάλυσης της αλληλουχίας DNA. Παρ' όλα αυτά, είναι ενδεικτικά της

συχνότητας των μεταλλάξεων στο γονίδιο GBA σε ασθενείς με ΝΠ από τις Κυκλάδες, και του ρόλου τους στην κλινική έκφραση της νόσου.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Αν και τα αποτελέσματα της μελέτης μας για την Οικογενειακή Συνάθροιση της ΝΠ στη Σύρο συνηγορούν υπέρ της ύπαρξης σημαντικού γενετικού υπόβαθρου στην αιτιολογία της ΝΠ, τα αποτελέσματα της γενετικής ανάλυσης που ακολούθησε σε γνωστά γονίδια δεν ανέδειξαν αξιόλογα ευρήματα. Εκτός από μία ετερόζυγο παθογόνο μετάλλαξη στο γονίδιο Parkin και έναν προστατευτικό πολυμορφισμό στο γονίδιο LRKK2, δεν ανιχνεύσαμε άλλες γενετικές παραλλαγές που να σχετίζονται με τη ΝΠ στα γονίδια SNCA, LRRK2, Parkin, DJ-1, PINK1 και VPS35 που μελετήθηκαν, και που έχει βρεθεί να προκαλούν μονογονιδιακή μορφή ΝΠ. Η GBA μετάλλαξη L444P ήταν σαφώς πιο συχνή σε ασθενείς παρά στα άτομα ελέγχου και πιθανώς να σχετίζεται με τη νόσο στις Κυκλάδες, αλλά ο μικρός αριθμός περιστατικών δεν μας επέτρεψε να αποδείξουμε στατιστικά σημαντική συσχέτιση. Ένας λόγος για την σχετική έλλειψη ανεύρεσης επιβεβαιωμένων γενετικών παραγόντων μπορεί να είναι η μεγάλη ηλικία έναρξης των ασθενών μας που συμβαδίζει περισσότερο με τυπική ιδιοπαθή ΝΠ, καθώς τα περισσότερα γενετικά ελλείμματα που έχουν ταυτοποιηθεί μέχρι σήμερα αφορούν περιστατικά με πρώιμη ηλικία έναρξης. Συνεπώς, ο γενετικός παράγοντας που πιθανώς ευθύνεται για την εμφάνιση της ΝΠ στις Κυκλάδες φαίνεται ότι είναι διαφορετικός από τα γονίδια που μελετήσαμε και που κυρίως (πλην του LRKK2) προκαλούν ΝΕΝΠ. Έτσι, πιθανώς η Σύρος, λόγω και της πληθυσμιακής ιδιαιτερότητάς της, όπως και άλλοι γενετικά απομονωμένοι πληθυσμοί, να μπορεί να προσφέρει την δυνατότητα ανακάλυψης νέων γονιδίων που σχετίζονται με τη ΝΠ και μάλιστα με την τυπική ιδιοπαθή μορφή της.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Kempster PA, Hurwitz B, Lees AJ. A new look at James Parkinson's Essay on the Shaking Palsy. *Neurology* 2007;69:482–485.
2. Nussbaum RL, Ellis CE. Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2003;348:1356–1364.
3. De Rijk MC, Breteler MM, Graveland GA, Ott A, Grobbee DE, van der Meche FG, et al. Prevalence of Parkinson's disease in the elderly: the Rotterdam Study. *Neurology* 1995;45:2143–2146.
4. Bower JH, Maraganore DM, McDonnell SK, Rocca WA. Incidence and distribution of parkinsonism in Olmsted County, Minnesota, 1976–1990. *Neurology* 1999;52:1214–1220.
5. De Lau LM, Breteler MM. Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2006;5:525–535.
6. Marsden CD. Movement disorders. In: Weatherall DJ, Ledingham JGG, Warrell DA, editors. *Oxford textbook of medicine*, vol. 3. New York: Oxford University Press Inc.; 1996. p. 3998–4022.
7. Bernheimer H, Birkmayer W, Hornykiewicz O, Jellinger K, Seitelberger F. Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington. Clinical, morphological and neurochemical correlations. *J Neurol Sci* 1973;20:415–455.
8. Orr CF, Rowe DB, Halliday GM. An inflammatory review of Parkinson's disease. *Prog Neurobiol* 2002;68:325–340.
9. Gibb WR, Lees AJ. The relevance of the Lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1988;51:745–752.
10. McNaught KS, Olanow CW. Proteolytic stress: a unifying concept for the etiopathogenesis of Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2003;53:S73–84.
11. Forno LS. Neuropathology of Parkinson's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996;55:259–272.
12. Spillantini MG, Crowther RA, Jakes R, Cairns NJ, Lantos PL, Goedert M. Filamentous alpha-synuclein inclusions link multiple system atrophy with

- Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Neurosci Lett* 1998;251:205–208.
13. Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992;55:181–184.
 14. Hughes AJ, Daniel SE, Lees AJ. Improved accuracy of clinical diagnosis of Lewy body Parkinson's disease. *Neurology* 2001;57:1497–1499.
 15. Calne DB, Snow BJ, Lee C. Criteria for diagnosing Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1992;32(Suppl):S125–127.
 16. Gelb DJ, Oliver E, Gilman S. Diagnostic criteria for Parkinson disease. *Arch Neurol* 1999;56:33–39.
 17. Schapira AH. Future directions in the treatment of Parkinson's disease. *Mov Disord* 2007;22 Suppl 17:S385–S391.
 18. Chen RC, Chang SF, Su CL, Chen TH, Yen MF, Wu HM, et al. Prevalence, incidence, and mortality of PD: a door-to-door survey in Ilan county, Taiwan. *Neurology* 2001;57:1679–1686.
 19. Morens DM, Davis JW, Grandinetti A, Ross GW, Popper JS, White LR. Epidemiologic observations on Parkinson's disease: incidence and mortality in a prospective study of middle-aged men. *Neurology* 1996;46:1044–1050.
 20. Berger K, Breteler MM, Helmer C, Inzitari D, Fratiglioni L, Trenkwalder C, et al. Prognosis with Parkinson's disease in Europe: a collaborative study of population-based cohorts. *Neurologic Diseases in the Elderly Research Group. Neurology* 2000;54:S24–27.
 21. Chen H, Zhang SM, Schwarzschild MA, Hernan MA, Ascherio A. Survival of Parkinson's disease patients in a large prospective cohort of male health professionals. *Mov Disord* 2006;21:1002–1007.
 22. D'Amelio M, Ragonese P, Morgante L, Reggio A, Callari G, Salemi G, et al. Long-term survival of Parkinson's disease: a population-based study. *J Neurol* 2006;253:33–37.
 23. Elbaz A, Bower JH, Peterson BJ, Maraganore DM, McDonnell SK, Ahlskog JE, et al. Survival study of Parkinson disease in Olmsted County, Minnesota. *Arch Neurol* 2003;60:91–96.

24. Herlofson K, Lie SA, Arslan D, Larsen JP. Mortality and Parkinson disease: a community based study. *Neurology* 2004;62:937–942.
25. Louis ED, Marder K, Cote L, Tang M, Mayeux R. Mortality from Parkinson disease. *Arch Neurol* 1997;54:260–264.
26. Diem-Zangerl A, Seppi K, Oberaigner W, Poewe W. Mortality in Parkinson's disease, a 20-year follow-up study. *Mov Disord* 2010;25:661–662.
27. Ishihara LS, Cheesbrough A, Brayne C, Schrag A. Estimated life expectancy of Parkinson's patients compared with the UK population. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007;78:1304–1309.
28. Kondo K, Kurland LT, Schull WJ. Parkinson's disease. Genetic analysis and evidence of a multifactorial etiology. *Mayo Clin Proc* 1973;48:465–475.
29. Poskanzer DC, Schwab RS. Cohort analysis of Parkinson's syndrome: evidence for a single etiology related to subclinical infection about 1920. *J Chronic Dis* 1963;16:961–973.
30. Langston JW, Ballard P, Tetrud JW, Irwin I. Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science* 1983;19:979–980.
31. Singer TP, Ramsay RR. Mechanism of the neurotoxicity of MPTP. An update. *FEBS Lett* 1990;274:1–8.
32. Elbaz A, Moisan F. Update in the epidemiology of Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol* 2008;21:454–460.
33. Di Monte DA. The environment and Parkinson's disease: is the nigrostriatal system preferentially targeted by neurotoxins? *Lancet Neurol* 2003;2:531–538.
34. Thacker EL, Ascherio A. Familial aggregation of Parkinson's disease: a meta-analysis. *Mov Disord* 2008;23:1174–1183.
35. Ramirez A, Heimbach A, Grundemann J, Stiller B, Hampshire D, Cid LP, et al. Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in *ATP13A2*, encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase. *Nat Genet* 2006;38:1184–1191.
36. Leroy E, Boyer R, Auburger G, Leube B, Ulm G, Mezey E, et al. The ubiquitin pathway in Parkinson's disease. *Nature* 1998;395:451–452.

37. Shimura H, Schlossmacher MG, Hattori N, Frosch MP, Trockenbacher A, Schneider R, et al. Ubiquitination of a new form of alpha-synuclein by parkin from human brain: implications for Parkinson's disease. *Science* 2001;293:263–269.
38. Mitsumoto A, Nakagawa Y. DJ-1 is an indicator for endogenous reactive oxygen species elicited by endotoxin. *Free Radic Res* 2001;35:885–893.
39. Tanner CM. Is the cause of Parkinson's disease environmental or hereditary? Evidence from twin studies. *Adv Neurol* 2003;91:133–142.
40. Priyadarshi A, Khuder SA, Schaub EA, Shrivastava S. A metaanalysis of Parkinson's disease and exposure to pesticides. *Neurotoxicology* 2000;21:435–440.
41. Barbeau A, Roy M, Bernier G, Campanella G, Paris S. Ecogenetics of Parkinson's disease: prevalence and environmental aspects in rural areas. *Can J Neurol Sci* 1987;14:36–41.
42. Svenson LW, Platt GH, Woodhead SE. Geographic variations in the prevalence rates of Parkinson's disease in Alberta. *Can J Neurol Sci* 1993;20:307–311.
43. Yesalis CE 3rd, Lemke JH, Wallace RB, Kohout FJ, Morris MC. Health status of the rural elderly according to farm work history: the Iowa 65? rural health study. *Arch Environ Health* 1985;40:245–453.
44. Taba P, Asser T. Incidence of Parkinson's disease in estonia. *Neuroepidemiology* 2003;22:41–45.
45. Wirdefeldt K, Adami HO, Cole P, Trichopoulos D, Mandel J. Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. *Eur J Epidemiol* 2011;26 Suppl 1:S1-58.
46. Jankovic J. Searching for a relationship between manganese and welding and Parkinson's disease. *Neurology* 2005;64:2021–2028.
47. Kuhn W, Winkel R, Woitalla D, Meves S, Przuntek H, Muller T. High prevalence of parkinsonism after occupational exposure to lead-sulfate batteries. *Neurology* 1998;50:1885–1886.
48. Dexter DT, Wells FR, Agid F, Agid Y, Lees AJ, Jenner P, et al. Increased nigral iron content in postmortem parkinsonian brain. *Lancet* 1987;2:1219–1220.
49. Dexter DT, Carayon A, Javoy-Agid F, Agid Y, Wells FR, Daniel SE, et al. Alterations in the levels of iron, ferritin and other trace metals in Parkinson's

- disease and other neurodegenerative diseases affecting the basal ganglia. *Brain* 1991;114:1953–1975.
50. Ngim CH, Devathasan G. Epidemiologic study on the association between body burden mercury level and idiopathic Parkinson's disease. *Neuroepidemiology* 1989;8:128–141.
 51. Seidler A, Hellenbrand W, Robra BP, Vieregge P, Nischan P, Joerg J, et al. Possible environmental, occupational, and other etiologic factors for Parkinson's disease: a case-control study in Germany. *Neurology* 1996;46:1275–1284.
 52. Dick FD, De Palma G, Ahmadi A, Scott NW, Prescott GJ, Bennett J, et al. Environmental risk factors for Parkinson's disease and parkinsonism: the Geoparkinson study. *Occup Environ Med* 2007;64:666–672.
 53. Firestone JA, Lundin JI, Powers KM, Smith-Weller T, Franklin GM, Swanson PD, et al. Occupational factors and risk of Parkinson's disease: a population-based case-control study. *Am J Ind Med* 2010;53:217–223.
 54. Tan EK, Tan C, Fook-Chong SM, Lum SY, Chai A, Chung H, et al. Dose-dependent protective effect of coffee, tea, and smoking in Parkinson's disease: a study in ethnic Chinese. *J Neurol Sci* 2003;216:163–167.
 55. Gorell JM, Rybicki BA, Johnson CC, Peterson EL. Smoking and Parkinson's disease: a dose-response relationship. *Neurology* 1999;52:115–119.
 56. Morens DM, Grandinetti A, Reed D, White LR, Ross GW. Cigarette smoking and protection from Parkinson's disease: false association or etiologic clue? *Neurology* 1995;45:1041–1051.
 57. Riggs JE. Cigarette smoking and Parkinson disease: the illusion of a neuroprotective effect. *Clin Neuropharmacol* 1992;15:88–99.
 58. Hong DP, Fink AL, Uversky VN. Smoking and Parkinson's disease: does nicotine affect alpha-synuclein fibrillation? *Biochim Biophys Acta* 2009;1794:282–290.
 59. Ross GW, Petrovitch H. Current evidence for neuroprotective effects of nicotine and caffeine against Parkinson's disease. *Drugs Aging* 2001;18:797–806.
 60. Ragonese P, Salemi G, Morgante L, Aridon P, Epifanio A, Buffa D, et al. A case-control study on cigarette, alcohol, and coffee consumption preceding Parkinson's disease. *Neuroepidemiology* 2003;22:297–304.

61. Hancock DB, Martin ER, Stajich JM, Jewett R, Stacy MA, Scott BL, et al. Smoking, caffeine, and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in families with Parkinson disease. *Arch Neurol* 2007;64:576–580.
62. Checkoway H, Powers K, Smith-Weller T, Franklin GM, Longstreth WT Jr, Swanson PD. Parkinson's disease risks associated with cigarette smoking, alcohol consumption, and caffeine intake. *Am J Epidemiol* 2002;155:732–738.
63. Evans AH, Lawrence AD, Potts J, MacGregor L, Katzenschlager R, Shaw K, et al. Relationship between impulsive sensation seeking traits, smoking, alcohol and caffeine intake, and Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006;77:317–21.
64. Hernan MA, Takkouche B, Caamano-Isorna F, Gestal-Otero JJ. A meta-analysis of coffee drinking, cigarette smoking, and the risk of Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2002;52:276–284.
65. Dong JQ, Zhang ZX, Zhang KL. Parkinson's disease and smoking: an integral part of PD's etiological study. *Biomed Environ Sci* 2003;16:173–179.
66. Fall PA, Fredrikson M, Axelson O, Granerus AK. Nutritional and occupational factors influencing the risk of Parkinson's disease: a case-control study in southeastern Sweden. *Mov Disord* 1999;14:28–37.
67. Morano A, Jimenez-Jimenez FJ, Molina JA, Antolin MA. Risk factors for Parkinson's disease: case-control study in the province of Caceres, Spain. *Acta Neurol Scand*. 1994;89:164–170.
68. Chan DK, Woo J, Ho SC, Pang CP, Law LK, Ng PW, et al. Genetic and environmental risk factors for Parkinson's disease in a Chinese population. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998;65:781–784.
69. Preux PM, Condet A, Anglade C, Druet-Cabanac M, Debrock C, Macharia W, et al. Parkinson's disease and environmental factors. Matched case-control study in the Limousin region, France. *Neuroepidemiology* 2000;19:333–337.
70. Paganini-Hill A. Risk factors for parkinson's disease: the leisure world cohort study. *Neuroepidemiology* 2001;20:118–124.
71. Hu G, Bidel S, Jousilahti P, Antikainen R, Tuomilehto J. Coffee and tea consumption and the risk of Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2007;22:2242–2248.

72. Ravenholt RT, Foege WH. 1918 influenza, encephalitis lethargica, parkinsonism. *Lancet* 1982;2:860–864.
73. Takahashi M, Yamada T. A possible role of influenza A virus infection for Parkinson's disease. *Adv Neurol* 2001;86:91–104.
74. Schwartz J, Elizan TS. Search for viral particles and virusspecific products in idiopathic Parkinson disease brain material. *Ann Neurol* 1979;6:261–263.
75. McGeer PL, McGeer EG. Inflammation and neurodegeneration in Parkinson's disease. *ParkinsonismRelat Disord* 2004;10(Suppl 1):S3–7.
76. Esposito E, Di Matteo V, Benigno A, Pierucci M, Crescimanno G, Di Giovanni G. Non-steroidal anti-inflammatory drugs in Parkinson's disease. *Exp Neurol* 2007;205:295–312.
77. Lacava G. Boxer's Encephalopathy. *J Sports Med Phys Fitness* 1963;168:87–92.
78. Marsden CD. Parkinson's disease in twins. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1987;50:105–106.
79. Marttila RJ, Kaprio J, Koskenvuo M, Rinne UK. Parkinson's disease in a nationwide twin cohort. *Neurology* 1988;38:1217–1219.
80. Ward CD, Duvoisin RC, Ince SE, Nutt JD, Eldridge R, Calne DB. Parkinson's disease in 65 pairs of twins and in a set of quadruplets. *Neurology* 1983;33:815–824.
81. Vieregge P, Schiffke KA, Friedrich HJ, Muller B, Ludin HP. Parkinson's disease in twins. *Neurology* 1992;42:1453–1461.
82. Tanner CM, Ottman R, Goldman SM, Ellenberg J, Chan P, Mayeux R, et al. Parkinson disease in twins: an etiologic study. *Jama* 1999;281:341–346.
83. Wirdefeldt K, Gatz M, Schalling M, Pedersen NL. No evidence for heritability of Parkinson disease in Swedish twins. *Neurology* 2004;63:305–311.
84. Piccini P, Burn DJ, Ceravolo R, Maraganore D, Brooks DJ. The role of inheritance in sporadic Parkinson's disease: evidence from a longitudinal study of dopaminergic function in twins. *Ann Neurol* 1999;45:577–582.
85. Simon DK, Lin MT, Pascual-Leone A. "Nature versus nurture" and incompletely penetrant mutations. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 2002;72:686–689.

86. Gowers WR. A manual of diseases of the nervous system. Philadelphia: Blakiston, 1893.
87. Mjones H. Paralysis agitans; clinical and genetic study. *Acta Psychiatr Neurol* 1949;54 (suppl):1–194.
88. McCann SJ, LeCouteur DG, Green AC, Brayne C, Johnson AG, Chan D, et al. The epidemiology of Parkinson's disease in an Australian population. *Neuroepidemiology* 1998;17:310–317.
89. Elbaz A, Grigoletto F, Baldereschi M, Breteler MM, Manubens-Bertran JM, Lopez-Pousa S, et al. Familial aggregation of Parkinson's disease: a population-based case–control study in Europe. *europarkinson Study Group. Neurology* 1999;52:1876–1882.
90. Semchuk KM, Love EJ. Effects of agricultural work and other proxy-derived case–control data on Parkinson's disease risk estimates. *Am J Epidemiol* 1995;141:747–754.
91. Taylor CA, Saint-Hilaire MH, Cupples LA, Thomas CA, Burchard AE, Feldman RG, et al. Environmental, medical, and family history risk factors for Parkinson's disease: a New England-based case control study. *Am J Med Genet* 1999;88:742–749.
92. De Michele G, Filla A, Volpe G, De Marco V, Gogliettino A, Ambrosio G, et al. Environmental and genetic risk factors in Parkinson's disease: a case–control study in southern Italy. *Movement Disord* 1996;11:17–23.
93. Uitti RJ, Baba Y, Wszolek ZK, Putzke DJ. Defining the Parkinson's disease phenotype: initial symptoms and baseline characteristics in a clinical cohort. *Parkinsonism Rel. Disord* 2005;11:139–145.
94. Autere JM, Moilanen JS, Myllyla VV, Majamaa K. Familial aggregation of Parkinson's disease in a Finnish population. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 2000;69:107–109.
95. Payami H, Larsen K, Bernard S, Nutt J. Increased risk of Parkinson's disease in parents and siblings of patients. *Ann Neurol* 1994;36:659–661.
96. Marder K, Levy G, Louis ED, Mejia-Santana H, Cote L, Andrews H, et al. Familial aggregation of early and late-onset Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2003;54:507–513.

97. Bonifati V, Fabrizio E, Vanacore N, De Mari M, Meo G. Familial Parkinson's disease: a clinical genetic analysis. *Can J Neurol Sci* 1995;22:272–279.
98. Rybicki BA, Johnson CC, Peterson EL, Kortsha GX, Gorell JM. A family history of Parkinson's disease and its effect on other PD risk factors. *Neuroepidemiology* 1999;18:270–278.
99. Kurz M, Alves G, Aarsland D, Larsen JP. Familial Parkinson's disease: a community-based study. *Eur J Neurol* 2003;10:159–163.
100. Korchounov A, Schipper HI, Preobrazhenskaya IS, Kessler KR, Yakhno NN. Differences in age at onset and familial aggregation between clinical types of idiopathic Parkinson's disease. *Movement Disord* 2004;19:1059–1064
101. Payami H, Bernard S, Larsen K, Kaye J, Nutt J. Genetic anticipation in Parkinson's disease. *Neurology* 1995;45:135–138.
102. Kuopio A, Marttila RJ, Helenius H, Rinne UK. Familial occurrence of Parkinson's disease in a community-based case-control study. *Parkinsonism Relat Disord* 2001;7:297–303.
103. Uitti RJ, Shinotoh H, Hayward M, Schulzer M, Mak E, Calne DB. "Familial Parkinson's disease"—a case-control study of families. *Can J Neurol Sci* 1997;24:127–132.
104. Marder K, Tang MX, Mejia H, Alfaró B, Cote L, Louis E, et al. Risk of Parkinson's disease among first degree relatives: a community-based study. *Neurology* 1996;47:155–160.
105. Rocca WA, McDonnell SK, Strain KJ, Bower JH, Ahlskog JE, Elbaz A, et al. Familial aggregation of Parkinson's disease: the Mayo Clinic family study. *Ann Neurol* 2004;56:495–502.
106. Thacker EL, Ascherio A. Familial aggregation of Parkinson's disease: a meta-analysis. *Mov Disord* 2008;23:1174-1183.
107. Khoury MJ, Beaty TH, Liang KY. Can familial aggregation of disease be explained by familial aggregation of environmental risk factors? *Am J Epidemiol* 1988;127:674–683.
108. Sellbach AN, Boyle RS, Silburn PA, Mellick GD. Parkinson's disease and family history. *Parkinsonism Relat Disord* 2006;12:399-409.

109. de Rijk MC, Tzourio C, Breteler MM, Dartigues JF, Amaducci L, Lopez-Pousa S, et al. Prevalence of parkinsonism and Parkinson's disease in Europe: the EUROPARKINSON Collaborative Study. European Community Concerted Action on the Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1997;62:10–15.
110. Uitti RJ, Baba Y, Wszolek ZK, Putzke DJ. Defining the Parkinson's disease phenotype: initial symptoms and baseline characteristics in a clinical cohort. *Parkinsonism Rel Disord* 2005;11:139–145.
111. Rocca WA, Peterson BJ, McDonnell SK, Bower JH, Ahlskog JE, Schaid DJ, et al. The Mayo Clinic family study of Parkinson's disease: study design, instruments, and sample characteristics. *Neuroepidemiology* 2005;24:151–167.
112. Elbaz A, McDonnell SK, Maraganore DM, Strain KJ, Schaid DJ, Bower JH, et al. Validity of family history data on PD: evidence for a family information bias. *Neurology* 2003;61:11–17.
113. Marder K, Levy G, Louis ED, Mejia-Santana H, Cote L, Andrews H, et al. Accuracy of family history data on Parkinson's disease. *Neurology* 2003;61:18–23.
114. Andreasen NC, Rice J, Endicott J, Reich T, Coryell W. The family history approach to diagnosis How useful is it? *Arch Gen Psychiatr* 1986;43:421–429.
115. Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, et al. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 1997;276:2045–2047.
116. Kitada T, Asakawa S, Hattori N, Matsumine H, Yamamura Y, Minoshima S, et al. Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature* 1998;392:605–608.
117. Valente EM, Salvi S, Ialongo T, Marongiu R, Elia AE, Caputo V, et al. PINK1 mutations are associated with sporadic early-onset parkinsonism. *Ann Neurol* 2004;56:336–341.
118. Bonifati V, Rizzu P, Squitieri F, Krieger E, Vanacore N, van Swieten JC, et al. DJ-1 (PARK7), a novel gene for autosomal recessive, early onset parkinsonism. *Neurol Sci* 2003;24:159–160.

119. Clark LN, Wang Y, Karlins E, Saito L, Mejia-Santana H, Harris J, et al. Frequency of LRRK2 mutations in early- and late-onset Parkinson disease. *Neurology* 2006;67:1786–1791.
120. Logroscino G. The role of early life environmental risk factors in Parkinson disease: what is the evidence? *Environ Health Perspect* 2005;113:1234–1238.
121. de Lau LM, Breteler MM. Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2006;5:525–535.
122. Weiss KM, Chakraborty R, Majumder PP, Smouse PE. Problems in the assessment of relative risk of chronic disease among biological relatives of affected individuals. *J Chronic Dis* 1982;35:539–551.
123. Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ, Jakes R, Goedert M. Alphasynuclein in Lewy bodies. *Nature* 1997;388:839–840.
124. Klein C, Westenberger A. Genetics of Parkinson's disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012;2:a008888.
125. Corti O, Lesage S, Brice A. What genetics tells us about the causes and mechanisms of Parkinson's disease. *Physiol Rev* 2011;91:1161-1218.
126. Polymeropoulos MH, Higgins JJ, Golbe LI, Johnson WG, Ide SE, Di Iorio G, et al. Mapping of a gene for Parkinson's disease to chromosome 4q21-q23. *Science* 1996;274:1197–1199.
127. Singleton AB, Farrer M, Johnson J, Singleton A, Hague S, Kachergus J, et al. α -Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science* 2003;302:841.
128. Ibanez P, Bonnet AM, Debarges B, Lohmann E, Tison F, Pollak P, et al. Causal relation between a-synuclein gene duplication and familial Parkinson's disease. *Lancet* 2004;364:1169–1171.
129. Papadimitriou A, Veletza V, Hadjigeorgiou GM, Patrikiou A, Hirano M, Anastasopoulos I. Mutated alpha-synuclein gene in two Greek kindreds with familial PD: incomplete penetrance? *Neurology* 1999;52:651–654.
130. Athanassiadou A, Voutsinas G, Psiouri L, Leroy E, Polymeropoulos MH, Ilias A, et al. Genetic analysis of families with Parkinson disease that carry the Ala53Thr mutation in the gene encoding a-synuclein. *Am J Hum Genet* 1999;65:555–558.

131. Spira PJ, Sharpe DM, Halliday G, Cavanagh J, Nicholson GA. Clinical and pathological features of a Parkinsonian syndrome in a family with an Ala53Thr alpha-synuclein mutation. *Ann Neurol* 2001;49:313–319.
132. Golbe LI, Di Iorio G, Bonavita V, Miller DC, Duvoisin RC. A large kindred with autosomal dominant Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1990;27:276–282.
133. Bozi M, Papadimitriou D, Antonellou R, Moraitou M, Maniati M, Vassilatis D, et al. Genetic assessment of familial and early-onset Parkinson's Disease in a Greek population. *Eur Journal Neurol* 2013, in press.
134. Choi JM, Woo MS, Ma HI, Kang SY, Sung YH, Yong SW, et al. Analysis of PARK genes in a Korean cohort of early-onset Parkinson disease. *Neurogenetics* 2008;9:263–269.
135. Ki CS, Stavrou EF, Davanos N, Lee WY, Chung EJ, Kim JY, et al. The Ala53Thr mutation in the alpha-synuclein gene in a Korean family with Parkinson disease. *Clin Genet* 2007;71:471–473.
136. Puschmann A, Ross OA, Vilarino-Guell C, Lincoln SJ, Kachergus JM, Cobb SA, et al. A Swedish family with de novo a-synuclein A53T mutation: Evidence for early cortical dysfunction. *Parkinsonism Relat Disord* 2009;15:627–632.
137. Kruger R, Kuhn W, Muller T, Woitalla D, Graeber M, Kosel S, et al. Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Nat Genet* 1998;18:106–108.
138. Zarranz JJ, Alegre J, Gomez-Esteban JC, Lezcano E, Ros R, Ampuero I, et al. The new mutation, E46K, of alpha-synuclein causes Parkinson and Lewy body dementia. *Ann Neurol* 2004;55:164–173.
139. Kiely AP, Asi YT, Kara E, Limousin P, Ling H, Lewis P, et al. α -Synucleinopathy associated with G51D SNCA mutation: a link between Parkinson's disease and multiple system atrophy? *Acta Neuropathol* 2013;125:753-769.
140. Proukakis C, Dudzik CG, Brier T, MacKay DS, Cooper JM, Millhauser GL, Houlden H, Schapira AH. A novel α -synuclein missense mutation in Parkinson disease. *Neurology* 2013;80:1062-1064.
141. Appel-Cresswell S, Vilarino-Guell C, Encarnacion M, Sherman H, Yu I, Shah B, et al. Alpha-synuclein p.H50Q, a novel pathogenic mutation for Parkinson's disease. *Mov Disord* 2013;28:811-813.

142. Michell AW, Barker RA, Raha SK, Raha-Chowdhury R. A case of late onset sporadic Parkinson's disease with an A53T mutation in alpha-synuclein. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76:596–597.
143. Papapetropoulos S, Ellul J, Paschalis C, Athanassiadou A, Papadimitriou A, Papapetropoulos T. Clinical characteristics of the alpha-synuclein mutation (G209A)-associated Parkinson's disease in comparison with other forms of familial Parkinson's disease in Greece. *Eur J Neurol* 2003;10:281–286.
144. Kruger R, Kuhn W, Leenders KL, Sprengelmeyer R, Muller T, Woitalla D, et al. Familial parkinsonism with synuclein pathology: clinical and PET studies of A30P mutation carriers. *Neurology* 2001;56:1355–1362.
145. Ibanez P, Lesage S, Janin S, Lohmann E, Durif F, Destee A, et al. a-Synuclein gene rearrangements in dominantly inherited parkinsonism: Frequency, phenotype, and mechanisms. *Arch Neurol* 2009;66:102–108.
146. Chartier-Harlin MC, Kachergus J, Roumier C, Mouroux V, Douay X, Lincoln S, et al. Alpha-synuclein locus duplication as a cause of familial Parkinson's disease. *Lancet* 2004;364:1167–1169.
147. Fuchs J, Nilsson C, Kachergus J, Munz M, Larsson EM, Schule B, et al. Phenotypic variation in a large Swedish pedigree due to SNCA duplication and triplication. *Neurology* 2007;68:916–922.
148. Farrer M, Kachergus J, Forno L, Lincoln S, Wang DS, Hulihan M, et al. Comparison of kindreds with parkinsonism and a-synuclein genomic multiplications. *Ann Neurol* 2004;55:174–179.
149. Ikeuchi T, Kakita A, Shiga A, Kasuga K, Kaneko H, Tan CF, et al. Patients homozygous and heterozygous for SNCA duplication in a family with parkinsonism and dementia. *Arch Neurol* 2008;65:514–519.
150. Uchiyama T, Ikeuchi T, Ouchi Y, Sakamoto M, Kasuga K, Shiga A, et al. Prominent psychiatric symptoms and glucose hypometabolism in a family with a SNCA duplication. *Neurology* 2008;71:1289–1291.
151. Nishioka K, Hayashi S, Farrer MJ, Singleton AB, Yoshino H, Imai H, et al. Clinical heterogeneity of alpha-synuclein gene duplication in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2006;59:298–309.

152. Ross OA, Braithwaite AT, Skipper LM, Kachergus J, Hulihan MM, Middleton FA, et al. Genomic investigation of alpha-synuclein multiplication and parkinsonism. *Ann Neurol* 2008;63:743–750.
153. Sironi F, Trotta L, Antonini A, Zini M, Ciccone R, Della Mina E, et al. alpha-Synuclein multiplication analysis in Italian familial Parkinson disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2010;16:228–231.
154. Ahn TB, Kim SY, Kim JY, Park SS, Lee DS, Min HJ, et al. Alpha-Synuclein gene duplication is present in sporadic Parkinson disease. *Neurology* 2008;70:43–49.
155. Brueggemann N, Odin P, Gruenewald A, Tadic V, Hagenah J, Seidel G, et al. Re: Alpha-synuclein gene duplication is present in sporadic Parkinson disease. *Neurology* 2008;71:1294.
156. Troiano AR, Cazeneuve C, Le Ber I, Bonnet AM, Lesage S, A. Re: Alpha-synuclein gene duplication is present in sporadic Parkinson disease. *Neurology* 2008;71:1295.
157. Ueda K, Fukushima H, Masliah E, Xia Y, Iwai A, Yoshimoto M, et al. Molecular cloning of cDNA encoding an unrecognized component of amyloid in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:11282–11286.
158. Kahle PJ, Haass C, Kretschmar HA, Neumann M. Structure/function of alpha-synuclein in health and disease: rational development of animal models for Parkinson's and related diseases. *J Neurochem* 2002;82:449–457.
159. Clayton DF, George JM. The synucleins: a family of proteins involved in synaptic function, plasticity, neurodegeneration and disease. *Trends Neurosci* 1998;21:249–254.
160. Li JY, Henning Jensen P, Dahlstrom A. Differential localization of alpha-, beta- and gamma-synucleins in the rat CNS. *Neuroscience* 2002;113:463–478.
161. Giasson BI, Murray IV, Trojanowski JQ, Lee VM. A hydrophobic stretch of 12 amino acid residues in the middle of alpha-synuclein is essential for filament assembly. *J Biol Chem* 2001;276:2380–2386.
162. Cookson MR. The biochemistry of Parkinson's disease. *Annu Rev Biochem* 2005;74:29–52.

163. Maroteaux L, Campanelli JT, Scheller RH. Synuclein: a neuron-specific protein localized to the nucleus and presynaptic nerve terminal. *J Neurosci* 1988;8:2804–2815.
164. Bertoncini CW, Fernandez CO, Griesinger C, Jovin TM, Zweckstetter M. Familial mutants of α -synuclein with increased neurotoxicity have a destabilized conformation. *J Biol Chem* 2005;280: 30649–30652.
165. Chen L, Feany MB. α -Synuclein phosphorylation controls neurotoxicity and inclusion formation in a *Drosophila* model of Parkinson disease. *Nat Neurosci* 2005;8:657–663.
166. Cuervo AM, Stefanis L, Fredenburg R, Lansbury PT, Sulzer D. Impaired degradation of mutant α -synuclein by chaperone-mediated autophagy. *Science* 2004;305:1292–1295.
167. Manning-Bog AB, Schule B, Langston JW. α -Synuclein glucocerebrosidase interactions in pharmacological Gaucher models: A biological link between Gaucher disease and parkinsonism. *Neurotoxicology* 2009;30: 1127–1132.
168. Mazzulli JR, Xu YH, Sun Y, Knight AL, McLean PJ, Caldwell GA, et al. Gaucher disease glucocerebrosidase and α -synuclein form a bidirectional pathogenic loop in synucleinopathies. *Cell* 2011;146:37–52.
169. Sidhu A, Wersinger C, Vernier P. Does alpha-synuclein modulate dopaminergic synaptic content and tone at the synapse? *FASEB J* 2004;18:637–647.
170. Brice A. Genetics of Parkinson's disease: LRRK2 on the rise. *Brain* 2005;128:2760–2762.
171. Lesage S, Durr A, Tazir M, Lohmann E, Leutenecker AL, Janin S, et al. LRRK2 G2019S as a cause of Parkinson's disease in North African Arabs. *N Engl J Med* 2006;354:422–423.
172. Ozelius LJ, Senthil G, Saunders-Pullman R, Ohmann E, Deligtisch A, Tagliati M, et al. LRRK2 G2019S as a cause of Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. *N Engl J Med* 2006;354:424–425.
173. Funayama M, Hasegawa K, Kowa H, Saito M, Tsuji S, Obata F. A new locus for Parkinson's disease (PARK8) maps to chromosome 12p11.2-q13.1. *Ann Neurol* 2002;51:296–301.

174. Zimprich A, Muller-Myhsok B, Farrer M, Leitner P, Sharma M, Hulihan M, et al. The PARK8 locus in autosomal dominant parkinsonism: confirmation of linkage and further delineation of the disease-containing interval. *Am J Hum Genet* 2004;74:11–19.
175. Healy DG, Falchi M, O’Sullivan SS, Bonifati V, Durr A, Bressman S, et al. Phenotype, genotype, and worldwide genetic penetrance of LRRK2-associated Parkinson’s disease: a case-control study. *Lancet Neurol* 2008;7:583–590.
176. Giasson BI, Covy JP, Bonini NM, Hurtig HI, Farrer MJ, Trojanowski JQ, Van Deerlin VM.. Biochemical and pathological characterization of Lrrk2. *Ann Neurol* 2006;59:315–322.
177. Paisan-Ruiz C, Jain S, Evans EW, Gilks WP, Simon J, van der Brug M, et al. Cloning of the gene containing mutations that cause PARK8-linked Parkinson’s disease. *Neuron* 2004;44:595–600.
178. Nuytemans K, Theuns J, Cruts M, Van Broeckhoven C. Genetic etiology of Parkinson disease associated with mutations in the SNCA, PARK2, PINK1, PARK7, and LRRK2 genes: A mutation update. *Hum Mutat* 2010;31:763–780.
179. Aasly JO, Vilarino-Guell C, Dachsel JC, Webber PJ, West AB, Haugarvoll K, et al. Novel pathogenic LRRK2 p.Asn1437His substitution in familial Parkinson’s disease. *Mov Disord* 2010;25:2156–2163.
180. Clark LN, Wang Y, Karlins E, Saito L, Mejia-Santana H, Harris J, et al. Frequency of LRRK2 mutations in early- and late-onset Parkinson disease. *Neurology* 2006;67:1786–1791.
181. Zabetian CP, Hutter CM, Yearout D, Lopez AN, Factor SA, Griffith A, et al. LRRK2 G2019S in families with Parkinson disease who originated from Europe and the Middle East: Evidence of two distinct founding events beginning two millennia ago. *Am J Hum Genet* 2006;79:752–758.
182. Simon-Sanchez J, Marti-Masso JF, Sanchez-Mut JV, Paisan- Ruiz C, Martinez-Gil A, Ruiz-Martinez J, et al. Parkinson’s disease due to the R1441G mutation in Dardarin: A founder effect in the Basques. *Mov Disord* 2006;21:1954–1959.
183. Gorostidi A, Ruiz-Martinez J, Lopez deMunain A, Alzualde A, Masso JF. LRRK2 G2019S and R1441G mutations associated with Parkinson’s disease are

- common in the Basque Country, but relative prevalence is determined by ethnicity. *Neurogenetics* 2009;10:157–159.
184. Tomiyama H, Li Y, Funayama M, Hasegawa K, Yoshino H, Kubo SI, et al. Clinicogenetic study of mutations in LRRK2 exon 41 in Parkinson's disease patients from 18 countries. *Mov Disord* 2006;21:1102–1108.
 185. Haugarvoll K, Rademakers R, Kachergus JM, Nuytemans K, Ross OA, Gibson JM, et al. Lrrk2 R1441C parkinsonism is clinically similar to sporadic Parkinson disease. *Neurology* 2008;70:1456–1460.
 186. Ishihara L, Warren L, Gibson R, Amouri R, Lesage S, Durr A, et al. Clinical features of Parkinson disease patients with homozygous leucine-rich repeat kinase 2 G2019S mutations. *Arch Neurol* 2006;63:1250–1254.
 187. An XK, Peng R, Li T, Burgunder JM, Wu Y, Chen WJ, et al. LRRK2 Gly2385Arg variant is a risk factor of Parkinson's disease among Han-Chinese from mainland China. *Eur J Neurol* 2008;15:301–305.
 188. Choi JM, Woo MS, Ma HI, Kang SY, Sung YH, Yong SW, et al. Analysis of PARK genes in a Korean cohort of early-onset Parkinson disease. *Neurogenetics* 2008;9:263–269.
 189. Di Fonzo A, Wu-Chou YH, Lu CS, van Doeselaar M, Simons EJ, Rohe CF, et al. A common missense variant in the LRRK2 gene, Gly2385Arg, associated with Parkinson's disease risk in Taiwan. *Neurogenetics* 2006;7:133–138.
 190. Funayama M, Li Y, Tomiyama H, Yoshino H, Imamichi Y, Yamamoto M, et al. Leucine-rich repeat kinase 2 G2385R variant is a risk factor for Parkinson disease in Asian population. *Neuroreport* 2007;18:273–275.
 191. Zabetian CP, Yamamoto M, Lopez AN, Ujike H, Mata IF, Izumi Y, et al. LRRK2 mutations and risk variants in Japanese patients with Parkinson's disease. *Mov Disord* 2009;24:1034–1041.
 192. Lu CS, Wu-Chou YH, van Doeselaar M, Simons EJ, Chang HC, Breedveld GJ, et al. The LRRK2 Arg1628Pro variant is a risk factor for Parkinson's disease in the Chinese population. *Neurogenetics* 2008;9:271–276.
 193. Ross OA, Wu YR, Lee MC, Funayama M, Chen ML, Soto AI, et al. Analysis of Lrrk2 R1628P as a risk factor for Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2008;64:88–92.

194. Tan EK, Tan LC, Lim HQ, Li R, Tang M, Yih Y, et al. LRRK2 R1628P increases risk of Parkinson's disease: replication evidence. *Hum Genet* 2008;124:287–288.
195. Zhang Z, Burgunder JM, An X, Wu Y, Chen W, Zhang J, et al. LRRK2 R1628P variant is a risk factor of Parkinson's disease among Han-Chinese from mainland China. *Mov Disord* 2009;24:1902–1905.
196. MacLeod D, Dowman J, Hammond R, Leete T, Inoue K, Abeliovich A. The familial Parkinsonism gene LRRK2 regulates neurite process morphology. *Neuron* 2006;52:587–593.
197. Lu YW, Tan EK. Molecular biology changes associated with LRRK2 mutations in Parkinson's disease. *J Neurosci Res* 2008;86:1895–1901.
198. Zimprich A, Benet-Pagès A, Struhal W, Graf E, Eck SH, Offman MN, et al. A mutation in VPS35, encoding a subunit of the retromer complex, causes late-onset Parkinson disease. *Am J Hum Genet* 2011;89:168-175.
199. Vilariño-Güell C, Wider C, Ross OA, Dachsel JC, Kachergus JM, Lincoln SJ, et al. VPS35 mutations in Parkinson disease. *Am J Hum Genet* 2011;89:162-167.
200. Sharma M, Ioannidis JP, Aasly JO, Annesi G, Brice A, Bertram L, Bozi M, et al; GEOPD consortium. A multi-centre clinico-genetic analysis of the VPS35 gene in Parkinson disease indicates reduced penetrance for disease-associated variants. *J Med Genet* 2012;49:721-726.
201. Leroy E, Boyer R, Auburger G, Leube B, Ulm G, Mezey E, et al. The ubiquitin pathway in Parkinson's disease. *Nature* 1998;395:451– 452.
202. Wintermeyer P, Kruger R, Kuhn W, Muller T, Voitalla D, Berg D, et al. Mutation analysis and association studies of the UCHL1 gene in German Parkinson's disease patients. *Neuroreport* 2000;11:2079 –2082.
203. Facheris M, Strain KJ, Lesnick TG, de Andrade M, Bower JH, Ahlskog JE, et al. UCHL1 is associated with Parkinson's disease: a case-unaffected sibling and case-unrelated control study. *Neurosci Lett* 2005;381:131–134.
204. Maraganore DM, Lesnick TG, Elbaz A, Chartier-Harlin MC, Gasser T, Kruger R, et al. UCHL1 is a Parkinson's disease susceptibility gene. *Ann Neurol* 2004;55:512–521.
205. Carmine Belin A, Westerlund M, Bergman O, Nissbrandt H, Lind C, Sydow O, Galter D. S18Y in ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 (UCH-L1) associated

- with decreased risk of Parkinson's disease in Sweden. *Parkinsonism Relat Disord* 2007;13:295–298.
206. Elbaz A, Levecque C, Clavel J, Vidal JS, Richard F, Correze JR, et al. S18Y polymorphism in the UCH-L1 gene and Parkinson's disease: evidence for an age-dependent relationship. *Mov Disord* 2003;18:130–137.
207. Jones JM, Datta P, Srinivasula SM, Ji W, Gupta S, Zhang Z, et al. Loss of Omi mitochondrial protease activity causes the neuromuscular disorder of mnd2 mutant mice. *Nature* 2003;425:721–727.
208. Kawamoto Y, Kobayashi Y, Suzuki Y, Inoue H, Tomimoto H, Akiguchi I, et al. Accumulation of HtrA2/Omi in neuronal and glial inclusions in brains with alpha-synucleinopathies. *J Neuropathol Exp Neurol* 2008;67:984–993.
209. Martins LM, Morrison A, Klupsch K, Fedele V, Moiso N, Teismann P, et al. Neuroprotective role of the Reaper-related serine protease HtrA2/Omi revealed by targeted deletion in mice. *Mol Cell Biol* 2004;24:9848–9862.
210. Ross OA, Soto AI, Vilarino-Guell C, Heckman MG, Diehl NN, Hulihan MM, et al. Genetic variation of Omi/HtrA2 and Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2008;14:539–543.
211. Simon-Sanchez J, Singleton AB. Sequencing analysis of OMI/HTRA2 shows previously reported pathogenic mutations in neurologically normal controls. *Hum Mol Genet* 2008;17:1988–1993.
212. Strauss KM, Martins LM, Plun-Favreau H, Marx FP, Kautzmann S, Berg D, et al. Loss of function mutations in the gene encoding Omi/HtrA2 in Parkinson's disease. *Hum Mol Genet* 2005;14:2099–2111.
213. Pankratz N, Nichols WC, Uniacke SK, Halter C, Rudolph A, Shults C, Conneally PM, Foroud T. Significant linkage of Parkinson disease to chromosome 2q36–37. *Am J Hum Genet* 2003;72:1053–1057.
214. Prestel J, Sharma M, Leitner P, Zimprich A, Vaughan JR, Durr A, et al. PARK11 is not linked with Parkinson's disease in European families. *Eur J Hum Genet* 2005;13:193–197.
215. Lautier C, Goldwurm S, Durr A, Giovannone B, Tsiaras WG, Pezzoli G, Brice A, Smith RJ. Mutations in the GIGYF2 (TNRC15) gene at the PARK11 locus in familial Parkinson disease. *Am J Hum Genet* 2008;82:822–833.

216. Bras J, Simon-Sanchez J, Federoff M, Morgado A, Januario C, Ribeiro M, et al. Lack of replication of association between GIGYF2 variants and Parkinson disease. *Hum Mol Genet* 2009;18:341–346.
217. Cao L, Zhang T, Zheng L, Wang Y, Wang G, Zhang J, et al. The GIGYF2 variants are not associated with Parkinson's disease in the mainland Chinese population. *Parkinsonism Relat Disord* 2010;16:294–297.
218. Di Fonzo A, Fabrizio E, Thomas A, Fincati E, Marconi R, Tinazzi M, et al. GIGYF2 mutations are not a frequent cause of familial Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2009;15:703–705.
219. Lesage S, Condroyer C, Lohman E, Troiano A, Tison F, Viallet F, et al. Follow-up study of the GIGYF2 gene in French families with Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 2010;31:1069–1071.
220. Nichols WC, Kissell DK, Pankratz N, Pauciulo MW, Elsaesser VE, Clark KA, et al. Variation in GIGYF2 is not associated with Parkinson disease. *Neurology* 2009;72:1886–1892.
221. Zimprich A, Schulte C, Reinthaler E, Haubenberger D, Balzar J, Lichtner P, et al. PARK11 gene (GIGYF2) variants Asn56Ser and Asn457Thr are not pathogenic for Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2009;15:532–534.
222. Samaranch L, Lorenzo E, Pastor MA, Riverol M, Luquin MR, Rodriguez-Oroz MC, Obeso JA, Pastor P. Analysis of the GIGYF2 gene in familial and sporadic Parkinson disease in the Spanish population. *Eur J Neurol* 2010;17:321–325.
223. Bonetti M, Ferraris A, Petracca M, Bentivoglio AR, Dallapiccola B, Valente EM. GIGYF2 variants are not associated with Parkinson's disease in Italy. *Mov Disord* 2009;24:1867–1869.
224. Wang L, Guo JF, Zhang WW, Xu Q, Zuo X, Shi CH, et al. Novel GIGYF2 gene variants in patients with Parkinson's disease in Chinese population. *Neurosci Lett* 2010;473: 131–135.
225. DeStefano AL, Lew MF, Golbe LI, Mark MH, Lazzarini AM, Guttman M, et al. PARK3 influences age at onset in Parkinson disease: a genome scan in the GenePD study. *Am J Hum Genet* 2002;70:1089–1095.

226. Pankratz N, Uniacke SK, Halter CA, Rudolph A, Shults CW, Conneally PM, Foroud T, Nichols WC. Genes influencing Parkinson disease onset: replication of PARK3 and identification of novel loci. *Neurology* 2004;62: 1616–1618.
227. Karamohamed S, DeStefano AL, Wilk JB, Shoemaker CM, Golbe LI, Mark MH, et al. A haplotype at the PARK3 locus influences onset age for Parkinson's disease: the GenePD study. *Neurology* 2003;61:1557–1561.
228. Sharma M, Mueller JC, Zimprich A, Lichtner P, Hofer A, Leitner P, et al. The sepiapterin reductase gene region reveals association in the PARK3 locus: analysis of familial and sporadic Parkinson's disease in European populations. *J Med Genet* 2006;43: 557–562.
229. Chartier-Harlin MC, Dachsel JC, Vilariño-Güell C, Lincoln SJ, Leprêtre F, Hulihan MM, et al. Translation initiator EIF4G1 mutations in familial Parkinson disease. *Am J Hum Genet* 2011;89:398-406.
230. Criscuolo C, Volpe G, De Rosa A, Varrone A, Marongiu R, Mancini P, et al. PINK1 homozygous W437X mutation in a patient with apparent dominant transmission of parkinsonism. *Mov Disord* 2006;21:1265–1267.
231. Lucking CB, Bonifati V, Periquet M, Vanacore N, Brice A, Meco G. Pseudo-dominant inheritance and exon 2 triplication in a family with parkin gene mutations. *Neurology* 2001;57:924–927.
232. Maruyama M, Ikeuchi T, Saito M, Ishikawa A, Yuasa T, Tanaka H, et al. Novel mutations, pseudo-dominant inheritance, possible familial affects in patients with autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Ann Neurol* 2000;48:245–250.
233. Lucking CB, Durr A, Bonifati V, Vaughan J, De Michele G, Gasser T, et al. Association between early-onset Parkinson's disease and mutations in the parkin gene. *N Engl J Med* 2000;342:1560–1567.
234. Periquet M, Latouche M, Lohmann E, Rawal N, De Michele G, Ricard S, et al. Parkin mutations are frequent in patients with isolated early-onset parkinsonism. *Brain* 2003;126:1271–1278.
235. Hedrich K, Eskelson C, Wilmot B, Marder K, Harris J, Garrels J, et al. Distribution, type, origin of Parkin mutations: review and case studies. *Mov Disord* 2004;19:1146–1157.

236. Klein C, Hedrich K, Wellenbrock C, Kann M, Harris J, Marder K, et al. Frequency of parkin mutations in late-onset Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2003;54:415–417.
237. Nuytemans K, Theuns J, Cruts M, Van Broeckhoven C. Genetic etiology of Parkinson disease associated with mutations in the SNCA, PARK2, PINK1, PARK7, and LRRK2 genes: a mutation update. *Hum Mutat* 2010;31:763–780.
238. Ishikawa A, Tsuji S. Clinical analysis of 17 patients in 12 Japanese families with autosomal-recessive type juvenile parkinsonism. *Neurology* 1996;47:160–166.
239. Lohmann E, Periquet M, Bonifati V, Wood NW, De Michele G, Bonnet AM, et al. How much phenotypic variation can be attributed to parkin genotype? *Ann Neurol* 2003;54:176–185.
240. Lohmann E, Thobois S, Lesage S, Broussolle E, du Montcel ST, Ribeiro MJ, et al. A multidisciplinary study of patients with early-onset PD with and without parkin mutations. *Neurology* 2009;72:110–116.
241. Mori H, Kondo T, Yokochi M, Matsumine H, Nakagawa-Hattori Y, Miyake T, Suda K, Mizuno Y. Pathologic and biochemical studies of juvenile parkinsonism linked to chromosome 6q. *Neurology* 1998;51:890–892.
242. Shimura H, Hattori N, Kubo S, Mizuno Y, Asakawa S, Minoshima S, et al. Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nat Genet* 2000;25:302–305.
243. Healy DG, Abou-Sleiman PM, Gibson JM, Ross OA, Jain S, Gandhi S, et al. PINK1 (PARK6) associated Parkinson disease in Ireland. *Neurology* 2004;63:1486–1488.
244. Rogaeva E, Johnson J, Lang AE, Gulick C, Gwinn-Hardy K, Kawarai T, et al. Analysis of the PINK1 gene in a large cohort of cases with Parkinson disease. *Arch Neurol* 2004;61:1898–1904.
245. Bonifati V, Rohe CF, Breedveld GJ, Fabrizio E, De Mari M, Tassorelli C, et al. Early-onset parkinsonism associated with PINK1 mutations: Frequency, genotypes, and phenotypes. *Neurology* 2005;65:87–95.
246. Klein C, Djarmati A, Hedrich K, Schafer N, Scaglione C, Marchese R, et al. PINK1, Parkin, and DJ-1 mutations in Italian patients with early-onset parkinsonism. *Eur J Hum Genet* 2005;13:1086–1093.

247. Li Y, Tomiyama H, Sato K, Hatano Y, Yoshino H, Atsumi M, et al. Clinicogenetic study of PINK1 mutations in autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Neurology* 2005;64:1955–1957.
248. Tan EK, Yew K, Chua E, Puvan K, Shen H, Lee E, et al. PINK1 mutations in sporadic early-onset Parkinson's disease. *Mov Disord* 2006;21:789–793.
249. Valente EM, Salvi S, Ialongo T, Marongiu R, Elia AE, Caputo V, et al. PINK1 mutations are associated with sporadic early-onset parkinsonism. *Ann Neurol* 2004;56:336–341.
250. Cazeneuve C, San C, Ibrahim SA, Mukhtar MM, Kheir MM, Leguern E, Brice A, Salih MA. A new complex homozygous large rearrangement of the PINK1 gene in a Sudanese family with early onset Parkinson's disease. *Neurogenetics* 2009;10:265–270.
251. Camargos ST, Dornas LO, Momeni P, Lees A, Hardy J, Singleton A, Cardoso F. Familial Parkinsonism and early onset Parkinson's disease in a Brazilian movement disorders clinic: Phenotypic characterization and frequency of SNCA, PRKN, PINK1, and LRRK2 mutations. *Mov Disord* 2009;24:662–666.
252. Marongiu R, Brancati F, Antonini A, Ialongo T, Ceccarini C, Scarciolla O, et al. Whole gene deletion and splicing mutations expand the PINK1 genotypic spectrum. *Hum Mutat* 2007;28:98.
253. Ibanez P, Lesage S, Lohmann E, Thobois S, De Michele G, Borg M, Agid Y, Durr A, Brice A. Mutational analysis of the PINK1 gene in early-onset parkinsonism in Europe and North Africa. *Brain* 2006;129:686–694.
254. Ephraty L, Porat O, Israeli D, Cohen OS, Tunkel O, Yael S, et al. Neuropsychiatric and cognitive features in autosomal-recessive early parkinsonism due to PINK1 mutations. *Mov Disord* 2007;22:566–569.
255. Steinlechner S, Stahlberg J, Volkel B, Djarmati A, Hagenah J, Hiller A, et al. Co-occurrence of affective and schizophrenia spectrum disorders with PINK1 mutations. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007;78:532–535.
256. Youle RJ, Narendra DP.. Mechanisms of mitophagy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011;12:9–14.
257. Beilina A, Van Der Brug M, Ahmad R, Kesavapany S, Miller DW, Petsko GA, Cookson MR. Mutations in PTEN-induced putative kinase 1 associated with

- recessive parkinsonism have differential effects on protein stability. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:5703–5708.
258. Pankratz N, Pauciulo MW, Elsaesser VE, Marek DK, Halter CA, Wojcieszek J, et al. Mutations in DJ-1 are rare in familial Parkinson disease. *Neurosci Lett* 2006;408:209–213.
259. Bonifati V, Rizzu P, van Baren MJ, Schaap O, Breedveld GJ, Krieger E, et al. Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Science* 2003;299:256–259.
260. Canet-Aviles RM, Wilson MA, Miller DW, Ahmad R, McLendon C, Bandyopadhyay S, et al. The Parkinson's disease protein DJ-1 is neuroprotective due to cysteine-sulfinic acid-driven mitochondrial localization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:9103-9108.
261. Miller DW, Ahmad R, Hague S, Baptista MJ, Canet-Aviles R, McLendon C, et al. L166P mutant DJ-1, causative for recessive Parkinson's disease, is degraded through the ubiquitin-proteasome system. *J Biol Chem* 2003;278:36588–36595.
262. Moore DJ, Zhang L, Dawson TM, Dawson VL. A missense mutation (L166P) in DJ-1, linked to familial Parkinson's disease, confers reduced protein stability and impairs homo-oligomerization. *J Neurochem* 2003;87:1558–1567.
263. Taira T, Saito Y, Niki T, Iguchi-Ariga SM, Takahashi K, Ariga H. DJ-1 has a role in antioxidative stress to prevent cell death. *EMBO Rep* 2004;5:213–218.
264. Ramirez A, Heimbach A, Grundemann J, Stiller B, Hampshire D, Cid LP, et al. Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in ATP13A2, encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase. *Nat Genet* 2006;38:1184–1191.
265. Najim al-Din AS, Wriekat A, Mubaidin A, Dasouki M, Hiari M. Pallido-pyramidal degeneration, supranuclear upgaze paresis and dementia: Kufor-Rakeb syndrome. *Acta Neurol Scand* 1994;89:347–352.
266. Williams DR, Hadeed A, al-Din AS, Wreikat AL, Lees AJ. Kufor Rakeb disease: autosomal recessive, levodopa-responsive parkinsonism with pyramidal degeneration, supranuclear gaze palsy, and dementia. *Mov Disord* 2005;20:1264–1271.

267. Di Fonzo A, Chien HF, Socal M, Giraudo S, Tassorelli C, Iliceto G, et al. ATP13A2 missense mutations in juvenile parkinsonism and young onset Parkinson disease. *Neurology* 2007;68:1557–1562.
268. Djarmati A, Hagenah J, Reetz K, Winkler S, Behrens MI, Pawlack H, et al. ATP13A2 variants in early-onset Parkinson's disease patients and controls. *Mov Disord* 2009;24:2104–2111.
269. Lin CH, Tan EK, Chen ML, Tan LC, Lim HQ, Chen GS, Wu RM. Novel ATP13A2 variant associated with Parkinson disease in Taiwan and Singapore. *Neurology* 2008;71:1727–1732.
270. Rakovic A, Stiller B, Djarmati A, Flaquer A, Freudenberg J, Toliat MR, et al. Genetic association study of the P-type ATPase ATP13A2 in late-onset Parkinson's disease. *Mov Disord* 2009;24:429–433.
271. Vilarino-Guell C, Soto AI, Lincoln SJ, Ben Yahmed S, Kefi M, Heckman MG, et al. ATP13A2 variability in Parkinson disease. *Hum Mutat* 2009;30:406–410.
272. Paisan-Ruiz C, Bhatia KP, Li A, Hernandez D, Davis M, Wood NW, et al. Characterization of PLA2G6 as a locus for dystonia-parkinsonism. *Ann Neurol* 2009;65:19–23.
273. Gregory A, Westaway SK, Holm IE, Kotzbauer PT, Hogarth P, Sonek S, et al. Neurodegeneration associated with genetic defects in phospholipase A2. *Neurology* 2008;71:1402–1409.
274. Khateeb S, Flusser H, Ofir R, Shelef I, Narkis G, Vardi G, et al. PLA2G6 mutation underlies infantile neuroaxonal dystrophy. *Am J Hum Genet* 2006;79:942–948.
275. Zhou B, Westaway SK, Levinson B, Johnson MA, Gitschier J, Hayflick SJ. A novel pantothenate kinase gene (PANK2) is defective in Hallervorden-Spatz syndrome. *Nat Genet* 2001;28:345–349.
276. Klopstock T, Elstner M, Lucking CB, Muller-Myhsok B, Gasser T, Botz E, Lichtner P, Hortnagel K. Mutations in the pantothenate kinase gene PANK2 are not associated with Parkinson disease. *Neurosci Lett* 2005;379:195–198.
277. Shojaee S, Sina F, Banihosseini SS, Kazemi MH, Kalhor R, Shahidi GA, et al. Genome-wide linkage analysis of a Parkinsonian-pyramidal syndrome pedigree by 500 K SNP arrays. *Am J Hum Genet* 2008;82:1375–1384.

278. Ho MS, Ou C, Chan YR, Chien CT, Pi H. The utility F-box for protein destruction. *Cell Mol Life Sci* 2008;65:1977–2000.
279. Di Fonzo A, Dekker MC, Montagna P, Baruzzi A, Yonova EH, Correia Guedes L, et al. FBXO7 mutations cause autosomal recessive, early-onset parkinsonian-pyramidal syndrome. *Neurology* 2009;72:240–245.
280. Lill CM, Bagade S, McQueen MB, Roehr JT, Kavvoura F, SchjeideBMM, et al. The PDGene Database. *Alzheimer Research Forum* 2010. <http://www.pdgene.org/>. Accessed 23 Aug 2013.
281. International Parkinson's Disease Genomics Consortium. Imputation of sequence variants for identification of genetic risks for Parkinson's disease: a meta-analysis of genome-wide association studies. *Lancet* 2011;377:641–649.
282. Hamza TH, Zabetian CP, Tenesa A, Laederach A, Montimurro J, Yearout D, et al. Common genetic variation in the HLA region is associated with late-onset sporadic Parkinson's disease. *Nat Genet* 2010;42:781–785.
283. Pankratz N, Wilk JB, Latourelle JC, DeStefano AL, Halter C, Pugh EW, et al. Genomewide association study for susceptibility genes contributing to familial Parkinson disease. *Hum Genet* 2009;124:593–605.
284. Saad M, Lesage S, Saint-Pierre A, Corvol JC, Zelenika D, Lambert JC, et al. Genome-wide association study confirms BST1 and suggests a locus on 12q24 as the risk loci for Parkinson's disease in the European population. *Hum Mol Genet* 2011;20:615–627.
285. Satake W, Nakabayashi Y, Mizuta I, Hirota Y, Ito C, Kubo M, et al. Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. *Nat Genet* 2009;41:1303–1307.
286. Simon-Sanchez J, Schulte C, Bras JM, Sharma M, Gibbs JR, Berg D, et al. Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nat Genet* 2009;41:1308–1312.
287. Spencer CC, Plagnol V, Strange A, Gardner M, Paisan-Ruiz C, Band G, et al. Dissection of the genetics of Parkinson's disease identifies an additional association 5' of SNCA and multiple associated haplotypes at 17q21. *Hum Mol Genet* 2011;20:345–353.

288. Sharma M, Ioannidis JP, Aasly JO, Annesi G, Brice A, Van Broeckhoven C, et al.; GEO-PD Consortium. Large-scale replication and heterogeneity in Parkinson disease genetic loci. *Neurology*. 2012;79:659-667.
289. Pankratz N, Beecham GW, DeStefano AL, Dawson TM, Doheny KF, Factor SA, et al.; PD GWAS Consortium. Meta-analysis of Parkinson's disease: identification of a novel locus, RIT2. *Ann Neurol* 2012;71:370-384.
290. International Parkinson Disease Genomics Consortium, Nalls MA, Plagnol V, Hernandez DG, Sharma M, Sheerin UM, Saad M, et al. Imputation of sequence variants for identification of genetic risks for Parkinson's disease: a meta-analysis of genome-wide association studies. *Lancet* 2011;377:641-649.
291. Rhodes SL, Sinsheimer JS, Bordelon Y, Bronstein JM, Ritz B. Replication of GWAS associations for GAK and MAPT in Parkinson's disease. *Ann Hum Genet* 2011;75:195-200.
292. Grabowski GA. Gaucher disease. Enzymology, genetics, and treatment. *Adv Hum Genet* 1993;21:377-441.
293. Lwin A, Orvisky E, Goker-Alpan O, LaMarca ME, Sidransky E. Glucocerebrosidase mutations in subjects with parkinsonism. *Mol Genet Metab* 2004;81:70-73.
294. Goker-Alpan O, Schiffmann R, LaMarca ME, Nussbaum RL, McInerney-Leo A, Sidransky E. Parkinsonism among Gaucher disease carriers. *J Med Genet* 2004;41:937-940.
295. Halperin A, Elstein D, Zimran A.. Increased incidence of Parkinson disease among relatives of patients with Gaucher disease. *Blood Cells Mol Dis* 2006;36:426-428.
296. Eblan MJ, Walker JM, Sidransky E. The glucocerebrosidase gene and Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. *N Engl J Med* 2005;352:728-731.
297. Sidransky E. Heterozygosity for a Mendelian disorder as a risk factor for complex disease. *Clin Genet* 2006;70:275-282.
298. Aharon-Peretz J, Rosenbaum H, Gershoni-Baruch R. Mutations in the glucocerebrosidase gene and Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. *N Engl J Med* 2004;351:1972-1977.

299. Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO, Aharon-Peretz J, Annesi G, Barbosa ER, et al. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2009;361:1651–1661.
300. Goker-Alpan O, Giasson BI, Eblan MJ, Nguyen J, Hurtig HI, Lee VM, et al. Glucocerebrosidase mutations are an important risk factor for Lewy body disorders. *Neurology* 2006;67:908–910.
301. Goker-Alpan O, Lopez G, Vithayathil J, Davis J, Hallett M, Sidransky E. The spectrum of parkinsonian manifestations associated with glucocerebrosidase mutations. *Arch Neurol* 2008;65:1353–1357.
302. Clark LN, Ross BM, Wang Y, Mejia-Santana H, Harris J, Louis ED, et al. Mutations in the glucocerebrosidase gene are associated with early-onset Parkinson disease. *Neurology* 2007;69:1270–1277.
303. Nichols WC, Pankratz N, Marek DK, Pauciulo MW, Elsaesser VE, Halter CA, et al. Mutations in GBA are associated with familial Parkinson disease susceptibility and age at onset. *Neurology* 2009;72:310–316.
304. Sato C, Morgan A, Lang AE, Salehi-Rad S, Kawarai T, Meng Y, et al. Analysis of the glucocerebrosidase gene in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2005;20:367–370.
305. Clark LN, Kartsaklis LA, Wolf Gilbert R, Dorado B, Ross BM, Kisselev S, et al. Association of glucocerebrosidase mutations with dementia with lewy bodies. *Arch Neurol* 2009;66:578–583.
306. Farrer MJ, Williams LN, Algom AA, Kachergus J, Hulihan MM, Ross OA, et al. Glucosidase-beta variations and Lewy body disorders. *Parkinsonism Relat Disord* 2009;15:414–416.
307. Goker-Alpan O, Giasson BI, Eblan MJ, Nguyen J, Hurtig HI, Lee VM, Trojanowski JQ, Sidransky E. Glucocerebrosidase mutations are an important risk factor for Lewy body disorders. *Neurology* 2006;67:908–910.
308. Mata IF, Samii A, Schneer SH, Roberts JW, Griffith A, Leis BC, et al. Glucocerebrosidase gene mutations: a risk factor for Lewy body disorders. *Arch Neurol* 2008;65:379–382.

309. Lesage S, Anheim M, Condroyer C, Pollak P, Durif F, Dupuits C, et al. Large-scale screening of the Gaucher's disease-related glucocerebrosidase gene in Europeans with Parkinson's disease. *Hum Mol Genet* 2011;20:202–210.
310. Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO, Aharon-Peretz J, Annesi G, Barbosa ER, et al. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2009;361:1651–1661.
311. DePaolo J, Goker-Alpan O, Samaddar T, Lopez G, Sidransky E. The association between mutations in the lysosomal protein glucocerebrosidase and parkinsonism. *Mov Disord* 2009;24:1571–1578.
312. Lill CM, Bagade S, McQueen MB, Roehr JT, Kavvoura F, SchjeideBMM, et al. The PDGene Database. *Alzheimer Research Forum* 2010. <http://www.pdgene.org/>. Accessed 23 Sept 2010.
313. McCulloch CC, Kay DM, Factor SA, Samii A, Nutt JG, Higgins DS, et al. Exploring gene-environment interactions in Parkinson's disease. *Hum Genet* 2008;123:257–265.
314. Elbaz A, Levecque C, Clavel J, Vidal JS, Richard F, Amouyel P, et al. CYP2D6 polymorphism, pesticide exposure, and Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2004;55:430–434.
315. Deng Y, Newman B, Dunne MP, Silburn PA, Mellick GD. Further evidence that interactions between CYP2D6 and pesticide exposure increase risk for Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2004;55:897.
316. Dick FD, De Palma G, Ahmadi A, Osborne A, Scott NW, Prescott GJ, et al. Gene-environment interactions in parkinsonism and Parkinson's disease: the Geoparkinson study. *Occup Environ Med* 2007;64:673–680.
317. Hutton M, Lendon CL, Rizzu P, Baker M, Froelich S, Houlden H, et al. Association of missense and 50-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature* 1998;393:702–705.
318. McCulloch CC, Kay DM, Factor SA, Samii A, Nutt JG, Higgins DS, et al. Exploring gene-environment interactions in Parkinson's disease. *Hum Genet* 2008;123:257–265.

319. Simon-Sanchez J, Schulte C, Bras JM, Sharma M, Gibbs JR, Berg D, et al. Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nat Genet* 2009;41:1308–1312.
320. Satake W, Nakabayashi Y, Mizuta I, Hirota Y, Ito C, Kubo M, et al. Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. *Nat Genet* 2009;41:1303–1307.
321. Checkoway H, Franklin GM, Costa-Mallen P, Smith-Weller T, Dilley J, Swanson PD, et al. A genetic polymorphism of MAO-B modifies the association of cigarette smoking and Parkinson's disease. *Neurology* 1998;50:1458–1461.
322. Mellick GD, McCann SJ, Le Couter DG. Parkinson's disease, MAOB, and smoking. *Neurology* 1999;53:658.
323. Hernan MA, Checkoway H, O'Brien R, Costa-Mallen P, De Vivo I, Colditz GA, et al. MAOB intron 13 and COMT codon 158 polymorphisms, cigarette smoking, and the risk of PD. *Neurology* 2002;58:1381–1387.
324. Amin N, Byrne E, Johnson J, Chenevix-Trench G, Walter S, Nolte IM et al. Genome-wide association analysis of coffee drinking suggests association with CYP1A1/CYP1A2 and NRCAM. *Mol Psychiatry* 2012;17:1116-1129.
325. Hamza TH, Chen H, Hill-Burns EM, Rhodes SL, Montimurro J, Kay DM, et al. Genome-wide gene-environment study identifies glutamate receptor gene GRIN2A as a Parkinson's disease modifier gene via interaction with coffee. *PLoS Genet* 2011;7:e1002237.
326. Corti O, Lesage S, Brice A. What genetics tells us about the causes and mechanisms of Parkinson's disease. *Physiol Rev* 2011;91:1161-1218.
327. Nussbaum RL, Ellis CE. Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2003;348:1356–1364.
328. Spanaki C, Plaitakis A. Bilineal transmission of Parkinson disease on Crete suggests a complex inheritance. *Neurology* 2004;62:815-817.
329. Scarciolla O, Brancati F, Valente EM, Ferraris A, De Angelis MV, Valbonesi S, et al. Multiplex ligation-dependent probe amplification assay for simultaneous detection of Parkinson's disease gene rearrangements. *Mov Disord* 2007;22:2274-2278.

330. González-Fernández MC, Lezcano E, Ross OA, Gómez-Esteban JC, Gómez-Busto F, Velasco F, et al. Lrrk2-associated parkinsonism is a major cause of disease in Northern Spain. *Parkinsonism Relat Disord* 2007;13:509-515.
331. Hulihan MM, Ishihara-Paul L, Kachergus J, Warren L, Amouri R, Elango R, et al. LRRK2 Gly2019Ser penetrance in Arab-Berber patients from Tunisia: a case-control genetic study. *Lancet Neurol* 2008;7:591-594.
332. Orr-Urtreger A, Shifrin C, Rozovski U, Rosner S, Bercovich D, Gurevich T, et al. The LRRK2 G2019S mutation in Ashkenazi Jews with Parkinson disease: is there a gender effect? *Neurology* 2007;69:1595-1602.
333. Ross OA, Soto-Ortolaza AI, Heckman MG, Aasly JO, Abahuni N, Annesi G, Bacon JA, Bardien S, Bozi M et al: Genetic Epidemiology Of Parkinson's Disease (GEO-PD) Consortium. Association of LRRK2 exonic variants with susceptibility to Parkinson's disease: a case-control study. *Lancet Neurol* 2011;10:898-908.
334. Papapetropoulos S, Adi N, Shehadeh L, Bishopric N, Singer C, Argyriou AA, Chroni E. Is the G2019S LRRK2 mutation common in all southern European populations? *J Clin Neurosci* 2008;15:1027-1030.
335. Kalinderi K, Fidani L, Bostantjopoulou S, Katsarou Z, Kotsis A. The G2019S LRRK2 mutation is uncommon amongst Greek patients with sporadic Parkinson's disease. *Eur J Neurol* 2007;14:1088-1090.
336. Xiromerisiou G, Hadjigeorgiou GM, Gourbali V, Johnson J, Papakonstantinou I, Papadimitriou A, Singleton AB. Screening for SNCA and LRRK2 mutations in Greek sporadic and autosomal dominant Parkinson's disease: identification of two novel LRRK2 variants. *Eur J Neurol* 2007;14:7-11.
337. Spanaki C, Latsoudis H, Plaitakis A. LRRK2 mutations on Crete: R1441H associated with PD evolving to PSP. *Neurology* 2006;67:1518-1519.
338. Abou-Sleiman PM, Healy DG, Quinn N, Lees AJ, Wood NW. The role of pathogenic DJ-1 mutations in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2003;54:283-286.
339. Cruts M, Theuns J, Van Broeckhoven C. Locus-specific mutation databases for neurodegenerative brain diseases. *Human Mutation* 2012;33:1340-1344.
340. Rana AQ, Yousuf MS, Naz S, Qa'aty N. Prevalence and relation of dementia to various factors in Parkinson's disease. *Psychiatry Clin Neurosci* 2012;66:64-68.

341. Leroy E, Anastasopoulos D, Konitsiotis S, Lavedan C, Polymeropoulos MH. Deletions in the Parkin gene and genetic heterogeneity in a Greek family with early onset Parkinson's disease. *Hum Genet* 1998;103:424-427.
342. Sun M, Latourelle JC, Wooten GF, Lew MF, Klein C, Shill HA, et al. Influence of heterozygosity for parkin mutation on onset age in familial Parkinson disease: the GenePD study. *Arch Neurol* 2006;63:826-832.
343. Pankratz N, Kissell DK, Pauciulo MW, Halter CA, Rudolph A, Pfeiffer RF, et al.; Parkinson Study Group-PROGENI Investigators. Parkin dosage mutations have greater pathogenicity in familial PD than simple sequence mutations. *Neurology* 2009;73:279-286.
344. Wang C, Ma H, Feng X, Xie S, Chan P. Parkin dosage mutations in patients with early-onset sporadic and familial Parkinson's disease in Chinese: an independent pathogenic role. *Brain Res* 2010;1358:30-38.
345. Kay DM, Stevens CF, Hamza TH, Montimurro JS, Zabetian CP, Factor SA, et al. A comprehensive analysis of deletions, multiplications, and copy number variations in PARK2. *Neurology* 2010;75:1189-1194.
346. Oliveira SA, Scott WK, Martin ER, Nance MA, Watts RL, Hubble JP, et al. Parkin mutations and susceptibility alleles in late-onset Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2003;53:624-629.
347. Bonifati V, De Michele G, Lücking CB, Dürr A, Fabrizio E, Ambrosio G, et al.; Italian PD Genetics Study Group, French PD Genetics Study Group, European Consortium on Genetic Susceptibility in PD. The parkin gene and its phenotype. Italian PD Genetics Study Group, French PD Genetics Study Group and the European Consortium on Genetic Susceptibility in Parkinson's Disease. *Neurol Sci* 2001;22:51-52.
348. Pramstaller PP, Kis B, Eskelson C, Hedrich K, Scherer M, Schwinger E, et al. Phenotypic variability in a large kindred (Family LA) with deletions in the parkin gene. *Mov Disord* 2002;17:424-426.
349. Foroud T, Uniacke SK, Liu L, Pankratz N, Rudolph A, Halter C, et al.; Parkinson Study Group. Heterozygosity for a mutation in the parkin gene leads to later onset Parkinson disease. *Neurology* 2003;60:796-801.

350. Gan-Or Z, Giladi N, Rozovski U, Shifrin C, Rosner S, Gurevich T, Bar-Shira A, Orr-Urtreger A. Genotype-phenotype correlations between GBA mutations and Parkinson disease risk and onset. *Neurology* 2008;70:2277-2283.
351. Choi JM, Kim WC, Lyoo CH, Kang SY, Lee PH, Baik JS, et al. Association of mutations in the glucocerebrosidase gene with Parkinson disease in a Korean population. *Neurosci Lett* 2012;514:12-15.
352. Kalinderi K, Bostantjopoulou S, Paisan-Ruiz C, Katsarou Z, Hardy J, Fidani L. Complete screening for glucocerebrosidase mutations in Parkinson disease patients from Greece. *Neurosci Lett* 2009;452:87-89.
353. Moraitou M, Hadjigeorgiou G, Monopolis I, Dardiotis E, Bozi M, Vassilatis D, et al. β -Glucocerebrosidase gene mutations in two cohorts of Greek patients with sporadic Parkinson's disease. *Mol Genet Metab* 2011;104:149-152.
354. Beutler E, Gelbart T, Scott CR. Hematologically important mutations: Gaucher disease. *Blood Cells Mol Dis* 2005;35:355–364.
355. Barrett MJ, Giraldo P, Capablo JL, Alfonso P, Irun P, Garcia-Rodriguez B, Pocovi M, Pastores GM. Greater risk of parkinsonism associated with non-N370S GBA1 mutations. *J Inherit Metab Dis* 2013;36:575-580.

ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΟ ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Συμπληρωματικός Πίνακας 1. Λίστα των γενετικών παραλλαγών στο γονίδιο LRRK2 που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη

Συμπληρωματικός Πίνακας 2. Μεταλλάξεις που ελέγχθηκαν στο γονίδιο GBA

Πίνακας Αντιστοιχήσεων Ελληνικών και Ξενόγλωσσων όρων

Πίνακας Συντμήσεων

Συμπληρωματικός Πίνακας 1. Λίστα των γενετικών παραλλαγών στο γονίδιο LRRK2 που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη [τροποποιημένος από Ross OA et al, 2011 (332)]

Position	Exon	rs#	cDNA	Amino Acid	Domain
chr12:38905228	1		28G>A	E10K	
chr12:38905349	1	rs2256408	149G>A	R50H	
chr12:38905627	2	rs72546335	155C>T	S52F	
chr12:38905696	2	rs75054132	224G>A	A75A	
chr12:38915703	4	rs33995463	356T>C	L119P	
chr12:38915711	4	rs41286468	364T>C	L122L	
chr12:38918058	5	rs10878245	457T>C	L153L	
chr12:38918147	5	rs35517158	546A>G	K182K	
chr12:38920612	6	rs112794616	632C>T	A211V	
chr12:38920663	6	rs56108242	683G>C	C228S	
chr12:38923625	7	rs28365216	713A>T	N238I	
chr12:38923737	7	rs72546315	824C>T	H275H	
chr12:38929923	8	rs17490713	867T>C	N289N	
chr12:38929949	8	rs57355477	893T>C	A298A	
chr12:38929992	8	rs41286466	936G>T	A312A	
chr12:38931342	9	rs78501232	1000G>A	E334K	
chr12:38931397	9	rs36016791	1055delC	A352fsX357	
chr12:38931430	9	rs72546336	1088A>G	N363S	
chr12:38931438	9	rs113065049	1096G>A	V366M	
chr12:38933053	11	rs34594498	1256C>T	A419V	
chr12:38937411	12	rs35847451	1383C>T	S461S	
chr12:38939594	13	rs75711334	1464A>T	L488L	
chr12:38939673	13	rs34090008	1543insG	P514fsX529	
chr12:38943875	14	rs35328937	1561A>G	R521G	
chr12:38943944	14	rs79996249	1630 A>G	K544E	
chr12:38943967	14	rs7308720	1653C>G	N551K	
chr12:38954669	15	rs77424631	1647G>A	G558G	
chr12:38958002	17	rs78154388	1987T>C	S663P	
chr12:38958037	17	rs72546319	2022A>C	V674V	
chr12:38958213	17	rs35611877	2198insA	L708fsX718	ANK
chr12:38958223	18		2134A>G	M712V	ANK
chr12:38958236	18		2147C>T	A716V	ANK
chr12:38958256	18	rs10878307	2167A>G	I723V	ANK
chr12:38963966	19	rs34410987	2264C>T	P755L	ANK
chr12:38964080	19	rs35173587	2378G>T	R793M	ANK
chr12:38964130	19	rs72546337	2428A>G	I810V	ANK
chr12:38964183	19	rs76890302	2481T>C	S827S	ANK
chr12:38967530	20		2611A>G	K871E	
chr12:38973693	21	rs58559150	2769G>C	Q923H	
chr12:38973713	21		2789A>G	Q930R	
chr12:38974935	22	rs17519916	2830G>T	D944Y	
chr12:38974962	22	rs7966550	2857T>C	L953L	
chr12:38975535	23	rs75148313	2918G>A	S973N	
chr12:38975635	23	rs113217062	3018A>G	I1006M	LRR
chr12:38975638	23	rs55783828	3021C>T	S1007S	LRR
chr12:38978415	24	rs111341148	3200G>A	R1067Q	LRR

Position	Exon	rs#	cDNA	Amino Acid	Domain
chr12:38978502	24	rs76535406	3287C>G	S1096C	LRR
chr12:38978548	24	rs78365431	3333G>T	Q1111H	LRR
chr12:38978557	24	rs35808389	3342A>G	L1114L	LRR
chr12:38979194	25	rs34805604	3364A>G	I1122V	LRR
chr12:38979281	25	rs74985840	3451G>A	A1151T	LRR
chr12:38979324	25		3494T>C	L1165P	LRR
chr12:38982935	26		3574A>G	I1192V	LRR
chr12:38984073	27	rs72546324	3647A>G	H1216R	LRR
chr12:38984109	27	rs80179604	3683G>C	S1228T	LRR
chr12:38984109	27	rs60185966	3683G>T	S1228I	LRR
chr12:38985860	28	rs4640000	3784C>G	P1262A	LRR
chr12:38988536	29	rs77018758	3960G>C/T	R1320S	
chr12:38988550	29	rs72546338	3974G>A	R1325Q	
chr12:38988687	29	rs17466213	4111A>G	I1371V	Roc
chr12:38988701	29	rs28365226	4125C>A	D1375E	Roc
chr12:38989178	30	rs7133914	4193G>A	R1398H	Roc
chr12:38989214	30	rs72546327	4229C>T	T1410M	Roc
chr12:38989243	30	rs113589830	4258G>A	D1420N	Roc
chr12:38989254	30	rs11175964	4269G>A	K1423K	Roc
chr12:38989275	30	rs111435410	4290C>T	A1430A	Roc
chr12:38989294	30	rs74163686	4309A>C	N1437H	Roc
chr12:38990503	31	rs33939927	4321C>T	R1441C	Roc
chr12:38990503	31	rs33939927	4321C>G	R1441G	Roc
chr12:38990504	31	rs34995376	4322G>A	R1441H	Roc
chr12:38990505	31	rs112998035	4323C>T	R1441R	Roc
chr12:38990506	31		4324G>C	A1442P	Roc
chr12:38990519	31	rs74681492	4337C>T	P1446L	Roc
chr12:38990530	31	rs111501952	4348G>A	V1450I	Roc
chr12:38990569	31	rs35363614	4387insA	R1462fsX1468	Roc
chr12:38990584	31		4402A>G	K1468E	Roc
chr12:38990630	31	rs113431708	4448G>A	R1483Q	Roc
chr12:38994045	32	rs35507033	4541G>A	R1514Q	COR
chr12:38994128	32	rs33958906	4624C>T	P1542S	COR
chr12:38994170	32	rs17491187	4666C>A	L1556I	COR
chr12:38995335	33	rs721710	4793T>A	V1598E	COR
chr12:39000067	34		4838T>C	V1613A	COR
chr12:39000101	34	rs1427263	4872C>A	G1624G	COR
chr12:39000112	34	rs33949390	4883G>C	R1628P	COR
chr12:39000140	34	rs11176013	4911A>G	K1637K	COR
chr12:39000166	34	rs35303786	4937T>C	M1646T	COR
chr12:39000168	34	rs11564148	4939T>A	S1647T	COR
chr12:39,000,188	34	rs111503579	4959A>G	L1653L	COR
chr12:39001183	35	rs35801418	5096A>G	Y1699C	COR
chr12:39001350	35	rs79909111	5163A>G	S1721S	COR
chr12:39002106	36	rs11564176	5173C>T	R1725STOP	COR
chr12:39002116	36		5183G>T	R1728L	COR
chr12:39002116	36	ss263192805	5183G>A	R1728H	COR
chr12:39002455	37	rs111910483	5385G>T	L1795F	COR
chr12:39002527	37	rs10878371	5457T>C	G1819G	COR
chr12:39003324	38		5605A>G	M1869V	COR

Position	Exon	rs#	cDNA	Amino Acid	Domain
chr12:39003325	38	rs35602796	5606T>C	M1869T	COR
chr12:39003329	38		5610G>T	L1870F	COR
chr12:39003339	38		5620G>T	E1874STOP	COR
chr12:39015100	39	rs77428810	5822G>A	R1941H	MAPKKK
chr12:39020430	41		6016T>C	Y2006H	MAPKKK
chr12:39020449	41	rs34015634	6035T>C	I2012T	MAPKKK
chr12:39020469	41	rs34637584	6055G>A	G2019S	MAPKKK
chr12:39020473	41	rs35870237	6059T>C	I2020T	MAPKKK
chr12:39020505	41	rs78029637	6091A>T	T2031S	MAPKKK
chr12:39026899	42	rs111739194	6187delCTCTA	L2063STOP	MAPKKK
chr12:39026953	42	rs33995883	6241A>G	N2081D	MAPKKK
chr12:39028521	43	rs10878405	6324G>A	E2108E	MAPKKK
chr12:39028553	43	rs12423862	6356C>T	P2119L	MAPKKK
chr12:39031648	44	rs111691891	6422C>T	T2141M	
chr12:39031736	44	rs34869625	6510C>A	G2170G	WD40
chr12:39031792	44	rs35658131	6566A>G	Y2189C	WD40
chr12:39036195	46	rs12581902	6782A>T	N2261I	WD40
chr12:39043509	48	rs113511708	7067C>T	T2356I	WD40
chr12:39043595	48	rs34778348	7153G>A	G2385R	WD40
chr12:39043597	48	rs33962975	7155A>G	G2385G	WD40
chr12:39043610	48	rs79546190	7168G>A	V2390M	WD40
chr12:39044912	49	rs78964014	7183G>A	E2395K	WD40
chr12:39044916	49	rs111272009	7187insGT	T2356fsX2360	WD40
chr12:39044919	49	rs3761863	7190C>T	M2397T	WD40
chr12:39044953	49	rs60545352	7224G>A	M2408I	WD40
chr12:39047081	50		7397T>A	L2466H	WD40
chr12:39047119	50	rs55633591	7435A>G	N2479D	WD40

Συμπληρωματικός Πίνακας 2. Μεταλλάξεις που ελέγχθηκαν στο γονίδιο GBA

cDNA	Protein (traditional in GD)	Protein (as recommended by HGVS)
c.1226A>G	N370S	p.Asn409Ser
c.1342G>C	D409H	p.Asp448His
c.1448T>C	L444P	p.Leu483Pro
c.1505G>A (IVS10-1G>A)		p.Arg502GlnfsX2
c.882T>G	H255Q	p.His294Gln
c.475C>T	R120W	p.Arg159Trp
c.440A>G	Y108C	p.Tyr147Cys
c.762-2A>G (IVS6-2A>G)	Not determined	Not determined

GD: Gaucher Disease, HGVS: Human Genome Variation Society

[Πίνακας τροποποιημένος από Moraitou M et al, 2011 (353)]

ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΗΣΕΙΣ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΩΝ ΟΡΩΝ

Μεροληψία = bias

Μεροληψία ανάκλησης = recall bias

Σχετικός Κίνδυνος = Relative Risk, RR

Μεροληψία επιλογής = selection bias

Μεροληψία αντίστροφου αιτίου = reverse causation bias

Μελέτες Οικογενειακής Συνάθροισης = Familial Aggregation studies

Πληθυσμιακές Μελέτες = population-based studies

Νοσοκομειακές Μελέτες = hospital-based studies

Μεροληψία οικογενειακού ιστορικού = family information bias

Εργαλεία διαλογής = screening instruments

Παρανοηματικές μεταλλάξεις = missense mutations

Μη-νοηματικές μεταλλάξεις = nonsense mutations

Διπλές ετερόζυγες μεταλλάξεις = compound heterozygote mutations

Ενδογαμία, ενδογαμικός = consanguineous

Ελλείμματα = deletions

Γενετικές Μελέτες Συσχέτισης = Association studies

Γενετικές Μελέτες Σύνδεσης = Linkage studies

Ανάλυση αλληλουχίας DNA = sequencing

Μελέτες Κοινότητας = community studies

Συντηρητική διάγνωση = conservative diagnosis

Ελευθέρια διάγνωση = liberal diagnosis

Γενετικά απομονωμένος πληθυσμός = genetic isolate

Αλυσιδωτή Αντίδραση πολυμεράσης = Polymerase Chain Reaction, PCR

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ

ΝΠ = Νόσος Πάρκινσον

ΝΑ = Νόσος Αλτσχάιμερ

ΜΡΤΡ = Μεθυλ-φενυλ-τετραϋδροπυριδίνη

OR, 95% CI = Odds Ratio, 95% Confidence Interval

ΝΕΝΠ = Νεαρχής Έναρξης Νόσος Πάρκινσον

ΑΕΝΠ = Αυτοσωματική Επικρατούσα Νόσος Πάρκινσον

SNCA = α-συνουκλεΐνη

ΑΥΝΠ = Αυτοσωματική Υπολειπόμενη Νόσος Πάρκινσον

ΑΥΝΕΝΠ = Αυτοσωματική Υπολειπόμενη Νεαρχής Έναρξης Νόσος Πάρκινσον

GWAS = Genome Wide Association Studies

GBA = β-γλυκοσερεβροσιδάση

MAPT = microtubule-associated protein tau

MLPA = Multiplex ligation-dependent probe amplification

ΑΕΝΕΝΠ = Αυτοσωματική Επικρατούσα Νεαρχής Έναρξης Νόσος Πάρκινσον

MAF = Minor Allele Frequency