

ASPECTOS GENÉTICOS DA ESCLEROSE MÚLTIPLA

I. ESTUDOS EM GÊMEOS

PATRÍCIA ALMEIDA DE REZENDE *, WALTER OLESCHKO ARRUDA **

RESUMO - Foi feita análise crítica dos estudos em gêmeos realizados na esclerose múltipla (EM). A taxa de concordância em gêmeos monozigóticos é significativamente maior do que em gêmeos dizigóticos. A média da herdabilidade da EM foi estimada em aproximadamente 28%; porém ainda não foram identificados os genes que constituem fator de risco para o desenvolvimento da EM. A EM pode ser considerada uma doença poligênica desencadeada por fatores ambientais em indivíduo geneticamente suscetível.

PALAVRAS-CHAVE: esclerose múltipla, gêmeos, genética.

Genetics in multiple sclerosis: twin studies

ABSTRACT - The authors make a review and critical analysis of twin studies in multiple sclerosis (MS). The concordance rate among homozygotic twins is significantly greater than in heterozygotic twins. The average herdability in MS is about 28%; no single gene was identified as a sole risk factor for the development of the disease. MS may be considered a polygenic disease triggered by environmental factors in a genetically predisposed individual.

KEY WORDS: multiple sclerosis, twin studies, genetics.

A esclerose múltipla (EM) é doença inflamatória crônica do sistema nervoso central (SNC) de natureza aparentemente autoimune, cuja etiologia ainda é desconhecida. Existem evidências de que fatores ambientais e genéticos estejam envolvidos na determinação de sua ocorrência¹¹. Uma maneira clássica de avaliar-se a contribuição relativa de fatores genéticos e ambientais em uma doença multifatorial é o estudo em gêmeos. A comparação dos índices de concordância entre gêmeos dizigóticos (DZ) e monozigóticos (MZ) é geralmente considerada uma medida da influência de fatores genéticos.

No presente estudo são abordados alguns aspectos genéticos possivelmente implicados na susceptibilidade à EM. Para melhor compreensão do assunto, é feita explanação prévia da metodologia do estudo em gêmeos.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta a Análise dos Dados

Os dados utilizados neste estudo foram obtidos de diversas fontes bibliográficas buscadas através do sistema MEDLINE de intercâmbio computacional entre várias bibliotecas, incluindo-se dentre estas as principais

* Mestre em Genética, Universidade Federal do Paraná (UFPR); ** Neurologista. Aceite: 14-março-1996.

das redes nacional e internacional. A maioria dos artigos provém da BIREME, São Paulo, e da Biblioteca do Hospital de Clínicas da UFPR, Curitiba. Outras referências foram enviadas de diversas localidades através do serviço de comutação bibliográfica (COMUT), e outras ainda foram gentilmente cedidas por profissionais ligados à área de neuroimunologia.

Na apresentação dos resultados de estudos referentes à EM, procedeu-se à análise estatística dos dados de concordância em gêmeos, a fim de verificar se as diferenças entre os pares de gêmeos MZ e DZ é significativa. Em seguida, utilizando os mesmos dados, fez-se uma estimativa do grau de herdabilidade da EM. A partir dessas análises, pôde-se inferir a participação de um componente genético na etiologia da EM.

A análise estatística dos dados de concordância em gêmeos foi realizada no presente estudo em cada caso através do cálculo: 1) da herdabilidade; 2) da probabilidade de aceitação ou rejeição da hipótese de igualdade entre as proporções; 3) da estimativa do intervalo de confiança a nível de 95% para as proporções de concordância individuais e 4) para a diferença de concordância entre pares de gêmeos MZ e DZ.

A fórmula comumente utilizada para o cálculo da herdabilidade (h^2)³ é:

$$h^2 = \frac{S_G^2}{S_G^2 + S_A^2} \quad (1)$$

onde s_G^2 = variância genética e s_A^2 = variância ambiental.

A *herdabilidade* é uma estimativa da contribuição do componente genético na expressão de um certo caráter, numa determinada amostra, num dado momento. Sua finalidade é dar a proporção da variação fenotípica que é devida a fatores genéticos. As características que são pouco influenciadas pelo ambiente apresentam alto grau de herdabilidade, o que implica na participação efetiva de fatores genéticos na sua determinação. Por outro lado, quanto menor o grau de herdabilidade, maior a influência de fatores ambientais e menor a participação do componente genético sobre o caráter.

A estimativa da herdabilidade é normalmente utilizada para caracteres quantitativos. O *índice de herdabilidade de Holzinger (H)* é uma medida arbitrária para o cálculo da herdabilidade de caracteres qualitativos em gêmeos¹, que utiliza as taxas de concordância para o caráter em estudo, qual seja,

$$H = \frac{C_{MZ} - C_{DZ}}{1 - C_{DZ}} \quad (2)$$

onde C_{MZ} = taxa de concordância em pares de gêmeos MZ e C_{DZ} = taxa de concordância em pares de gêmeos DZ. Ainda que o emprego desta fórmula seja pouco usual, obtém-se através dela estimativa razoável do grau de herdabilidade da EM. A média dos valores obtidos dos diversos estudos pode dar idéia de quanto o componente genético pode influenciar na manifestação da doença.

A despeito da herdabilidade referir-se a um momento estático e ser aplicável apenas à amostra em que foi estimada, é comum fazer generalizações partindo dos resultados de alguns estudos. Este procedimento é utilizado com frequência pelos melhoristas de animais e de plantas para melhor definir sua estratégia de seleção.

A comparação entre proporções é frequentemente empregada nas análises dos dados de pesquisas na área de saúde. A fim de verificar se as diferenças encontradas entre as taxas de concordância em MZ e DZ diferem significativamente, foi calculado o valor de z pela fórmula 3¹⁵, obtendo-se uma probabilidade (P) correspondente através da utilização da tabela da curva normal.

$$z = \frac{C_{MZ} - C_{DZ}}{\sqrt{\frac{C_{MZ}(1 - C_{MZ})}{n_{MZ}} + \frac{C_{DZ}(1 - C_{DZ})}{n_{DZ}}}} \quad (3)$$

onde n_{MZ} = número total de pares de gêmeos MZ e n_{DZ} = número total de pares de gêmeos DZ.

As hipóteses testadas neste caso foram: 1) hipótese nula [H_0]: $C_{MZ} = C_{DZ}$, significando que a taxa de concordância em gêmeos MZ não difere significativamente da taxa de concordância em gêmeos DZ e os desvios

podem ser atribuídos ao acaso; 2) hipótese alternativa [H_A]: $C_{MZ} \neq C_{DZ}$, significando que a taxa de concordância em gêmeos MZ difere significativamente da taxa de concordância em gêmeos DZ. Um valor de z grande favorece H_A e, ao contrário, um valor pequeno de z favorece H_0 . No presente estudo rejeitou-se H_0 sempre que ao valor de z calculado correspondeu um valor de $P > 0,05$.

Em seguida foram calculados os intervalos de confiança de 95% separadamente para os pares de MZ (fórmula 4) e DZ (fórmula 5) e para a diferença de concordância entre MZ e DZ (fórmula 6)¹⁵.

$$C_{MZ} \pm 1,96 \sqrt{\frac{C_{MZ}(1-C_{MZ})}{n_{MZ}}} \quad (4)$$

$$C_{DZ} \pm 1,96 \sqrt{\frac{C_{DZ}(1-C_{DZ})}{n_{DZ}}} \quad (5)$$

$$C_{MZ} - C_{DZ} \pm 1,96 \sqrt{\frac{C_{MZ}(1-C_{MZ})}{n_{MZ}} + \frac{C_{DZ}(1-C_{DZ})}{n_{DZ}}} \quad (6)$$

Estudos em Gêmeos em Esclerose Múltipla

Um método tradicional de investigação da influência relativa do genótipo na etiologia de determinado caráter é o estudo de pares de gêmeos. Os gêmeos são classificados como MZ quando se originam de um único zigoto, resultando em indivíduos geneticamente idênticos e que geralmente são do mesmo sexo. Gêmeos MZ de sexos diferentes são muito raros e podem ocorrer em decorrência da não disjunção do cromossomo Y durante a clivagem do zigoto, formando gêmeos heterocarióticos em que um membro possui o cariótipo 47,XY e o outro com 45,X ou, ainda, podem ser constituídos de um gêmeo de cariótipo 46,XY e o outro com 45,X, em consequência da perda de um cromossomo Y¹.

Por sua vez, os gêmeos DZ são resultantes da fertilização simultânea de dois ovócitos que formam zigotos distintos, podendo ambos ter o mesmo sexo ou apresentar sexos diferentes¹. Levando-se em consideração que os pares de gêmeos MZ possuem genótipos idênticos, podemos inferir que a variância fenotípica nesta classe de gêmeos é quase inteiramente devida a fatores ambientais, enquanto a variância fenotípica nos pares de gêmeos DZ é influenciada pelo genótipo e por fatores ambientais.

Os caracteres cuja expressão fenotípica depende da ocorrência de mutações e/ou recombinações somáticas dos genes herdados podem resultar em ligeiras diferenças genotípicas entre os pares de gêmeos MZ, como é o caso dos genes que codificam os receptores de células ou linfócitos T (TCR) e as imunoglobulinas.

A determinação da zigosidade pode ser feita por diferentes métodos como, por exemplo, pela tipagem de grupos sanguíneos eritrocitários ou pela análise de DNA. A investigação da zigosidade é necessária principalmente entre os gêmeos do mesmo sexo, já que habitualmente os de sexos diferentes são DZ¹. Diz-se que um par de gêmeos é concordante em relação a um caráter quando este caráter ou está presente, ou está ausente em ambos. Ao contrário, são discordantes os pares em que um membro possui o caráter e o outro não¹.

Estudos populacionais em gêmeos apontam para a existência de alelos que conferem susceptibilidade à EM, mas que por si só não são suficientes para desencadear a doença. Isto indica que a manifestação da doença envolve a ação conjunta de fatores genéticos e ambientais ainda desconhecidos.

RESULTADOS

Observou-se que a taxa de concordância em gêmeos MZ é quase sempre significativamente superior à de dizigóticos (Tabela). Isto sugere que existe um componente genético na determinação da doença.

Pelos dados da Tabela observa-se que somente em dois trabalhos^{7,10} as taxas de concordância entre gêmeos MZ e DZ não diferem significativamente entre si. Nos demais casos, a concordância

Tabela. Estimativas do grau de concordância para a esclerose múltipla em gêmeos monozigóticos (MZ) e dizigóticos (DZ):

Autores (Referência)	Ano	MZ	DZ	TOTAL	H%	MZ	DZ	MZ - DZ	z	P
Mackay & Myriantopoulos (10)	1966	9/39 (23%)	6/29 (21%)	68	3,0	0,23 ± 0,1322	0,21 ± 0,1474	0,02 ± 0,1980	0,24	0,4052 NS
Cendrowski (4)	1968	15/51 (29%)	5/56 (9%)	107	22,5	0,29 ± 0,1251	0,09 ± 0,0747	0,20 ± 0,1457	2,76	0,0028
Bobowick et al (2)	1978	2/5 (40%)	0/4 (0%)	9	40,0	0,40 ± 0,4294	0,00	0,40 ± 0,4294	1,83	0,0336
Williams et al (16)	1980	6/12 (50%)	2/12 (17%)	24	40,0	0,50 ± 0,2829	0,17 ± 0,2109	0,33 ± 0,3528	1,85	0,0322
Currier & Eldridge (5)	1982	8/22 (36%)	3/29 (10%)	51	29,0	0,36 ± 0,2010	0,10 ± 0,1108	0,26 ± 0,2296	2,22	0,0132
Heltberg & Holm (8)	1982	4/19 (21%)	1/28 (4%)	47	18,1	0,21 ± 0,1833	0,04 ± 0,0687	0,17 ± 0,1958	1,75	0,0401
Ebers et al (6)	1986	7/27 (26%)	1/43 (2%)	70	24,2	0,26 ± 0,1653	0,02 ± 0,0450	0,24 ± 0,1713	2,70	0,0035
Kinnunen et al (9)	1988	2/7 (29%)	0/6 (0%)	13	28,6	0,29 ± 0,3347	0,00	0,29 ± 0,3347	1,67	0,0475
French Research Group (7)	1992	1/17 (6%)	1/37 (3%)	54	3,3	0,06 ± 0,1119	0,03 ± 0,0523	0,03 ± 0,1235	0,50	0,3085 NS
Sadovnick et al. (14)	1993	8/26 (31%)	2/43 (5%)	69	27,4	0,31 ± 0,1774	0,05 ± 0,0629	0,26 ± 0,1882	2,72	0,0033
Mumford et al. (12)	1994	11/44 (25%)	2/61 (3%)	105	22,5	0,25 ± 0,1279	0,03 ± 0,0447	0,22 ± 0,1355	3,14	0,0008

H, Herdabilidade; z, cálculo da diferença; p, grau de significância (p>0,05 = não significante); NS, não significativo.

em MZ é significativamente maior do que em DZ, o que reforça a hipótese da participação de um componente genético na determinação da suscetibilidade à EM. Tomando como exemplo outro estudo⁴, de maior número amostral (N = 107), tem-se que o intervalo de confiança de 95% da diferença entre as proporções ($C_{MZ} - C_{DZ}$) é $0,20 \pm 0,1457$, isto é, um valor qualquer da diferença entre as taxas de concordância quanto à EM entre os pares de gêmeos MZ e DZ tem 95% de probabilidade de estar entre 0,0543 e 0,3457.

Considerando-se os estudos individuais, a herdabilidade da EM varia desde 18,1% até 40,0%, média de 28%, excluídos os dois trabalhos referidos anteriormente^{7,10}, nos quais o valor de H diferiu consideravelmente dos demais, coincidindo serem os únicos a obterem resultados não significativos quanto à diferença de concordância entre MZ e DZ. Nota-se grande coincidência entre os dados de H e dos intervalos de confiança para a diferença, apesar de se tratar de duas abordagens distintas. Tal coincidência provavelmente acontece porque o valor de $1 - CDZ$ é praticamente igual a 1 e, sendo assim, $H = C_{MZ} - C_{DZ}$.

DISCUSSÃO

Como na maioria dos estudos em gêmeos, a concordância em pares de gêmeos MZ diferiu significativamente da concordância em DZ (Tabela), com exceção dos dois estudos já referidos^{7,10}. Qual seria a razão da não-significância dos resultados de concordância entre MZ e DZ destes dois estudos? Através da análise minuciosa da metodologia empregada por seus autores, nota-se certa dificuldade, senão insegurança, quanto à determinação da zigossidade e quanto ao diagnóstico da EM, que pode ser realmente difícil¹³. Por exemplo, os próprios autores afirmam que, por questões técnicas, não foi possível fazer a análise de DNA para testar a zigossidade em todos os pares de gêmeos da amostra, restringindo-se a informações dadas pelos pacientes e que, após os resultados da ressonância magnética entre os membros não afetados clinicamente, constatou-se que vários apresentavam sinais indicativos da EM⁷. Da mesma forma, os outros autores¹⁰ afirmaram ter inicialmente determinado a zigossidade baseada em grupos sanguíneos e, depois, reclassificaram os pares de gêmeos MZ e DZ baseados em outros critérios (análise de DNA e características físicas). Além disto os critérios de diagnóstico foram estabelecidos por um dos autores, que subdividiu os pares de gêmeos em quatro categorias: 1) definido, inteiramente concordante; 2) provável, inteiramente concordante; 3) definido, possivelmente concordante; 4) definido, discordante. Ao incluir somente os pares "inteiramente concordantes" na análise, MacKay & Myrianthopoulos¹⁰ encontraram taxa de concordância de 15,5% em MZ e de 10,3% em DZ, e após a inclusão dos pares "possivelmente concordantes", obtiveram os dados mostrados na Tabela (23% em MZ e 21% em DZ).

Em vista do que foi colocado, pode-se inferir que a taxa média de concordância em gêmeos MZ é aproximadamente 32%, enquanto em gêmeos DZ este valor é algo próximo de 6%, diferindo significativamente. A EM é, portanto, doença que envolve a participação de um componente genético, provavelmente poligênico, posto que contribui em média 28% para a suscetibilidade à doença, e de fatores ambientais relevantes que contribuem em média 72% na determinação da expressão da doença.

CONCLUSÕES

1. Através da análise estatística dos dados de estudos populacionais em gêmeos, verificou-se que a taxa de concordância entre gêmeos MZ é significativamente maior do que entre gêmeos DZ, sugerindo a participação de componente genético na etiologia da EM.

2. Após o cálculo da herdabilidade, estimou-se que a contribuição do componente genético na susceptibilidade à EM está em torno de 28%. Os dados sugerem que um caráter genético poligênico e que fatores ambientais ainda desconhecidos são relevantes na etiologia da EM.

REFERÊNCIAS

1. Beigelman B. Dinâmica dos genes nas famílias e nas populações. Ribeirão Preto: SBG 1994.
2. Bobowick A, Kurtzke JF, Brody A, Hrubec Z, Gillespie M. Twin study of multiple sclerosis: an epidemiologic inquiry. *Neurology* 1978;28:978-987.

3. Cavalli-Sforza LL, Bodmer WF. The genetics of human populations. São Francisco:Freeman, 1971.
4. Cendrowski WS. Multiple sclerosis: discordance in three pairs of dizygotic twins. *J Med Genet* 1968;5:266-268.
5. Currier RD, Eldridge R. Possible risk factors in multiple sclerosis as found in a national twin study. *Arch Neurol* 1982;39:140-144.
6. Ebers GC, Bulman DE, Sadovnick AD, Paty DW, Warren S, Hade W, Murray TJ, Seland TP, Duquette P, Grey T, Nelson R, Nicolle M, Brunet D. A population-based study of multiple sclerosis in twins. *N Engl J Med* 1986;315:1638-1642.
7. French Research Group on Multiple Sclerosis. Multiple sclerosis in 54 twinships: concordance rate is independent of zygosity. *Ann Neurol* 1992;32:724-727.
8. Heltberg A, Holm NV. Concordance in twins and recurrence in sibships in multiple sclerosis. *Lancet* 1982;1:1068.
9. Kinnunen E, Juntunen J, Ketonen L, Koskimies S, Kontinen YT, Salmi T, Koskenvuo M, Kaprio J. Genetic susceptibility to multiple sclerosis: a co-twin study of a nation-wide series. *Arch Neurol* 1988;45:1108-1111.
10. MacKay RP, Myrionthopoulos NC. Multiple sclerosis in twins and their relatives. *Arch Neurol* 1966;15:449-462.
11. Matthews HB, Compston A, Allen IV, Martyn CN. McAlpine's multiple sclerosis. Ed2. New York: Churchill Livingstone, 1991.
12. Mumford CJ, Wood NW, Kellar-Wood H, Thorpe JW, Miller DH, Compston DAS. The British isles survey of multiple sclerosis in twins. *Neurology* 1994;44:11-15.
13. Poser CM. Multiple sclerosis: diagnosis and treatment. *Med Principles Pract* 1992;3:1-16.
14. Sadovnick AD, Armstrong H, Rice GPA, Bulman D, Hashimoto L, Paty DW, Hashimoto SA, Warren S, Hader W, Murray TJ, Seland TP, Metz L, Bell R, Duquette P, Gray T, Nelson R, Weinschenker B, Brunet D, Ebers GC. A population-based study of multiple sclerosis in twins: update. *Ann Neurol* 1993;33:281-285.
15. Shott S. Statistics for health professionals. Philadelphia: Saunders, 1990.
16. Williams A, Eldridge R, McFarland H, Houff S, Krebs H, McFarlin D. Multiple sclerosis in twins. *Neurology* 1980;30:1139-1147.