

## ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ORIGINAL PAPER

# Η χορεία του Huntington Γενετική και επιδημιολογική μελέτη στον ελληνικό πληθυσμό

**ΣΚΟΠΟΣ** Η χορεία του Huntington (Huntington's disease, HD) είναι ένα κληρονομικό νόσημα του κεντρικού νευρικού συστήματος, που μεταβιβάζεται με τον αυτοσωματικό επικρατή τρόπο και χαρακτηρίζεται από χοραιοαθետωσικές κινήσεις, άνοια και ψυχικές διαταραχές. Η υπεύθυνη για τη νόσο μεταλλαγή είναι μια ασταθής επέκταση επαναλήψεων του τρινουκλεοτιδίου CAG στο πρώτο εξόνιο του γονιδίου *HHT* στη θέση 4q16.3. Από τον Ιανουάριο του 1995 έως το Δεκέμβριο του 2008 διεξήχθη ευρείας κλίμακας γενετική και επιδημιολογική μελέτη της HD στην Ελλάδα. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν (α) ο καθορισμός των δημογραφικών, κλινικών και επιδημιολογικών χαρακτηριστικών της χορείας του Huntington (HD) στον ελληνικό πληθυσμό και (β) η αξιολόγηση των χαρακτηριστικών, της έκβασης και της προσελευσιμότητας των μοριακών ελέγχων για HD που πραγματοποιήθηκαν. **ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ** Μελετήθηκαν συνολικά 717 άτομα, από τα οποία 461 για διαγνωστικούς λόγους και 256 για προσυμπτωματικό έλεγχο. Η μεθοδολογία περιελάμβανε κλινικό έλεγχο όλων των συμμετεχόντων, μοριακή γενετική ανάλυση (ανάλυση DNA) για τον εντοπισμό των επαναλήψεων CAG στα γονίδια *HHT* και *ATN1*, καθώς και στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων. **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ** Η διάγνωση της HD με αριθμό επαναλήψεων CAG  $\geq 36$  επιβεβαιώθηκε σε 278 συμπτωματικούς ασθενείς. Ο επιπολασμός της HD στην Ελλάδα υπολογίστηκε στο 5,4 ανά 100.000 πληθυσμού, ενώ η ελάχιστη μέση επίπτωση της νόσου στην Ελλάδα εκτιμήθηκε από 2,2–4,4 ανά εκατομμύριο πληθυσμού ετήσια. Η μοριακή διάγνωση της HD επιβεβαιώθηκε στην πλειονότητα των ασθενών (84,4%) που παραπέμφθηκαν για επιβεβαίωση. Οι ψευδώς θετικές περιπτώσεις (15,6%) χαρακτηρίζονταν από αρνητικό οικογενειακό ιστορικό και άτυπη κλινική εικόνα. Η προσελευσιμότητα για προσυμπτωματικό έλεγχο ήταν πολύ μικρή (8,6%). Προγεννητικός έλεγχος πραγματοποιήθηκε σε 6 περιπτώσεις. **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ** Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δεν διέφεραν σημαντικά από εκείνα παρόμοιων μελετών από άλλες ευρωπαϊκές χώρες, παρά τη σχετική γενετική απομόνωση που χαρακτηρίζει τον ελληνικό πληθυσμό. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το φαινόμενο της εμφάνισης γεωγραφικών περιοχών αυξημένου επιπολασμού της HD στην Ελλάδα.

Η χορεία του Huntington (Huntington's disease, HD) είναι ένα κληρονομικό νόσημα του κεντρικού νευρικού συστήματος, που μεταβιβάζεται με τον αυτοσωματικό επικρατή τρόπο. Κλινικά, χαρακτηρίζεται από την κλασική τριάδα συμπτωμάτων: χοραιοαθետωσικές κινήσεις, άνοια και ψυχικές διαταραχές. Η συχνότητά της στους ευρωπαϊκούς πληθυσμούς κυμαίνεται από 5–19 ανά 100.000. Το γονίδιο της HD (*HHT*) ευρίσκεται στο άκρο του βραχέος σκέλους του χρωμοσώματος 4. Η υπεύθυνη μεταλλαγή είναι μια ασταθής επέκταση επαναλήψεων του τρινουκλεοτιδίου CAG

στο πρώτο εξόνιο του γονιδίου *HHT* στη θέση 4q16.3.<sup>1</sup>

Η εντόπιση και ο χαρακτηρισμός της μεταλλαγής με τεχνικές μοριακής γενετικής (ανάλυση DNA) διασφαλίζει τη βέβαιη διάγνωση της νόσου τόσο στο συμπτωματικό ασθενή, όσο και στους κλινικά υγιείς συγγενείς του που έχουν μεγάλες πιθανότητες να κληρονόμησαν το παθογόνο γονίδιο (προσυμπτωματική διάγνωση) και επιτρέπει την προγεννητική διάγνωση.

Η γνώση των γενετικών και των επιδημιολογικών χαρα-

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2011, 28(6):785–793  
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2011, 28(6):785–793

Α. Κλάδη,  
Γ. Καραδήμα,  
Ε. Βάσσοσ,  
Ν. Καλφάκης,  
Δ. Βασιλόπουλος,  
Μ. Πάνας

Μονάδα Κλινικής και Μοριακής  
Γενετικής του Νευρικού Συστήματος,  
Νευρολογική Κλινική, Πανεπιστήμιο  
Αθηνών, «Αιγινήτειο» Νοσοκομείο,  
Αθήνα

Huntington's disease. A genetic  
and epidemiological study in the  
Greek population

Abstract at the end of the article

### Λέξεις ευρετηρίου

Ελλάδα  
Επιδημιολογία  
Νευρογενετική  
Πληθυσμός  
Χορεία του Huntington

Υποβλήθηκε 18.4.2011  
Εγκρίθηκε 26.5.2011

κτηριστικών της HD στους διάφορους πληθυσμούς είναι απαραίτητη, όχι μόνο διότι επιτρέπει την ακριβέστερη διάγνωση και την ασφαλέστερη παροχή γενετικής συμβουλής, αλλά και επειδή παρέχει το αναγκαίο υπόστρωμα για το σχεδιασμό εκ μέρους των φορέων υγείας ενός αποτελεσματικότερου προγράμματος για την έγκαιρη διάγνωση και την αποτελεσματικότερη πρόληψη της νόσου. Στην Ελλάδα, τέτοιου είδους ευρείας κλίμακας μελέτες που να αφορούν στην HD ελλείπουν. Παρόμοιες μελέτες έχουν ιδιαίτερη αξία, καθώς ο ελληνικός πληθυσμός διατελεί σε σχετική γενετική απομόνωση.<sup>2</sup>

Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν ο καθορισμός των δημογραφικών, κλινικών και επιδημιολογικών χαρακτηριστικών της HD στον ελληνικό πληθυσμό.

## ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

### Συλλογή υλικού

Η Μονάδα Νευρογενετικής της Νευρολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών –«Αιγινήτειο» Νοσοκομείο– είναι το μοναδικό εθνικό κέντρο που παρέχει σε ευρεία κλίμακα μοριακό γενετικό έλεγχο για την HD στην Ελλάδα.

Το υλικό της μελέτης αποτέλεσαν ασθενείς που παρακολουθούνταν ή νοσηλεύονταν στο «Αιγινήτειο» Νοσοκομείο ή παραπέμφθηκαν στη Μονάδα Νευρογενετικής του «Αιγινήτειου» Νοσοκομείου ως εξωτερικοί ασθενείς, από το νευρολόγο τους ή από ιατρό άλλης ειδικότητας. Όλοι εξετάστηκαν κλινικά από τον ίδιο νευρολόγο της Μονάδας εκτός από λίγες περιπτώσεις, κατά τις οποίες δεν μπορούσε να μετακινηθεί ο ασθενής. Σε αυτή την περίπτωση συμπληρώθηκε ένα ερωτηματολόγιο από το θεράποντα ιατρό. Καταγράφηκαν τα δημογραφικά και τα κλινικά στοιχεία και ελήφθη δείγμα αίματος, καθώς και ενυπόγραφη συγκατάθεση για την ανάλυση DNA, από κάθε συμμετέχοντα. Πρόκειται για μια προοπτική μελέτη, στην οποία καταγράφηκαν διαδοχικά όλοι οι συμμετέχοντες. Όπως είναι αναμενόμενο, ένας αριθμός ατόμων διέφυγε της καταγραφής λόγω άλλης διάγνωσης ή επειδή απεθύνθηκε σε κέντρα της αλλοδαπής. Οι εξετάσεις που αφορούσαν σε περιπτώσεις προσυμπτωματικής ή προγεννητικής διάγνωσης πραγματοποιούνταν μετά από δύο συνεδρίες συμβουλευτικής γενετικής και ψυχολογικής εκτίμησης των ενδιαφερομένων.

Στο πλαίσιο της ηλικιακής κατανομής των ασθενών, χαρακτηρίστηκαν ως παιδικές μορφές οι περιπτώσεις ασθενών που εμφάνισαν τη νόσο σε ηλικία <10 ετών και ως νεανικές μορφές αυτές που εμφάνισαν τη νόσο από 11–19 ετών. Όσον αφορά στους προγεννητικούς ελέγχους, επειδή η Μονάδα δεν διαθέτει την κατάλληλη μεθοδολογία για την ασφαλή και αξιόπιστη διενέργειά τους, πραγματοποιήθηκαν σε όμοιο εργαστήριο άλλης ευρωπαϊκής χώρας.

### Υλικό

Όλα τα άτομα που περιελήφθησαν στη μελέτη ήταν ελλη-

νικής καταγωγής και προέρχονταν από διάφορες περιοχές της Ελλάδας.

Συνολικά, μελετήθηκαν 717 άτομα κατά το διάστημα μεταξύ Ιανουαρίου 1995 και Ιανουαρίου 2008. Από τα άτομα αυτά, 461 ήταν ασθενείς και διερευνήθηκαν για διαγνωστικούς λόγους (επιβεβαίωση ή αποκλεισμός της HD), ενώ 256 ήταν κλινικά υγείς και εξετάστηκαν στο πλαίσιο προσυμπτωματικής διάγνωσης.

Επίσης, διενεργήθηκαν 6 προγεννητικοί έλεγχοι.

### Μεθοδολογία

Ως ηλικία έναρξης ορίστηκε η ηλικία κατά την οποία εντοπίστηκαν τα πρώτα συμπτώματα (υπερκινησίες, άνοια, ψυχικές διαταραχές) είτε από τον ίδιο τον ασθενή είτε από τους συγγενείς του ή τον παθολόγο.

Το οικογενειακό ιστορικό θεωρήθηκε θετικό στις περιπτώσεις εκείνες κατά τις οποίες τουλάχιστον άλλο ένα μέλος της οικογένειας είχε βέβαιη διάγνωση HD. Στις περιπτώσεις όπου δεν υπήρχαν συγγενείς με σημεία και συμπτώματα HD ή άλλου νευρολογικού ή ψυχιατρικού νοσήματος, το οικογενειακό ιστορικό θεωρήθηκε αρνητικό, ενώ, εάν δεν υπήρχαν επαρκείς πληροφορίες, το οικογενειακό ιστορικό θεωρήθηκε άγνωστο.

Ο αριθμός επαναλήψεων CAG (CAGn) στο γονίδιο *HHT* και ο αριθμός των επαναλήψεων CAG στο γονίδιο *ATN1*, υπεύθυνο για την οδοντοερωθρο-ωχρολουϊσιανή ατροφία (DRPLA), ανιχνεύθηκαν με βάση τη μεθοδολογία προηγούμενων μελετών.<sup>3,4</sup>

Αριθμός επαναλήψεων CAG 6–26 θεωρείται φυσιολογικός (1ος βαθμός). Αριθμός CAG 27–35 θεωρείται ότι ευρίσκεται στα ανώτερα φυσιολογικά όρια αλλά ικανός να επεκταθεί περαιτέρω στις επόμενες γενεές και να περάσει στα παθολογικά όρια (2ος βαθμός). Μεγέθη CAGn  $\geq 36$  επαναλήψεων θεωρούνται επεκτεταμένα και συνεπώς παθολογικά της HD, αλλά μειωμένης διεισδυτικότητας (3ος βαθμός), ενώ, τέλος, αριθμός επαναλήψεων CAG >40 θεωρείται παθολογικός της HD και πλήρως διεισδυτικός.<sup>5</sup>

Περιπτώσεις που εξετάστηκαν πριν από το 1995 και μετά το 2008 δεν περιελήφθησαν στη μελέτη.

### Στατιστική ανάλυση

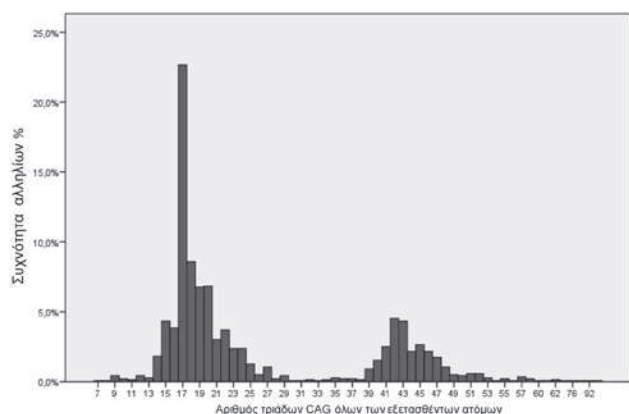
Η στατιστική σημαντικότητα ελέγχθηκε με τις δοκιμασίες  $\chi^2$ , Student's t-test, καθώς και με τη γραμμική συσχέτιση και την παλινδρόμηση. Τα δεδομένα αναλύθηκαν με χρήση του προγράμματος SSCP 16. Ως όριο στατιστικής σημαντικότητας τέθηκε η τιμή  $p < 0,05$ .

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση DNA σε 717 άτομα. Από αυτούς, οι 461 ήταν ασθενείς και οι 256 συγγενείς τους με υψηλό κίνδυνο να έχουν κληρονομήσει το παθολογικό γονίδιο. Επέκταση του γονιδίου παρατηρήθηκε σε 401 άτομα. Το συχνότερο αλληλόμορφο ήταν αυτό με 42

επαναλήψεις. Η κατανομή των φυσιολογικών και των παθολογικών αλληλομόρφων στον πληθυσμό της μελέτης φαίνεται στην εικόνα 1.

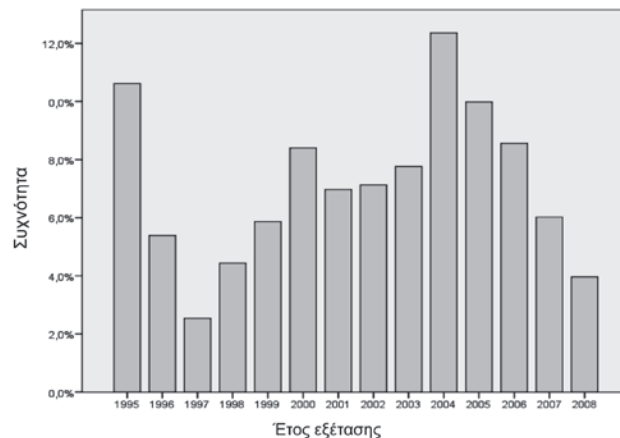
Ο συνολικός αριθμός των αιτήσεων για γενετικό έλεγχο HD στην εν λόγω Μονάδα εμφανίζει ένα αρχικό έπαρμα το 1995, ακολουθούμενο από προοδευτική αύξηση μέχρι το 2004 και στη συνέχεια μειώνεται σταδιακά έως το 2008 (εικ. 2).



**Εικόνα 1.** Η κατανομή των φυσιολογικών και των παθολογικών αλληλομόρφων γονιδίων του συνόλου των εξετασθέντων.

**Διαγνωστικός έλεγχος**

Συνολικά, εξετάστηκαν για διαγνωστικούς λόγους 461 άτομα με συμπτωματολογία HD (πίν. 1). Η διάγνωση HD επιβεβαιώθηκε σε 278 ασθενείς, ενώ σε 183 αποκλείστηκε η διάγνωση της HD. Συγκρίνοντας τα άτομα στα οποία επιβεβαιώθηκε η διάγνωση της HD προς αυτά στα οποία αποκλείστηκε η διάγνωση, διαπιστώνεται ότι οι ασθενείς που τελικά δεν είχαν HD ήταν κυρίως γυναίκες (p=0,045),



**Εικόνα 2.** Η κατανομή, ανά έτος, των αιτήσεων για μοριακό έλεγχο κατά το χρονικό διάστημα 1995–2008.

**Πίνακας 1.** Δημογραφικά χαρακτηριστικά και αποτελέσματα γενετικών ελέγχων στη χορεία του Huntington.

	Σύνολο	Φύλο	Ηλικίας αίτησης	Ηλικία έναρξης	CAGn
	717	A=339 Γ=378	43,5±16,7 (1–83) 43,1±17,1 (7–83)		
Διαγνωστικοί έλεγχοι	461	A=223 Γ=238	48,3±15,6 (3–83) 48,7±16,4 (7–83)	40,5±15,4 (2–75) 41,0±16,2 (2–73)	36,6±13,8 (12–94) 34,0±13,2 (15–92)
CAG ≥36	278	A=145 Γ=133	50,8±14,3 (7–83) 49,7±13,7 (10–78) 51,9±14,4 (7–83)	44,0±12,9 (3–73) 43,5±12,8 (3–73) 44,5±12,9 (6–71)	45,3±6,7 (36–94) 45,7±7,3 (36–94) 44,8±6,0 (36–92)
CAG <36	183	A=78 Γ=105	45,1±18,1 (3–83) 45,7±18,3 (3–83) 44,6±17,9 (7–79)	37,7±18,3 (2–75) 34,9±17,8 (2–75) 36,4±18,6 (2–73)	
Προσυμπτωματικοί έλεγχοι	256	A=116 Γ=140	33,8±14,0 (91–81) 34,1±14,8 (1–81) 33,5±13,4 (7–73)		
CAG ≥36	123	A=54 Γ=69	31,5±13,0 (1–72) 30,9±12,8 (1–62) 32,3±12,8 (7–72)		44,2±4,1 (36–56) 44,2±4,2 (39–59)
CAG <36	133	A=62 Γ=71	35,7±14,8 (13–81) 36,9±15,9 (13–81) 37,7±13,9 (13–73)		20,6±4,3 (15–35) 20,7±4,6 (14–35)

A: Άνδρες, Γ: Γυναίκες

με μικρότερη ηλικία ( $p=0,000$ ) και πρωιμότερη ( $p=0,000$ ) έναρξη της νόσου.

Η συσχέτιση μεταξύ ηλικίας έναρξης της νόσου και αριθμού CAGs ήταν  $r^2=0,57$ , δείχνοντας ότι όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός CAG τόσο μικρότερη είναι η ηλικία έναρξης της νόσου (εικ. 3).

Το κύριο σύμπτωμα με το οποίο εισέβαλε η νόσος στους ασθενείς στους οποίους επιβεβαιώθηκε η διάγνωση της HD ήταν χορεία (67%), ακολουθούμενη από ψυχιατρική συμπτωματολογία (20%) και άνοια (11%), ενώ 2% των ασθενών παρουσίαζαν κατά την έναρξη της νόσου δυστονία, δυσκαμψία, tics ή δυσκινησία.

Οι ειδικότητες των ιατρών που ζήτησαν τις εξετάσεις ήταν κυρίως νευρολόγοι (87,2%), ακολουθούμενοι από ψυχιάτρους (10,6%), παιδονευρολόγους (1,3%) και νευροχειρουργούς (0,9%).

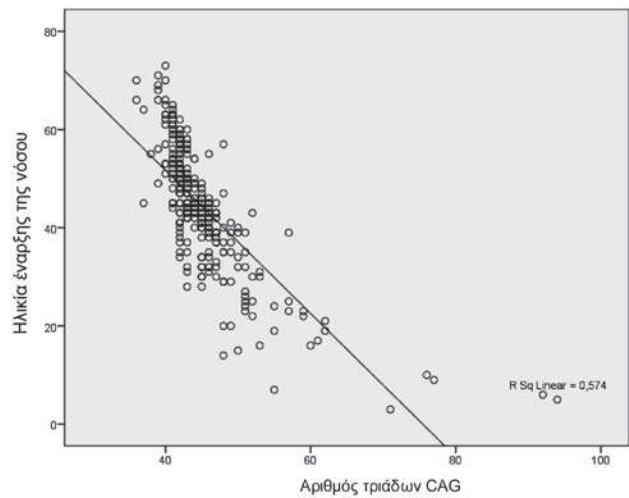
### Επιπολασμός

Ο αριθμός των διαγνώσεων που πραγματοποιήθηκαν είχε αυξητική πορεία κατά τα πρώτα έτη της μελέτης, σταθεροποιήθηκε το 2005 και ακολούθησε πτωτική πορεία έως το έτος 2008 (εικ. 4). Το σχετικό στοιχείο υπαινίσσεται ότι έχουν καταγραφεί σχεδόν όλες οι οικογένειες και ότι ο επιπολασμός της νόσου στην Ελλάδα (πληθυσμός 10.964.020 σύμφωνα με την απογραφή του 2001) ανέρχεται περίπου στο 2,5 ανά 100.000 άτομα. Στην προσπάθεια προσέγγισης, όσο το δυνατόν περισσότερο, του πραγματικού αριθμού των ασθενών, στην ανάλυση, εκτός των 278 γενετικά επιβεβαιωμένων ασθενών, συμπεριελήφθησαν και όλοι οι ασθενείς συγγενείς τους που παρουσίαζαν κλινική εικόνα συμβατή με HD, αλλά οι οποίοι για διάφορους λόγους δεν υποβλήθηκαν σε γενετικό έλεγχο. Με αυτόν τον τρόπο εντοπίστηκαν άλλοι 316 πάσχοντες με διάγνωση HD επιβεβαιωμένη κλινικά από τους συγγραφείς ή από τους φακέλους νοσηλείας τους. Με τα νέα αυτά δεδομένα, ο επιπολασμός ανέρχεται σε ποσοστό 5,4 ανά 100.000.

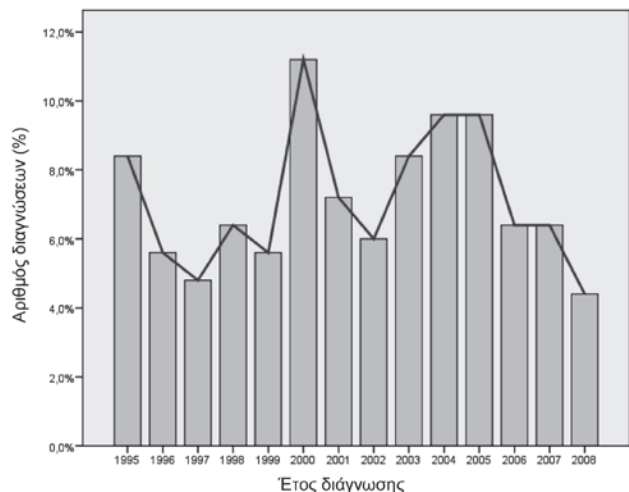
Το μέσο ποσοστό θετικών (CAG  $\geq 36$ ) απαντήσεων (ο αριθμός των εξετάσεων που πραγματοποιήθηκαν ανά εκατομμύριο του υπό εξέταση πληθυσμού ετήσια) υπολογίζεται στην Ελλάδα στο 1,6 περίπου.

### Επίπτωση

Ο συνολικός αριθμός των νεοεμφανιζόμενων ασθενών με HD σε ένα δεδομένο πληθυσμό εντός μιας δεδομένης χρονικής περιόδου μπορεί να υπολογιστεί κατ' ευθείαν από τον αριθμό των ατόμων που εμφάνισαν συμπτώματα



**Εικόνα 3.** Συσχέτιση μεταξύ ηλικίας έναρξης της νόσου και αριθμού CAGs.



**Εικόνα 4.** Αριθμός διαγνώσεων κατά τα έτη 1995–2008.

ή έλαβαν διάγνωση HD εντός ενός έτους, στον εν λόγω πληθυσμό. Στον αριθμό αυτόν προστέθηκαν και όσοι είχαν υποβληθεί σε προσυμπτωματικό έλεγχο και ακολούθως εμφάνισαν συμπτώματα (32 άτομα). Λαμβάνοντας υπ' όψη ότι το εργαστήριό μας είναι το μόνο Εθνικό Κέντρο Αναφοράς για την HD, αλλά και το γεγονός ότι η καταγραφή των περιστατικών είναι ελλιπής, θα μπορούσε να υπολογιστεί ότι η ελάχιστη μέση επίπτωση της HD στην Ελλάδα είναι 2,2 ανά εκατομμύριο πληθυσμού, ανά έτος. Ο αριθμός αυτός ανέρχεται σε 4,4 ανά εκατομμύριο πληθυσμού ετήσια, εάν προστεθούν και οι επί πλέον 316 κλινικά επιβεβαιωμένοι ασθενείς. Δεν παρατηρήθηκε διαφορά της επίπτωσης ως προς το φύλο.

**Οικογενειακό ιστορικό**

Παρατηρήθηκε ότι 16,9% των ασθενών με κλινική εικόνα HD και θετικό οικογενειακό ιστορικό, τελικά, δεν είχαν HD.

Μοριακή επιβεβαίωση της νόσου επιτεύχθηκε σε 248 (84,4%) ασθενείς επί συνόλου 294 ασθενών που προσήλθαν προς επιβεβαίωση της νόσου. Στους εναπομείναντες 46 ασθενείς (15,6%) αυτής της ομάδας αποκλείστηκε μοριακά η διάγνωση HD (ψευδώς θετικοί). Μεταξύ αυτών των ψευδώς θετικών περιπτώσεων, 16 είχαν θετικό οικογενειακό ιστορικό νόσου παρόμοιας με την HD, ενώ 30 δεν είχαν οικογενειακό ιστορικό (πίν. 2).

Στην ομάδα που ελέγχθηκε για αποκλεισμό της νόσου (167 ασθενείς), η διάγνωση όντως αποκλείστηκε σε 137 ασθενείς (82%), ενώ, παραδόξως, επιβεβαιώθηκε σε 30 (18%) ασθενείς (ψευδώς αρνητικοί). Στην ομάδα των ψευδώς αρνητικών ασθενών, 7 είχαν οικογενειακό ιστορικό HD και πρότερο κίνδυνο νόσησης (prior risk) 50%. Τόσο οι ψευδώς θετικοί ασθενείς (46 ασθενείς) όσο και αυτοί που αποκλείστηκαν μοριακά για HD (137 ασθενείς) διερευνήθηκαν για μεταλλαγές του τύπου της επέκτασης τριάδων CAG στο γονίδιο *ATN1*, χαρακτηριστικών της οδοντοερυθρο-ωχρολουϊζιανής ατροφίας (DRPLA). Κανένας ασθενής δεν έφερε αυτή τη μεταλλαγή.

**Προσυμπτωματικός έλεγχος**

Στο πλαίσιο της προσυμπτωματικής διάγνωσης, 256 άτομα υποβλήθηκαν σε μοριακή γενετική ανάλυση (πίν. 1). Πρότερος κίνδυνος νόσησης 50% (ένας γονέας προσβεβλημένος ή φορέας) υπήρχε σε 229 άτομα (89,5%), ενώ σε 19 περιπτώσεις (7,4%) ο πρότερος κίνδυνος νόσησης ήταν 25% (ένας προσβεβλημένος πρόγονος ή άλλος συγγενής δευτέρου βαθμού). Η ηλικία αίτησης για γενετικό έλεγχο στην ομάδα κινδύνου νόσησης 25% ήταν σημαντικά μικρότερη ( $p=0,001$ ).

**Προσελευσιμότητα**

Η προσελευσιμότητα για προσυμπτωματική διάγνωση HD –ο αριθμός των ενηλίκων ατόμων που όντως εξετάστηκαν προς τον αριθμό εκείνων που θα μπορούσαν να εξεταστούν– υπολογίστηκε, αφού προηγουμένως ενημερώθηκαν σχεδόν όλα τα μη νοσούντα ενήλικα συγγενικά μέλη των ασθενών της παρούσας μελέτης. Από το σύνολο των 256 ατόμων σε κίνδυνο νόσησης που υποβλήθηκαν σε μοριακή ανάλυση, 235 άτομα (91,8%) ήταν ενήλικα. Δεδομένου ότι ο επιπολασμός της HD στην Ελλάδα υπολογίστηκε περίπου σε 5,4/100.000, ο αναμενόμενος αριθμός των ενηλίκων ατόμων σε κίνδυνο νόσησης, με μια εκτίμηση 5 άτομα σε κίνδυνο για κάθε ασθενή με HD (Connolly’s ratio 1:5), είναι 2.726. Έτσι, η συνολική προσελευσιμότητα του πληθυσμού που βρίσκεται σε κίνδυνο νόσησης για προσυμπτωματικό έλεγχο στη συγκεκριμένη μελέτη ανέρχεται στο 8,6% περίπου (235/2.726).

**Προγεννητική διάγνωση**

Προγεννητικός έλεγχος ζητήθηκε μόνο από 6 ενήλικα άτομα. Οι γονείς ήταν ενήμεροι φορείς, που είχαν υποβληθεί πρόσφατα σε προσυμπτωματικό έλεγχο, οπότε τα έμβρυα είχαν κίνδυνο νόσησης 50%. Όλοι οι προγεννητικοί έλεγχοι ήταν φυσιολογικοί.

**Γεωγραφική κατανομή**

Το σύνολο των 278 ασθενών με HD που επιβεβαιώθηκαν μοριακά, περιελάμβανε 218 ανεξάρτητες, μη συγγενικές οικογένειες, για τις οποίες ήταν γνωστός ο τόπος καταγωγής του αρχικού πάσχοντα. Ο μέσος αριθμός μη συγγενικών οικογενειών με HD στην Ελλάδα ανά νομό ήταν τέσσερις. Ωστόσο, εντοπίστηκαν εστίες αυξημένου επιπολασμού HD στη χερσόνησο της Μάνης ( $p=0,000$ ), στο νομό Μεσσηνίας ( $p=0,000$ ), στις Κυκλάδες και στο νομό Λασιθίου (Κρήτη) ( $p=0,000$ ) (εικ. 5). Οι εστίες αυξημένου

**Πίνακας 2.** Δημογραφικά χαρακτηριστικά των αιτήσεων για έλεγχο για χορεία του Huntington (HD) και οικογενειακό ιστορικό σύμφωνα με τα αποτελέσματα των γενετικών ελέγχων.

	Αιτήσεις για επιβεβαίωση HD		Αιτήσεις για αποκλεισμό HD		Σύνολο
	HD επιβεβαιωμένοι (≥36 CAGs)	HD αποκλεισμένοι (<36 CAGs)	HD επιβεβαιωμένοι (≥36 CAGs)	HD αποκλεισμένοι (<36 CAGs)	
Οικογενειακό ιστορικό	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Σύνολο	248 (84,4)	46 (15,6)	30 (18,0)	137 (82,9)	461 (100,0)
Θετικό	217 (93,1)	16 (6,9)	7 (31,8)	15 (68,2)	255 (55,3)
Αρνητικό	11 (26,8)	30 (73,2)	5 (4,1)	117 (95,9)	163 (35,4)
Άγνωστο	20 (100,0)	0	18 (78,3)	5 (21,7)	43 (9,3)



**Εικόνα 5.** Γεωγραφική κατανομή της χορείας του Huntington (HD) στην Ελλάδα. Χερσόνησος Μάνης: 1, Νομός Μεσσηνίας: 2, Κρήτη: 3, Κυκλάδες: 4.

επιπολασμού καθορίζονται, συγκρίνοντας τη συχνότητα των εμφανισθέντων κρουσμάτων HD προς τον αριθμό των αναμενόμενων κρουσμάτων HD σε κάθε γεωγραφική περιοχή, λαμβάνοντας υπ' όψη τον πληθυσμό της και τη συχνότητα της νόσου στην Ελλάδα.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη προσπάθεια να μελετηθεί η HD σε μεγάλη κλίμακα στην Ελλάδα.

### Διαγνωστικός έλεγχος

Η διάγνωση για HD επιβεβαιώθηκε στο 60,3% των περιπτώσεων. Παρόμοια ποσοστά αναφέρθηκαν και σε άλλες μελέτες.<sup>6-8</sup> Οι συμπτωματικοί ασθενείς στους οποίους αποκλείστηκε με μοριακή ανάλυση η HD (39,7%) χαρακτηρίζονταν από απουσία οικογενειακού ιστορικού και παρουσία μη τυπικών κλινικών συμπτωμάτων. Η εν λόγω ομάδα περιελάμβανε κυρίως γυναίκες, με μικρότερη ηλικία αίτησης για έλεγχο και μικρότερη ηλικία έναρξης της νόσου. Το σχετικό εύρημα επιβεβαιώνει προηγούμενη παρατήρηση,<sup>7</sup> στην οποία αναφέρεται απλή τάση ( $p=0,08$ ) για μεγαλύτερο αριθμό γυναικών. Στο παρόν δείγμα δεν ανιχνεύθηκαν διαφορές σε σύγκριση με πληθυσμούς άλλων μελετών, ως προς τον αριθμό των εκτεταμένων επαναλήψεων, τη σχέση μεταξύ ηλικίας έναρξης της νόσου και αριθμού CAGs ( $r^2=0,57$ ), το μέσο όρο ηλικίας αίτησης για

έλεγχο (50,8 έτη), το μέσο όρο ηλικίας έναρξης της νόσου (44 έτη) και το μέσο όρο αριθμού CAGs (42 CAGs).<sup>6-10</sup>

### Επιπολασμός

Ο επιπολασμός της HD στην Ελλάδα δεν έχει μελετηθεί. Ο εκτιμώμενος επιπολασμός του 5,4/100.000, αν και εμφανίζεται υποτιμημένος, δεν έχει βασικές διαφορές σε σχέση με άλλους ευρωπαϊκούς πληθυσμούς, εύρημα το οποίο δεν υποστηρίζει την υπόθεση για μικρότερη συχνότητα της νόσου HD στη νότια Ευρώπη.<sup>11</sup> Το ποσοστό των θετικών ελέγχων είναι ίσως υποτιμημένο, επειδή είναι σχεδόν βέβαιο ότι υπάρχουν άτομα που εμφάνισαν τα συμπτώματα της νόσου κατά τη διάρκεια της μελέτης, αλλά για διάφορους λόγους δεν ζήτησαν μοριακό έλεγχο ή τον αρνήθηκαν.

### Επίπτωση

Η επίπτωση στην Ελλάδα φαίνεται να κυμαίνεται μέσα στα όρια που έχουν αναφερθεί και σε μελέτες για άλλους Καυκάσιους πληθυσμούς.<sup>7,12,13</sup>

### Οικογενειακό ιστορικό

Από το σύνολο των 278 ασθενών που επιβεβαιώθηκαν μοριακά για HD, οι 16 (5,8%) είχαν αρνητικό οικογενειακό ιστορικό. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να εξηγηθεί με διάφορους τρόπους, όπως νέες μεταλλαγές, εσφαλμένη διάγνωση στα μέλη της οικογένειας, μη διεισδυτικότητα ή μη πατρότητα. Το εν λόγω ποσοστό είναι σημαντικά χαμηλότερο σε σχέση με το αντίστοιχο που αναφέρεται από ορισμένους ερευνητές,<sup>7,13</sup> αλλά παρόμοιο με εκείνο άλλων.<sup>14</sup> Οι αποκλίσεις αυτές οφείλονται πιθανότατα σε διαφορές που αφορούν στη λήψη του οικογενειακού ιστορικού.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι 16,9% των ασθενών μας με CAGn <36 είχαν θετικό οικογενειακό ιστορικό, ποσοστό σημαντικά υψηλότερο από εκείνο που αναφέρεται σε άλλες μελέτες.<sup>7,14</sup> Εάν έλειπε η μοριακή ανάλυση, η διάγνωση στους ασθενείς αυτούς θα ήταν προφανώς HD, δεδομένου ότι η θετική διάγνωση για τη νόσο βασίζεται στο συνδυασμό χαρακτηριστικού φαινότυπου με θετικό οικογενειακό ιστορικό.

Οι διαγνωστικοί έλεγχοι που ζητήθηκαν, στην πλειονότητά τους, προέρχονταν από νευρολόγους, ενώ μόνο ένα μικρό ποσοστό ζητήθηκε από ψυχιάτρους, παιδονευρολόγους και νευροχειρουργούς, ευρήματα παρόμοια με αυτά άλλων μελετών,<sup>8,14</sup> ενώ σε άλλες μελέτες οι παραπομπές έγιναν κυρίως από τους παθολόγους,<sup>7</sup> γεγονός που οφείλεται πιθανότατα στις διαφορές που εμφανίζει το σύστημα

υγείας μεταξύ των διαφόρων χωρών. Το ποσοστό των μοριακά διαγνωσμένων ασθενών για HD ήταν 60,3%, το οποίο είναι παρόμοιο με εκείνο που αναφέρεται από ορισμένους ερευνητές,<sup>7</sup> αλλά σημαντικά διαφορετικό έναντι αυτού που καταγράφεται από άλλους.<sup>15</sup> Ενδεχομένως, η διαφορά οφείλεται στο γεγονός ότι στο Ηνωμένο Βασίλειο η παραπομπή για μοριακό έλεγχο απαιτεί τεκμηρίωση με νευρολογικά σημεία και συμπτώματα από νευρολόγο.

Η ψευδώς θετική ομάδα χαρακτηρίζεται από την απουσία θετικού οικογενειακού ιστορικού για HD και την παρουσία μη τυπικής κλινικής εικόνας, με εξαίρεση 3 ασθενείς, οι οποίοι είχαν θετικό οικογενειακό ιστορικό και τυπική κλινική εικόνα HD (HD-like). Οι συγκεκριμένες παρατηρήσεις είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρουσες για τους κλινικούς ιατρούς και τις οικογένειες με HD, καθώς στις περιπτώσεις ασθενών με οικογενειακό ιστορικό και κλινική εικόνα HD η συνήθης διάγνωση είναι HD, και παράλληλα υπογραμμίζουν τη σημασία της μοριακής ανάλυσης για την επιβεβαίωση της διάγνωσης στις οικογένειες με HD.

### Προσυμπτωματικός έλεγχος

Στην ομάδα των προσυμπτωματικών ατόμων υπήρχαν περισσότερες γυναίκες απ' ό,τι άνδρες, γεγονός που θα μπορούσε να αντικατοπτρίζει το αυξημένο ενδιαφέρον των γυναικών για οικογενειακό προγραμματισμό.

Η πλειονότητα των ατόμων που παραπέμφθηκαν για προσυμπτωματικό έλεγχο είχαν πρότερο κίνδυνο νόσησης 50%, όπως παρατηρείται και σε άλλες μελέτες.<sup>8,15</sup> Αυτό οφείλεται πιθανότατα στο γεγονός ότι στην περίπτωση των συγγενών δευτέρου βαθμού προτιμάται ο έλεγχος ενός εγγύς συγγενούς. Σημαντικά μικρότερη ηλικία αίτησης για έλεγχο παρατηρήθηκε στην ομάδα κινδύνου νόσησης 25% σε σχέση με την ομάδα του 50%, ίσως λόγω της απουσίας ενός πρώτου βαθμού συγγενούς. Η ομάδα με άγνωστο κίνδυνο νόσησης εμφάνιζε σημαντικά μεγαλύτερη ηλικία αίτησης για έλεγχο σε σύγκριση με τις δύο προηγούμενες ομάδες, πιθανόν λόγω της έλλειψης πληροφοριών που αφορούν στον προσβεβλημένο ασθενή, καθώς και λόγω της τάσης να αποφευχθεί η ιδέα της μεταβίβασης της νόσου στον απόγονό τους.

### Προσελευσιμότητα

Η προσελευσιμότητα για προσυμπτωματικό έλεγχο για HD ήταν 8,6%, ποσοστό πολύ χαμηλότερο από εκείνο που αναφέρεται σε ορισμένες μελέτες,<sup>15-17</sup> αλλά υψηλότερο από το αντίστοιχο άλλων μελετών.<sup>18</sup> Η σχετικά χαμηλή προσελευσιμότητα που εμφανίζεται στην παρούσα μελέτη θα μπορούσε να ερμηνευτεί κατά ένα μέρος από τα

ιδιαίτερα γεωγραφικά χαρακτηριστικά της Ελλάδας, που δημιουργούν περιστασιακά δυσκολίες στη μετακίνηση από τις απομονωμένες περιοχές στην Αθήνα. Η μέθοδος υπολογισμού των ποσοστών επίπτωσης για την εκτίμηση του αναμενόμενου αριθμού των ατόμων σε κίνδυνο νόσησης, καθώς και το επίπεδο της έρευνας για την HD, θα μπορούσαν να αποτελούν άλλες ερμηνείες για το εν λόγω φαινόμενο. Η χαμηλή προσελευσιμότητα, ωστόσο, δεν μπορεί να ερμηνευτεί από το κόστος του ελέγχου, αφού αυτό καλύπτεται από τα ασφαλιστικά ταμεία, ούτε και από την απώλεια των περιστατικών που απευθύνονται για έλεγχο στα ιδιωτικά εργαστήρια ή σε διαγνωστικά κέντρα της αλλοδαπής. Συμπερασματικά, οι λόγοι για τους οποίους εμφανίζονται διαφορές μεταξύ των διαφόρων χωρών παραμένουν άγνωστοι.

### Προγεννητική διάγνωση

Η παρούσα μελέτη προστίθεται στα στοιχεία που προκύπτουν από την ευρωπαϊκή μελέτη συνεργασίας για τους προγεννητικούς ελέγχους,<sup>19</sup> αυξάνοντας τον αριθμό των συγκεκριμένων ελέγχων στην Ελλάδα σε 6. Ο μικρός αυτός αριθμός είναι παρόμοιος με εκείνους που παρατηρούνται σε άλλες χώρες.<sup>16,19</sup> Λόγοι που σχετίζονται πιθανόν με το συγκεκριμένο φαινόμενο ενδέχεται να είναι η ελπίδα για μελλοντική θεραπεία της HD (δεδομένου ότι η HD είναι μια νόσος που αφορά σε ενήλικες), ο φόβος του κοινωνικού στιγματισμού που αποτρέπει την κοινοποίηση της διάγνωσης για HD και επομένως η αδυναμία των απογόνων του ασθενούς να επιδιώξουν γενετική συμβουλή, οι θρησκευτικές πεποιθήσεις ενάντια στις αμβλώσεις, καθώς και η πλήρης άρνηση απόκτησης παιδιών. Παρά το γεγονός ότι το παρόν δείγμα είναι μικρό, δεν υπάρχει κάποια ένδειξη συσχέτισμού μεταξύ της απόφασης για προγεννητικό έλεγχο και του εκπαιδευτικού, κοινωνικού ή οικονομικού επιπέδου των μελλοντικών γονέων.

### Γεωγραφική κατανομή

Η παρατήρηση της εμφάνισης γεωγραφικών εστιών HD στην Ελλάδα δεν αποτελεί έκπληξη, δεδομένης της σχετικής γενετικής απομόνωσης του πληθυσμού. Η Μάνη γειτνιάζει με τη Μεσσηνία και είναι μια μικρή, αραιοκατοικημένη και ορεινή περιοχή, με τα χαρακτηριστικά μιας απομονωμένης κοινωνίας. Από τα αρχαία χρόνια ακόμη, η Μάνη διατηρεί στενούς δεσμούς τόσο με τη Μεσσηνία όσο και με την Κρήτη. Η Κρήτη, από την άλλη πλευρά, επικοινωνούσε στο παρελθόν με την υπόλοιπη Ελλάδα, κυρίως μέσω των νησιών των Κυκλάδων. Η πολιτιστική και εμπορική αυτή συναλλαγή θα μπορούσε να ερμηνεύσει την παρουσία των εν λόγω εστιών.

Συμπερασματικά, τα βασικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα της HD στην Ελλάδα δεν διαφέρουν σημαντικά από εκείνα άλλων ευρωπαϊκών χωρών. Ωστόσο, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, που χρήζουν ιδιαίτερης προσοχής, είναι η μεγάλη συμβολή του οικογενειακού ιστορικού στη διάγνωση της HD, η χαμηλή προσελευσιμότητα για προσυμπτωματική

διάγνωση, ο μικρός αριθμός προγεννητικών ελέγχων και η παρουσία των γεωγραφικών εστιών με HD. Τα στοιχεία αυτά θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν στο σχεδιασμό ενός αποτελεσματικού προγράμματος αντιμετώπισης και πρόληψης της χορείας του Huntington και στην καλύτερη οργάνωση του Εθνικού Συστήματος Υγείας στην Ελλάδα.

## ABSTRACT

### Huntington's disease. A genetic and epidemiological study in the Greek population

A. KLADI, G. KARADIMA, E. VASSOS, N. KALFAKIS, D. VASSILOPOULOS, M. PANAS

Neurogenetics Unit, Department of Neurology, "Eginition" Hospital, University of Athens, Athens, Greece

*Archives of Hellenic Medicine* 2011, 28(6):785–793

**OBJECTIVE** Huntington's disease (HD) is a progressive autosomal dominant neurodegenerative disorder, characterized by choreic movements, cognitive decline and psychiatric disturbances. The mutation responsible for the disease is an unstable expansion of a trinucleotide CAG repeat in the first exon of the *HHT* gene, located on chromosome 4q16.3. A large scale prospective genetic and epidemiological study of HD was carried out in Greece between January 1995 and December 2008, the aims of which were to (a) determine the demographic, clinical and epidemiological features of HD in Greece, and (b) evaluate the characteristics, outcome and uptake of the molecular analysis testing for HD performed in Greece from 1995 to 2008. **METHOD** Diagnostic testing was carried out in 717 individuals, including 461 symptomatic patients and 256 who were subjected to pre-symptomatic testing. The methodology included clinical evaluation of all the participants, molecular genetic analysis (DNA analysis) for the detection of CAG repeats in the *HTT* and *ATN1* genes and statistical analysis of the results. **RESULTS** The diagnosis of HD with a CAG expansion  $\geq 36$  was confirmed in 278 symptomatic individuals. The prevalence of HD in Greece was estimated at approximately 5.4:100,000 and the mean minimum incidence was estimated at 2.2 to 4.4 per million per year. The molecular diagnosis of HD was confirmed in the majority of patients (84.4%) from whom samples were sent for confirmation. The false-positive cases (15.6%) were characterized by the absence of a family history of HD and the presence of an atypical clinical picture. The uptake of predictive testing for HD was very low (8.6%). Prenatal testing was requested in the case of six pregnancies. **CONCLUSIONS** The findings of this study do not differ significantly from those of similar studies in other European countries, despite the relative genetic isolation of the Greek population. Of interest is the identification of high prevalence clusters of HD in Greece.

**Key words:** Epidemiology, Greece, Huntington's disease, Neurogenetics, Population

## Βιβλιογραφία

1. ANONYMOUS. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. The Huntington's Disease Collaborative Research Group. *Cell* 1993, 72:971–983
2. VASSILOPOULOS D, SCARPALEZOS S. Caractères génétiques de la population hellénique. *Arch Union Med Balcanique* 1980, 18:295–296
3. WARNER JP, BARRON LH, BROCK DJ. A new polymerase chain reaction (PCR) assay for the trinucleotide repeat that is unstable and expanded on Huntington's disease chromosomes. *Mol Cell Probes* 1993, 7:235–239
4. VUILLAUME I, SCHRAEN S, ROUSSEAU J, SABLONNIÈRE B. Simple nonisotopic assays for detection of (CAG) $n$  repeats expansions associated with seven neurodegenerative disorders. *Diagn Mol Pathol* 1998, 7:174–179
5. ANONYMOUS. ACMG/ASHG statement. Laboratory guidelines for Huntington disease genetic testing. The American College of Medical Genetics/American Society of Human Genetics Huntington Disease Genetic Testing Working Group. *Am J Hum Genet* 1998, 62:1243–1247
6. LACCONE F, ENGEL U, HOLINSKI-FEDER E, WEIGELL-WEBER M, MARCZINEK K, NOLTE D ET AL. DNA analysis of Huntington's disease: Five years of experience in Germany, Austria, and Switzerland. *Neurology* 1999, 53:801–806
7. ALMQVIST EW, ELTERMAN DS, MACLEOD PM, HAYDEN MR. High incidence rate and absent family histories in one quarter of



- patients newly diagnosed with Huntington disease in British Columbia. *Clin Genet* 2001, 60:198–205
8. COSTA MC, MAGALHÃES P, FERREIRINHA F, GUIMARÃES L, JANUÁRIO C, GASPAR I ET AL. Molecular diagnosis of Huntington disease in Portugal: Implications for genetic counselling and clinical practice. *Eur J Hum Genet* 2003, 11:872–878
  9. DUYAO M, AMBROSE C, MYERS R, NOVELLETTA A, PERSICHETTI F, FRONTALI M ET AL. Trinucleotide repeat length instability and age of onset in Huntington's disease. *Nat Genet* 1993, 4:387–392
  10. SNELL RG, MACMILLAN JC, CHEADLE JP, FENTON I, LAZAROU LP, DAVIES P ET AL. Relationship between trinucleotide repeat expansion and phenotypic variation in Huntington's disease. *Nat Genet* 1993, 4:393–397
  11. HARPER PS. The epidemiology of Huntington's disease. *Hum Genet* 1992, 89:365–376
  12. KOKMEN E, OZEKMEKÇI FS, BEARD CM, O'BRIEN PC, KURLAND LT. Incidence and prevalence of Huntington's disease in Olmsted County, Minnesota (1950 through 1989). *Arch Neurol* 1994, 51:696–698
  13. RAMOS-ARROYO MA, MORENO S, VALIENTE A. Incidence and mutation rates of Huntington's disease in Spain: Experience of 9 years of direct genetic testing. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005, 76:337–342
  14. SIESLING S, VEGTER-VAN DE VLIS M, LOSEKOOT M, BELFROID RD, MAAT-KIEVIT JA, KREMER HP ET AL. Family history and DNA analysis in patients with suspected Huntington's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000, 69:54–59
  15. HARPER PS, LIM C, CRAUFURD D. Ten years of presymptomatic testing for Huntington's disease: The experience of the UK Huntington's Disease Prediction Consortium. *J Med Genet* 2000, 37:567–571
  16. CREIGHTON S, ALMQVIST EW, MACGREGOR D, FERNANDEZ B, HOGG H, BEIS J ET AL. Predictive, prenatal and diagnostic genetic testing for Huntington's disease: The experience in Canada from 1987 to 2000. *Clin Genet* 2003, 63:462–475
  17. MAAT-KIEVIT A, VEGTER-VAN DER VLIS M, ZOETEWEIJ M, LOSEKOOT M, VAN HAERINGEN A, ROOS R. Paradox of a better test for Huntington's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000, 69:579–583
  18. GOIZET C, LESCA G, DÜRR A; FRENCH GROUP FOR PRESYMPTOMATIC TESTING IN NEUROGENETIC DISORDERS. Presymptomatic testing in Huntington's disease and autosomal dominant cerebellar ataxias. *Neurology* 2002, 59:1330–1336
  19. SIMPSON SA, ZOETEWEIJ MW, NYS K, HARPER P, DÜRR A, JACOPINI G ET AL. Prenatal testing for Huntington's disease: A European collaborative study. *Eur J Hum Genet* 2002, 10:689–693
- Corresponding author:*  
M. Panas, Neurogenetics Unit, Department of Neurology, "Eginition" Hospital, University of Athens, 74 Vassilisis Sophias Ave., GR-115 28 Athens, Greece  
e-mail: mpanas@med.uoa.gr