



Δράση «Εμβληματικές δράσεις σε διαθεματικές επιστημονικές περιοχές με ειδικό ενδιαφέρον για την σύνδεση με τον παραγωγικό ιστό» ID 16618

Εθνικό δίκτυο έρευνας για την ανάδειξη της γενετικής βάσης των νευροεκφυλιστικών νόσων Alzheimer και Parkinson, την ανίχνευση αξιόπιστων βιοδεικτών και την ανάπτυξη καινοτόμων υπολογιστικών τεχνολογιών και θεραπευτικών στρατηγικών στη βάση της ιατρικής ακριβείας (BRAIN PRECISION, TAEDR-0535850)

ΤΙΤΛΟΣ ΠΑΡΑΔΟΤΕΟΥ: Γενετικοί παράγοντες των νόσων των Alzheimer και Parkinson

ΕΝΟΤΗΤΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ 3: Βιοχημικός και μοριακός χαρακτηρισμός του βιολογικού υλικού με στόχο την ανάδειξη της γενετικής βάσης των νευροεκφυλιστικών νόσων Alzheimer και Parkinson.

ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΟΜΑΔΑ (ΦΟΡΕΑΣ): ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΔΕΔΟΥΣΗΣ (ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ)



ΕΝΟΤΗΤΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ 3: ΠΑΡΑΔΟΤΕΟ

Έκθεση με τίτλο: “Γενετικοί παράγοντες των νόσων των Alzheimer και Parkinson”

Ερευνητική ομάδα:

Γ. Δεδούσης, Ι.-Π. Καλαφάτη, Ε. Κατσαρέλη, Κ. Κορρέ, Μ. Κυβετού

1. Εισαγωγή

Η γενετική προδιάθεση αποτελεί θεμελιώδη συνιστώσα του κινδύνου εμφάνισης των νευροεκφυλιστικών νόσων Alzheimer (AD) και Parkinson (PD), συμβάλλοντας τόσο στην έναρξη όσο και στην εξέλιξη των παθοφυσιολογικών διεργασιών που χαρακτηρίζουν τα νοσήματα αυτά. Τα τελευταία χρόνια, μεγάλες μελέτες συσχέτισης σε επίπεδο γονιδιώματος (GWAS) έχουν αναδείξει εκατοντάδες κοινές γενετικές παραλλαγές με μικρές μεμονωμένες επιδράσεις, οι οποίες αθροιστικά μπορούν να συνοψιστούν σε πολυγονιδιακά σκορ κινδύνου (Polygenic Risk Scores, PRS). Τα PRS δεν λειτουργούν ως διαγνωστικά εργαλεία, αλλά ως δείκτες «σχετικού κινδύνου» που αποτυπώνουν τη συνολική γενετική επιβάρυνση ενός ατόμου και μπορούν να υποστηρίξουν την έγκαιρη αναγνώριση υπο-ομάδων αυξημένου κινδύνου, ιδιαίτερα όταν συνδυάζονται με κλινικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες.

Στο Παραδοτέο 3.4 παρουσιάζεται η διερεύνηση της συμβολής της γενετικής προδιάθεσης στην AD και την PD με αξιοποίηση πολυγονιδιακών αλγορίθμων/σκορ που έχουν αναπτυχθεί και αξιολογηθεί σε μεγάλους πληθυσμούς. Για τη νόσο Alzheimer εφαρμόστηκε ο πολυγονιδιακός αλγόριθμος πρόγνωσης της κοινοπραξίας VEGF στα δεδομένα της UK Biobank και σε ελληνικό προοπτικό δείγμα, με σκοπό την εκτίμηση της συσχέτισής του με την παρουσία νόσου και την αξιολόγηση της διακριτικής του ικανότητας. Για τη νόσο Parkinson αξιοποιήθηκαν διαθέσιμα

PRS της UK Biobank, ενώ για εξωτερική επαλήθευση επιλέχθηκε ένα αντίστοιχο σκορ από το PGS Catalog, με στόχο τη μεγιστοποίηση της συγκρισιμότητας και της δυνατότητας μεταφοράς των ευρημάτων στον ελληνικό πληθυσμό.

2. Μεθοδολογία

Πέραν των παραγόντων τρόπου ζωής, διερευνήθηκε ο ρόλος της γενετικής προδιάθεσης στον κίνδυνο εμφάνισης της AD, μέσω της εφαρμογής του πολυγονιδιακού αλγορίθμου πρόγνωσης που έχει προταθεί από την κοινοπραξία VEGF (Petrelis AM, Stathopoulou MG, Kafyra M, et al Aging (Albany NY). 2022). Ο αλγόριθμος αυτός βασίζεται σε γενετικές παραλλαγές που έχουν αναγνωριστεί μέσω μεγάλων μελετών συσχέτισης σε επίπεδο γονιδιώματος (GWAS) και έχει αναπτυχθεί αρχικά σε ανεξάρτητους ευρωπαϊκούς και αμερικανικούς πληθυσμούς. Στο πλαίσιο της παρούσας ανάλυσης, ο αλγόριθμος VEGF εφαρμόστηκε στα γενετικά δεδομένα της UK Biobank καθώς και της ελληνικής μελέτης για την AD. Στις αναλύσεις μας το PRS αντιμετωπίστηκε ως συνεχής μεταβλητή και τυποποιήθηκε (z-score) ώστε οι εκτιμήσεις να είναι συγκρίσιμες, ενώ εξετάσαμε την αλληλεπίδρασή του με το σταθμισμένο Lifestyle Risk Score (wLRS) για να αξιολογήσουμε κατά πόσο η επίδραση του τρόπου ζωής/συμπεριφορών στην πιθανότητα PD διαφοροποιείται ανάλογα με το επίπεδο γενετικού κινδύνου (και αντίστροφα), με προσαρμογή για βασικούς συγχυτικούς παράγοντες.

Το πολυγονιδιακό σκορ κινδύνου (Polygenic Risk Score, PRS) για τη νόσο Πάρκινσον που χρησιμοποιήθηκε προέρχεται από την UK Biobank και αντιστοιχεί στο πεδίο 26261 (Enhanced PRS for Parkinson's disease). Πρόκειται για έναν συνεχόμενο δείκτη γενετικής προδιάθεσης που συνοψίζει τη συνδυαστική επίδραση πολλών κοινών γενετικών παραλλαγών σε ένα ενιαίο σκορ «σχετικού κινδύνου». Σε αντίθεση με τα “standard” PRS που βασίζονται αποκλειστικά σε εξωτερικά GWAS, το συγκεκριμένο Enhanced PRS έχει αναπτυχθεί/βελτιστοποιηθεί με συνδυασμό εξωτερικών δεδομένων (GWAS) και εσωτερικών δεδομένων της UK Biobank, και η απόδοσή του αξιολογείται σε ξεχωριστό UKB υποσύνολο (“testing” set). Στις αναλύσεις μας το PRS αντιμετωπίστηκε ως συνεχής μεταβλητή και τυποποιήθηκε (z-score) ώστε οι εκτιμήσεις να είναι συγκρίσιμες. Για το συγκεκριμένο PRS δεν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα όσον αφορά τα SNPs και τα weights τους ώστε να γίνει επαλήθευση στον ελληνικό πληθυσμό. Για τον λόγο αυτό, επιλέχθηκε το PGS000903 (<https://www.pgscatalog.org/score/PGS000903/>), ένα πολυγονιδιακό σκορ κινδύνου που αναπτύχθηκε χρησιμοποιώντας μεγάλο πλήθος δεδομένων

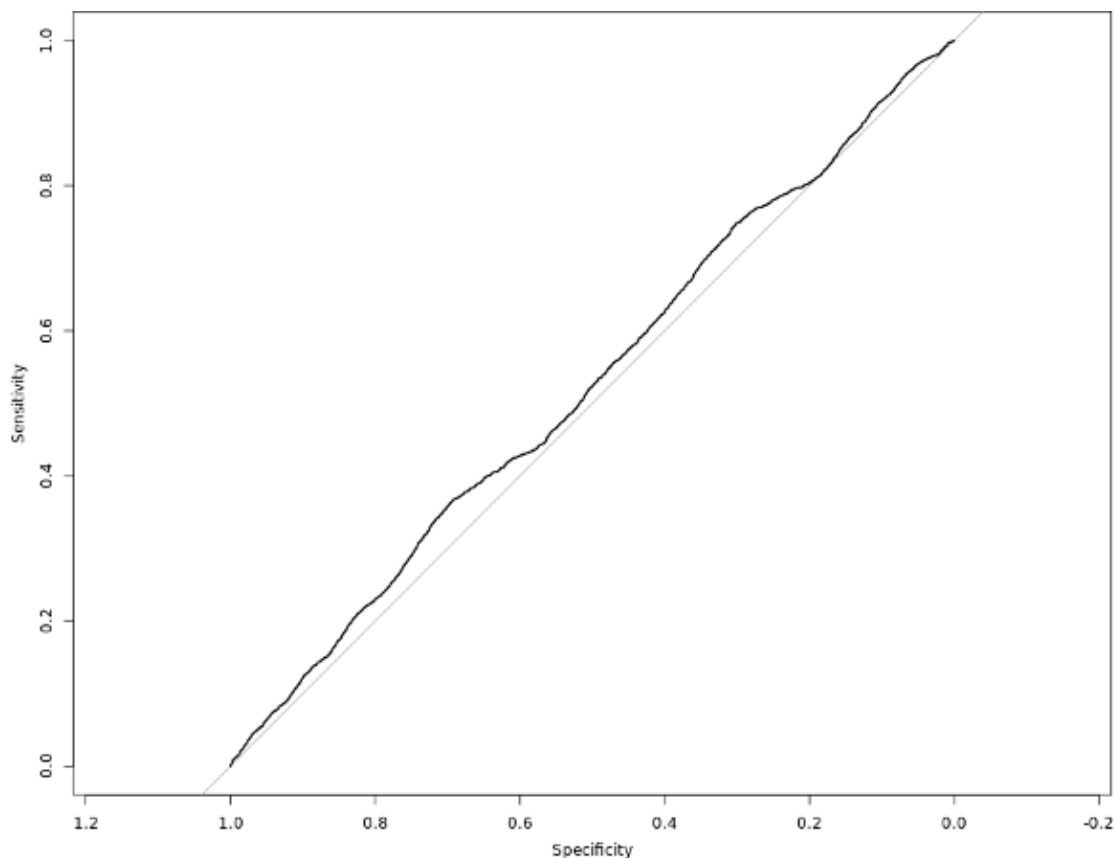
Ευρωπαϊκών μελετών, συμπεριλαμβανομένης της UKBB, προσεγγίζοντας σημαντικά με αυτό τον τρόπο το PRS που επιλέχθηκε για τα δεδομένα της UKBB.

Στις ελληνικές μελέτες αξιοποιήθηκαν τα ήδη διαθέσιμα γενετικά δεδομένα ενώ πραγματοποιήθηκαν εκ νέου απομονώσεις DNA και γονοτυπίσεις για τα άτομα για τα οποία δεν είχαμε διαθέσιμα γενετικά δεδομένα. Τα προϋπάρχοντα και τα νέα DNA δείγματα απομονώθηκαν από λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος. Για την γονοτύπηση των δειγμάτων DNA χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικές πλατφόρμες μικροσυστοιχιών στο σύνολο των μελετών: η HumanOmniExpress-12v1 και η HumanExome-12v1_A. Στα γονοτυπημένα δεδομένα εφαρμόστηκε ποιοτικός έλεγχος και HRC imputation, εξασφαλίζοντας υψηλή πυκνότητα και κάλυψη κοινού γενετικού πολυμορφισμού σε όλο το γονιδίωμα. Η διαθεσιμότητα imputed γονοτύπων για μεγάλο πλήθος SNPs επιτρέπει τον αξιόπιστο υπολογισμό πολυγονιδιακών σκορ κινδύνου (PRS), με εφαρμογή των αντίστοιχων SNP-weights από εξωτερικά, καλά τεκμηριωμένα μοντέλα/PGS, και διευκολύνει την εξωτερική επαλήθευση γενετικών ευρημάτων σε ελληνικούς πληθυσμούς με συγκρίσιμη μεθοδολογική προσέγγιση.

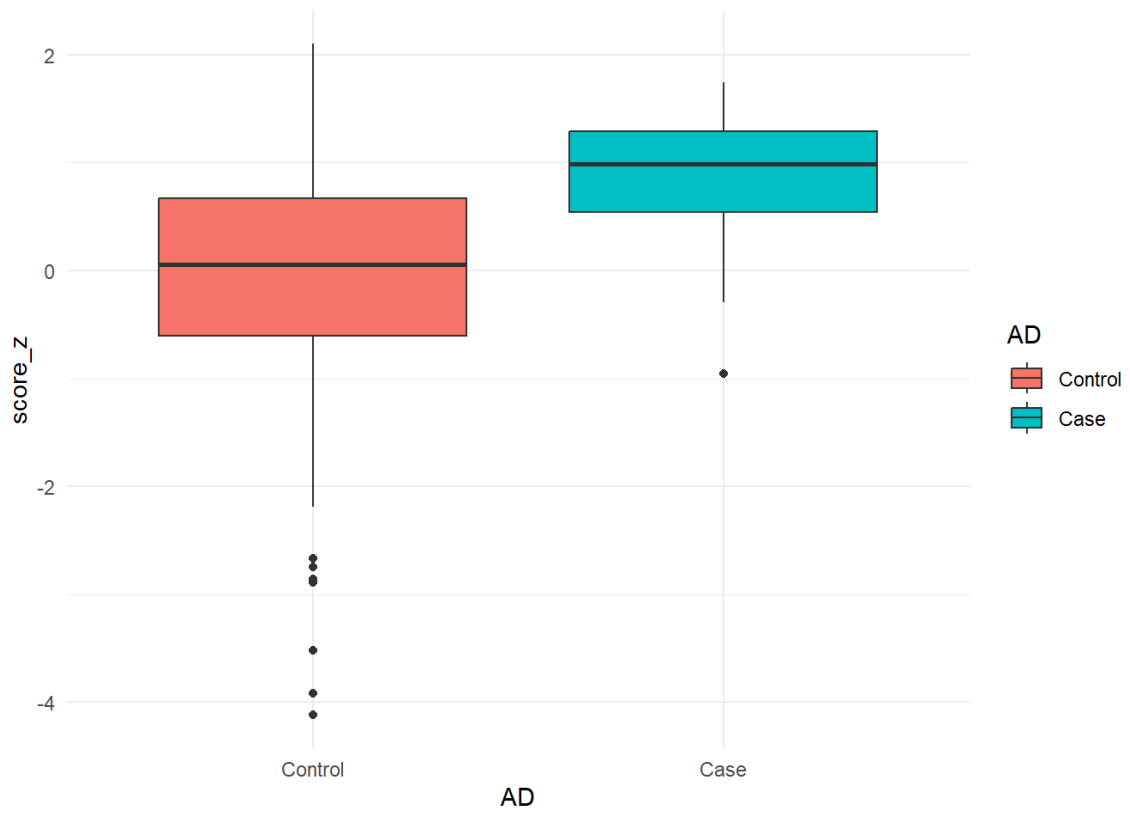
3. Αποτελέσματα

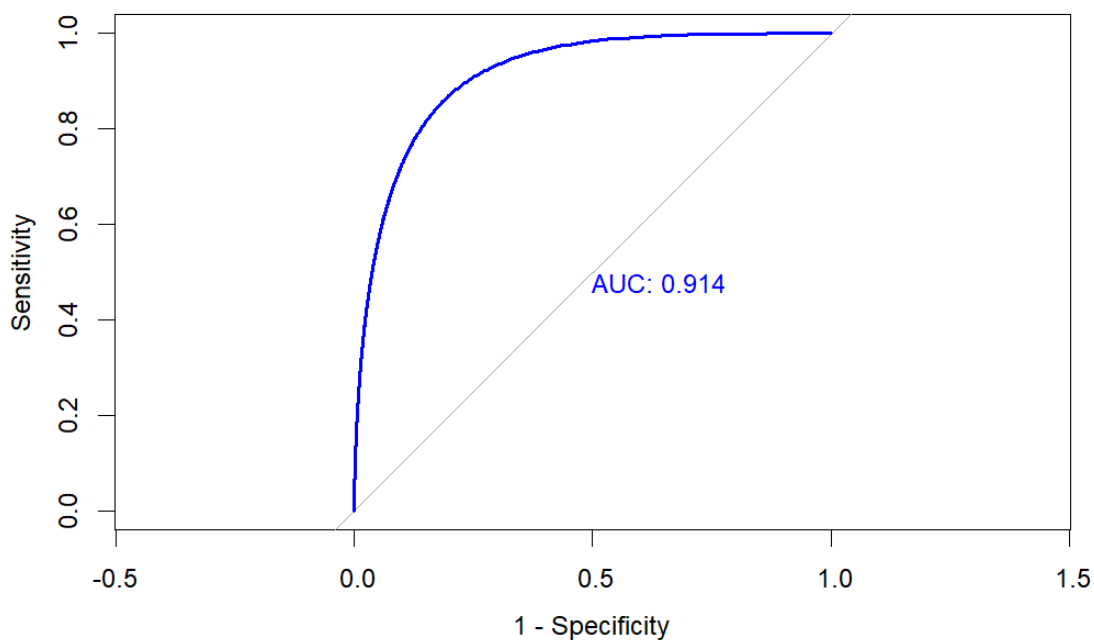
3.1 Νόσος Alzheimer (UKBB)

Το γενετικό σκορ VEGF συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με τον κίνδυνο εμφάνισης της AD στην UKBB. Συγκεκριμένα, ανά μία τυπική απόκλιση αύξησης του VEGF σκορ παρατηρήθηκε $OR = 1.097$ (95% CI: 1.058–1.137). Η διακριτική ικανότητα του γενετικού αλγορίθμου ήταν περιορισμένη, όπως αναμένεται για πολυγονιδιακά σκορ σε σύνθετα νοσήματα, με $AUC = 0.525$ (95% CI: 0.515–0.536). Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνουν ότι η γενετική προδιάθεση, όπως αποτυπώνεται από τον VEGF αλγόριθμο, συμβάλλει μεν στον κίνδυνο εμφάνισης της AD, αλλά με σχετικά μικρό μέγεθος επίδρασης στα δεδομένα αυτά.



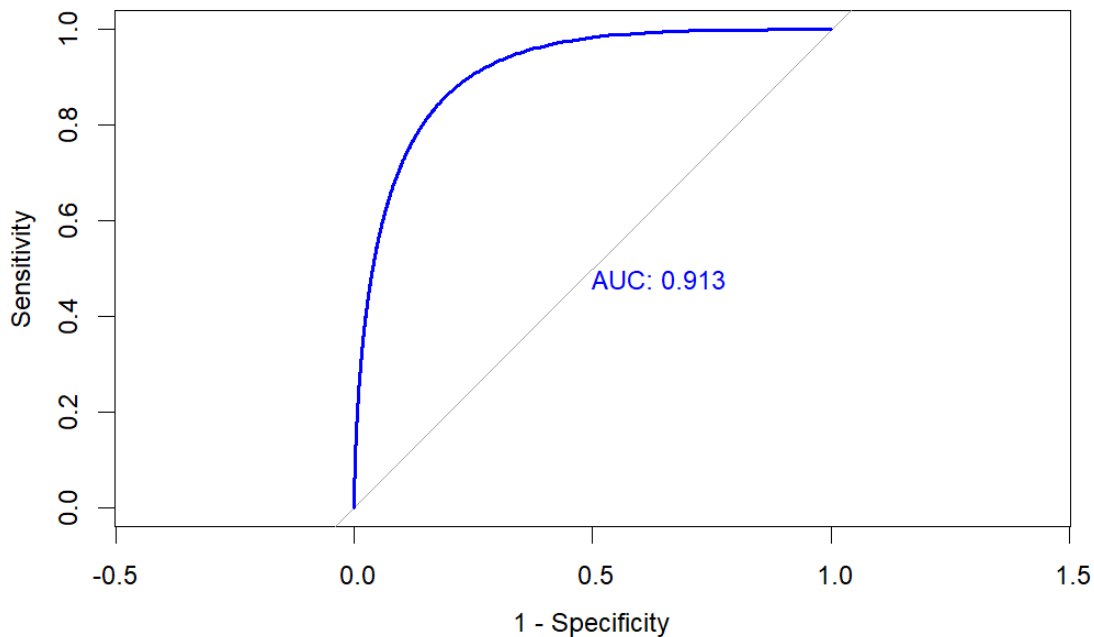
Στον ελληνικό πληθυσμό, οι ασθενείς με AD εμφάνιζαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο μέσο VEGF score (0.79 vs -0.03, $p=0.0007$). Η συσχέτιση του σκορ με την παρουσία νόσου στο follow-up ήταν θετική και στατιστικά σημαντική ($\beta=1.14$, $p=0.002$), ωστόσο δεν παρέμεινε στατιστικά σημαντική μετά τη διόρθωση για την ηλικία, το φύλο και τον ΔΜΣ στο baseline των εθελοντών. Στον ελληνικό πληθυσμό, ο πολυγονιδιακός αλγόριθμος VEGF παρουσίασε πολύ υψηλή διακριτική ικανότητα για τη διάκριση ασθενών με Alzheimer από μάρτυρες, με $AUC = 0.914$, υποδεικνύοντας εξαιρετική απόδοση ταξινόμησης στο συγκεκριμένο δείγμα. Το εύρημα αυτό ενισχύει τη σημασία της γενετικής επιβάρυνσης στην AD και δείχνει ότι, στο πλαίσιο των ελληνικών δεδομένων, το γενετικό σκορ μπορεί να λειτουργήσει ως ιδιαίτερα ισχυρός δείκτης κινδύνου/ταξινόμησης. Παράλληλα, αν και το VEGF score συσχετίστηκε θετικά με την παρουσία νόσου, η στατιστική σημαντικότητα της συσχέτισης μετά από προσαρμογή για ηλικία, φύλο και ΔΜΣ θα πρέπει να ερμηνευθεί με προσοχή, καθώς η πολύ υψηλή AUC πιθανόν να αντανακλά και χαρακτηριστικά του δείγματος (π.χ. μέγεθος, κατανομή ηλικιών, πιθανή διαφοροποίηση περιστατικών/μαρτύρων), τα οποία απαιτούν περαιτέρω επιβεβαίωση σε μεγαλύτερα και ανεξάρτητα ελληνικά δείγματα.





3.2 Νόσος Parkinson (UKBB)

Στο ελληνικό δείγμα, εφαρμόστηκε λογιστική παλινδρόμηση με έκβαση την παρουσία νόσου Parkinson (PD) και κύριο προγνωστικό παράγοντα το τυποποιημένο πολυγονιδιακό σκορ zPGS000903, με προσαρμογή για ηλικία κατά την ένταξη, φύλο και ΔΜΣ στο baseline. Το zPGS000903 εμφάνισε θετική αλλά μη στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την PD ($\beta=0.434$, $SE=0.288$, $p=0.132$), υποδηλώνοντας τάση αύξησης του κινδύνου χωρίς επαρκή ισχύ για τεκμηρίωση στο συγκεκριμένο δείγμα. Αντίθετα, η ηλικία κατά την ένταξη συσχετίστηκε ισχυρά και στατιστικά σημαντικά με αυξημένη πιθανότητα PD ($\beta=0.188$, $SE=0.045$, $p=2.69 \times 10^{-5}$), ενώ ούτε το φύλο ($\beta=0.270$, $p=0.671$) ούτε ο ΔΜΣ ($\beta=-0.047$, $p=0.538$) σχετίστηκαν σημαντικά με την έκβαση. Η καμπύλη ROC για τη νόσο Parkinson δείχνει ότι το μοντέλο/σκορ που αξιολογήθηκε έχει πολύ υψηλή ικανότητα διάκρισης μεταξύ περιστατικών PD και μαρτύρων. Συγκεκριμένα, η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη (AUC) είναι 0.913, τιμή που αντιστοιχεί σε εξαιρετική διακριτική απόδοση (δηλαδή σημαντικά καλύτερη από την τυχαία ταξινόμηση, $AUC=0.5$). Η μορφή της καμπύλης, που πλησιάζει το άνω αριστερό τμήμα του διαγράμματος, υποδηλώνει ότι μπορεί να επιτευχθεί υψηλή ευαισθησία με σχετικά καλή ειδικότητα, ανάλογα με το επιλεγμένο κατώφλι ταξινόμησης.



4. Συμπεράσματα:

Συνολικά, το Παραδοτέο 3.4 ανέδειξε τη συμβολή της γενετικής προδιάθεσης στον κίνδυνο εμφάνισης Alzheimer και Parkinson, ενώ παράλληλα υπογράμμισε ότι η απόδοση των πολυγονιδιακών σκορ εξαρτάται σημαντικά από τον πληθυσμό εφαρμογής, το μέγεθος δείγματος και τη διαθεσιμότητα/ποιότητα των δεδομένων. Για τη νόσο Alzheimer, το VEGF γενετικό σκορ συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο στην UK Biobank (OR=1.10 ανά 1 SD) με περιορισμένη διακριτική ικανότητα, όπως αναμένεται για σύνθετα νοσήματα. Στον ελληνικό πληθυσμό, οι ασθενείς εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερο μέσο VEGF score και το σκορ παρουσίασε θετική συσχέτιση με την παρουσία νόσου, ωστόσο η συσχέτιση δεν διατηρήθηκε μετά από προσαρμογή για ηλικία, φύλο και ΔΜΣ, υποδεικνύοντας πιθανή επίδραση συγχυτικών παραγόντων και/ή περιορισμένη ισχύ στα προσαρμοσμένα μοντέλα.

Για τη νόσο Parkinson, η ανάλυση παλινδρόμησης στο ελληνικό δείγμα με το PGS000903 έδειξε θετική αλλά μη στατιστικά σημαντική συσχέτιση μετά από προσαρμογή, με την ηλικία να αναδεικνύεται ως ο ισχυρότερος παράγοντας κινδύνου. Παρ' όλα αυτά, η ROC ανάλυση ανέδειξε

πολύ υψηλή διακριτική ικανότητα στο ελληνικό δείγμα ($AUC=0.913$), υποστηρίζοντας ότι, στο συγκεκριμένο πλαίσιο, το γενετικό σήμα μπορεί να προσφέρει ισχυρή πληροφορία για τη διάκριση περιστατικών/μαρτύρων. Τα ευρήματα συνολικά ενισχύουν τη σημασία των γενετικών δεικτών ως συμπληρωματικών εργαλείων εκτίμησης κινδύνου, αλλά ταυτόχρονα αναδεικνύουν την ανάγκη για επιβεβαίωση σε μεγαλύτερα και ανεξάρτητα ελληνικά δείγματα, καθώς και για προσεκτική εξωτερική επικύρωση των PRS, ώστε να διασφαλιστεί η αξιοπιστία και η γενικευσιμότητα των συμπερασμάτων.