



**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: Αλληλεπιδράσεις γενετικών παραγόντων-τρόπου ζωής στις νόσους 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: “Αλληλεπιδράσεις γενετικών παραγόντων-τρόπου ζωής στις νόσους των Alzheimer και Parkinson”

Ερευνητική ομάδα:

Γ. Δεδούσης, Ι.-Π. Καλαφάτη, Δ. Μπρέκου, Μ. Κυβετού

#### 1. Εισαγωγή

Οι νευροεκφυλιστικές νόσοι Alzheimer (AD) και Parkinson (PD) προκύπτουν από πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων, με αποτέλεσμα ο κίνδυνος εμφάνισης και η πορεία τους να διαφέρει σημαντικά μεταξύ ατόμων. Παρότι η γενετική προδιάθεση (όπως αποτυπώνεται από πολυγονιδιακά σκορ κινδύνου) και ο τρόπος ζωής (διατροφή, φυσική δραστηριότητα, ύπνος, κάπνισμα) έχουν αναδειχθεί ως ανεξάρτητοι παράγοντες που σχετίζονται με τις νόσους, παραμένει κρίσιμο ερώτημα κατά πόσο οι συμπεριφορές και οι εκθέσεις του τρόπου ζωής μπορούν να ενισχύσουν ή να αμβλύνουν την επίδραση του γενετικού κινδύνου. Η διερεύνηση τέτοιων αλληλεπιδράσεων γονιδίων-περιβάλλοντος είναι ιδιαίτερα σημαντική, διότι μπορεί να αποκαλύψει υπο-ομάδες υψηλού κινδύνου, να βελτιώσει τα μοντέλα πρόγνωσης και, κυρίως, να υποστηρίξει πιο στοχευμένες και εξατομικευμένες στρατηγικές πρόληψης.

Στο Παραδοτέο 3.5, “χτίζοντας” πάνω στα αποτελέσματα των παραδοτέων 3.3 & 3.4, εξετάζεται εάν και σε ποιο βαθμό ο τρόπος ζωής τροποποιεί την επίδραση της γενετικής προδιάθεσης στον κίνδυνο εμφάνισης AD και PD. Για τον σκοπό αυτό αξιοποιήθηκαν δεδομένα της UK Biobank, όπου υπάρχει επαρκές μέγεθος δείγματος για την ανίχνευση λεπτών φαινομένων

αλληλεπίδρασης, καθώς και δεδομένα από ελληνικές προοπτικές μελέτες για επιπλέον αξιολόγηση. Παράλληλα, στο πλαίσιο διερευνητικών αναλύσεων, εξετάστηκε η πιθανή σύνδεση τρόπου ζωής και γενετικών δεδομένων με επιλεγμένους πρωτεϊνικούς βιοδείκτες ορού, ως πιθανούς ενδιάμεσους φαινότυπους.

## 2. Μεθοδολογία

Για την αξιολόγηση αλληλεπιδράσεων μεταξύ γενετικής προδιάθεσης και τρόπου ζωής εφαρμόστηκαν μοντέλα λογιστικής παλινδρόμησης (logistic regression) με εξαρτημένη μεταβλητή την παρουσία/απουσία νόσου (AD ή PD) και κύριους όρους τα τυποποιημένα (z-score) γενετικά σκορ και το σταθμισμένο σκορ τρόπου ζωής (wLRS), καθώς και τον όρο αλληλεπίδρασης τους ( $\text{genetic\_score} \times \text{wLRS}$ ). Ειδικότερα, για την AD χρησιμοποιήθηκε το VEGF genetic score, ενώ για την PD χρησιμοποιήθηκε PRS για Parkinson (τυποποιημένο). Τα μοντέλα προσαρμόστηκαν για βασικούς συγχυτικούς παράγοντες (τουλάχιστον ηλικία και φύλο, και όπου απαιτείται/είναι διαθέσιμο ΔΜΣ), ώστε να εκτιμηθεί (i) η ανεξάρτητη επίδραση της γενετικής προδιάθεσης, (ii) η ανεξάρτητη επίδραση του τρόπου ζωής, και (iii) η στατιστική σημαντικότητα του όρου αλληλεπίδρασης ως ένδειξη τροποποίησης του γενετικού κινδύνου από τον τρόπο ζωής (ή το αντίστροφο). Τα αποτελέσματα αναφέρθηκαν ως εκτιμήσεις επίδρασης ( $\beta$  ή/και OR) με αντίστοιχα p-values και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης, με κύριο αποτέλεσμα ενδιαφέροντος την τιμή p του interaction term. Συμπληρωματικά, σε δείγματα ορού από follow-up της HELIC πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις πρωτεϊνών με ELISA (CD33, CD200, DPEP1, MAPT, GPNMB), οι τιμές λογαριθμήθηκαν για προσέγγιση κανονικότητας και εξετάστηκαν συσχετίσεις του wLRS και/ή των όρων αλληλεπίδρασης με τα επίπεδα των πρωτεϊνών σε διερευνητικό πλαίσιο.

### Μέτρηση βιοδεικτών

Στα πλαίσια του έργου, εκτιμήθηκαν τα επίπεδα των πρωτεϊνών CD33, CD200, DPEP1, MAPT και GPNMB σε εθελοντές των μελετών HELIC οι οποίοι συμμετείχαν στις νέες δειγματοληψίες στο πλαίσιο του επανελέγχου, μέσω της τεχνικής ELISA. Οι παραπάνω πρωτεΐνες χρησιμοποιήθηκαν ως ενδιάμεσοι φαινότυποι στην επαλήθευση των σκορ τρόπου ζωής, καθώς είχαν αναδειχθεί ως βιοδείκτες των νόσων των Alzheimer και Parkinson στις αρχικές μελέτες

HELIC. Οι μετρήσεις των πρωτεϊνών CD33, CD200, DPEP1, MAPT και GPNMB πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση της τεχνικής ELISA και συγκεκριμένων των kit #EH3782, #EH0077, #EH2030, #EH2498, καθώς και #HUEB2374 της Assay Genie, αντίστοιχα. Στη συνέχεια, οι τιμές τους λογαριθμήθηκαν ώστε να κανονικοποιηθεί η κατανομή τους και ελέγχθηκε η συσχέτιση του τρόπου ζωής με τα επίπεδα των πρωτεϊνών, για να εξεταστεί κατά πόσο αυτοί οι βιοδείκτες θα μπορούσαν να αποτελέσουν ενδιάμεσους φαινότυπους των νευροεκφυλιστικών νοσημάτων.

### 3. Αποτελέσματα

#### 3.1 Νόσος Alzheimer (UKBB)

Στο παρόν, διερευνήθηκε κατά πόσο ο τρόπος ζωής των συμμετεχόντων της UKBB τροποποιεί τη γενετική προδιάθεση για τη νόσο Alzheimer, μέσω της εξέτασης αλληλεπιδράσεων μεταξύ του γενετικού σκορ VEGF και του σταθμισμένου σκορ τρόπου ζωής (wLRS) (Παραδοτέα 3.3 & 3.4). Για τον σκοπό αυτό εφαρμόστηκαν μοντέλα λογιστικής παλινδρόμησης της μορφής:

$$AD \sim VEGF \text{ score } (z) \times wLRS + \text{ηλικία} + \text{φύλο}$$

Στα μοντέλα αλληλεπίδρασης παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές ανεξάρτητες επιδράσεις τόσο του γενετικού σκορ VEGF όσο και του σκορ τρόπου ζωής wLRS στον κίνδυνο εμφάνισης της AD. Συγκεκριμένα:

- Το wLRS συσχετίστηκε θετικά με τον κίνδυνο AD, ανεξάρτητα από το γενετικό υπόβαθρο (OR=0.18, p=4.38e-13).
- Το γενετικό σκορ VEGF διατήρησε τη συσχέτισή του με τη νόσο μετά την προσαρμογή για τον τρόπο ζωής (OR=0.13, p=< 2e-16).

Ωστόσο, ο όρος αλληλεπίδρασης μεταξύ VEGF σκορ και wLRS δεν ήταν στατιστικά σημαντικός (p = 0.68), υποδεικνύοντας ότι, στα δεδομένα της UK Biobank, ο τρόπος ζωής και η γενετική προδιάθεση δρουν κυρίως ανεξάρτητα ως προς τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου Alzheimer. Η απουσία στατιστικά σημαντικής αλληλεπίδρασης μπορεί να αντανακλά είτε πραγματική βιολογική ανεξαρτησία των δύο συνιστωσών είτε περιορισμένη ισχύ για την ανίχνευση λεπτών φαινομένων τροποποίησης του γενετικού κινδύνου από περιβαλλοντικούς παράγοντες.

### 3.2 Νόσος Parkinson (UKBB)

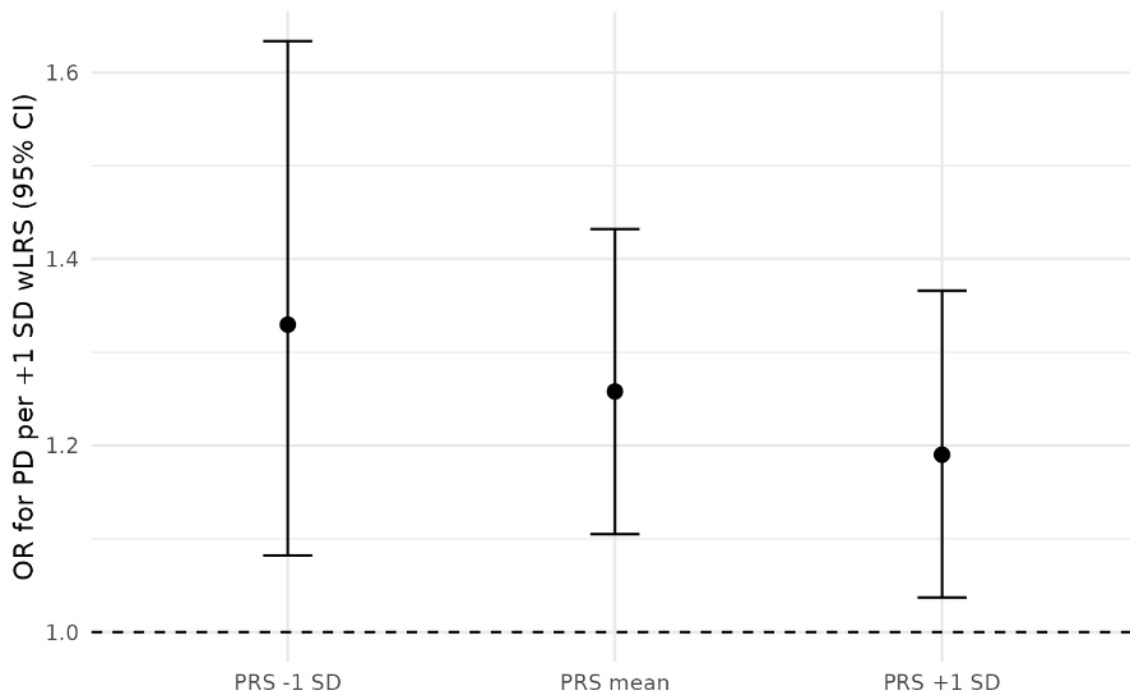
Ομοίως, εξετάστηκε κατά πόσο ο τρόπος ζωής τροποποιεί τη γενετική προδιάθεση για τη PD, μέσω της διερεύνησης αλληλεπιδράσεων μεταξύ του PRS-PD και του σταθμισμένου σκορ τρόπου ζωής (wLRS) στα δεδομένα της UKBB. Για τον σκοπό αυτό εφαρμόστηκαν μοντέλα λογιστικής παλινδρόμησης της μορφής:

$$PD \sim PRS-PD \times wLRS + \text{ηλικία} + \text{φύλο}$$

Στα μοντέλα αυτά παρατηρήθηκαν ανεξάρτητες επιδράσεις τόσο του γενετικού σκορ Parkinson όσο και του σκορ τρόπου ζωής wLRS στον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου. Συγκεκριμένα:

- Το wLRS συσχετίστηκε θετικά με τον κίνδυνο PD, ανεξάρτητα από το γενετικό υπόβαθρο (OR=0.22, p=0.000871).
- Το γενετικό σκορ Parkinson διατήρησε τη συσχέτισή του με τη νόσο μετά την προσαρμογή για τον τρόπο ζωής (OR=0.43, p=6.06e-12).

Ωστόσο, ο όρος αλληλεπίδρασης μεταξύ του γενετικού σκορ Parkinson και του wLRS δεν ήταν στατιστικά σημαντικός (p =0.36), υποδηλώνοντας ότι, στα δεδομένα της UK Biobank, ο τρόπος ζωής και η γενετική προδιάθεση για τη PD φαίνεται να δρουν κυρίως ανεξάρτητα ως προς τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου.



### 3.3 Επαλήθευση στις ελληνικές μελέτες

Η μελέτη της αλληλεπίδρασης στα δεδομένα των ελληνικών πληθυσμών, δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα για καμία από τις 2 νόσους, ούτε στα απλά μοντέλα ούτε κατόπιν διόρθωσης για συγχυτικούς παράγοντες ( $p > 0.05$ ). Όσον αφορά την αλληλεπίδραση γενετικών παραγόντων  $\times$  wLRS με τις πρωτεΐνες ορού, καμία δεν ήταν στατιστικά σημαντική ( $p \gg 0.05$ ), το οποίο είναι αναμενόμενο δεδομένου ότι η αρχική συσχέτιση των wLRSs με αυτές ήταν στατιστικά μη σημαντική.

## 4. Συμπεράσματα:

Συνολικά, τα αποτελέσματα του Παραδοτέου 3.5 υποστηρίζουν ότι τόσο η γενετική προδιάθεση όσο και ο τρόπος ζωής συνεισφέρουν ανεξάρτητα στον κίνδυνο εμφάνισης των νόσων Alzheimer και Parkinson. Στα δεδομένα της UK Biobank, οι κύριες επιδράσεις των γενετικών σκορ (VEGF για AD και PRS για PD) παρέμειναν στατιστικά σημαντικές μετά την προσαρμογή για το σκορ τρόπου ζωής, ενώ παράλληλα το wLRS συσχετίστηκε επίσης με την πιθανότητα νόσου ανεξάρτητα από το γενετικό υπόβαθρο. Ωστόσο, σε αμφότερες τις νόσους οι όροι αλληλεπίδρασης γενετικού σκορ  $\times$  wLRS δεν ήταν στατιστικά σημαντικοί, γεγονός που υποδηλώνει ότι, τουλάχιστον στο πλαίσιο των διαθέσιμων δεδομένων, ο τρόπος ζωής δεν φαίνεται να τροποποιεί ουσιαστικά την επίδραση της γενετικής προδιάθεσης (ούτε το αντίστροφο), αλλά οι δύο συνιστώσες δρουν κυρίως προσθετικά/ανεξάρτητα στον συνολικό κίνδυνο.

Στις ελληνικές προοπτικές μελέτες δεν εντοπίστηκαν στατιστικά σημαντικές αλληλεπιδράσεις για καμία από τις δύο νόσους, τόσο στα αδρά όσο και στα προσαρμοσμένα μοντέλα. Η απουσία αλληλεπίδρασης μπορεί να αντανάκλα πραγματική βιολογική ανεξαρτησία των δύο παραγόντων, ωστόσο είναι επίσης συμβατή με περιορισμένη στατιστική ισχύ λόγω μικρότερου μεγέθους δείγματος, χαμηλότερου αριθμού περιστατικών και πιθανής ετερογένειας στη μέτρηση εκθέσεων και εκβάσεων. Τέλος, οι διερευνητικές αναλύσεις σε πρωτεΐνες ορού δεν ανέδειξαν σημαντικές συσχετίσεις με τους όρους αλληλεπίδρασης ή/και τα σκορ, γεγονός που είναι αναμενόμενο δεδομένης της μη ισχυρής αρχικής συσχέτισης των wLRS με τους εξεταζόμενους βιοδείκτες. Συμπερασματικά, τα ευρήματα δείχνουν ότι η γενετική και οι συμπεριφορικοί παράγοντες συνεισφέρουν παράλληλα στον κίνδυνο AD και PD, χωρίς σαφή ένδειξη τροποποίησης του ενός από τον άλλον στα παρόντα δεδομένα, ενώ αναδεικνύεται η ανάγκη για μεγαλύτερα δείγματα και

πιο ισχυρά δεδομένα ώστε να διερευνηθούν με μεγαλύτερη ευαισθησία πιθανές λεπτές αλληλεπιδράσεις.