

ΑΡΘΡΟ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗΣ

Γενετική βάση της νόσου του Alzheimer

Χριστίνα Κανέλλια*, Νικόλαος Σκουλάς, Κωνσταντίνα Χριστοφόρου
Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, Σχολή Επιστημών Υγείας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η νόσος του Αλτσχάιμερ αποτελεί το συχνότερο είδος γεροντικής άνοιας, της οποίας ωστόσο η αιτία δεν έχει ακόμη προσδιοριστεί. Για αυτόν τον λόγο, προκύπτουν ερωτήματα σχετικά με το αν η συγκεκριμένη ασθένεια είναι απόρροια γενετικών παραγόντων. Η μελέτη του γενετικού υπόβαθρου της νόσου οδήγησε στην εύρεση γονιδίων και πολυμορφισμών που πιθανώς εμπλέκονται στον μηχανισμό εμφάνισής της. Στο πλαίσιο της ταυτοποίησης συγκεκριμένων γονιδίων, χρησιμοποιήθηκαν μέθοδοι και εργαλεία όπως οι μελέτες διασύνδεσης (linkage studies) προκειμένου να πραγματοποιηθεί «σάρωση» πολλαπλών γενετικών τόπων σε ολόκληρο το γονιδίωμα, καθώς και οι γονιδιωματικές μελέτες συσχέτισης (genome-wide association studies-GWAS) με σκοπό την αξιολόγηση μιας συλλογής γενετικών παραλλαγών στο γονιδίωμα. Ακόμη, μέσω της αλληλούχισης κωδικού γονιδιώματος (Whole Exome Sequencing-WES) πραγματοποιήθηκε αλληλούχιση όλων των γονιδίων που

κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Παρόλα αυτά, τα εργαλεία αυτά αδυνατούν να εντοπίσουν πολυμορφισμούς μικρότερης επικινδυνότητας αλλά εξίσου μεγάλης σημασίας για την εμφάνιση της νόσου. Την λύση σε αυτό το πρόβλημα έδωσε η ανάπτυξη βαθμών πολυγονιδιακής επικινδυνότητας (Polygenic Risk Scores-PRS) τα οποία περιλαμβάνουν το σύνολο των αλληλομόρφων όλων των γενετικών τόπων που σχετίζονται με τη νόσο. Από τις παραπάνω μεθόδους, προέκυψαν τα γονίδια υψηλής επικινδυνότητας PSEN1, PSEN2 και APP αλλά και το APOE, γονίδιο χαμηλότερου κινδύνου, το οποίο όμως απαντά στα περισσότερα περιστατικά. Τα εν λόγω ευρήματα οδήγησαν στην εξέλιξη της φαρμακογονιδιωματικής και της εξατομικευμένης ιατρικής για την αντιμετώπιση της νόσου, εκτός από την συμβατική φαρμακολογική προσέγγιση, δίνοντας επιπλέον εφόδια στους επιστήμονες στην προσπάθειά τους να αναχαιτίσουν την πορεία εξέλιξης της νόσου Αλτσχάιμερ.

ΛΕΞΕΙΣ ΕΥΡΕΤΗΡΙΟΥ: Νόσος Αλτσχάιμερ, βαθμοί πολυγονιδιακής επικινδυνότητας -PRS, γονιδιωματικές μελέτες συσχέτισης-GWAS, αλληλούχιση κωδικού γονιδιώματος

Εισαγωγή

Η γεροντική άνοια (dementia) χαρακτηρίζεται από βλάβη σε πολλές λειτουργίες του εγκεφάλου όπως η μνήμη, η σκέψη, ο προσανατολισμός, η κατανόηση και η κριτική ικανότητα. Η νόσος του Αλτσχάιμερ αποτελεί το πιο συχνό είδος γεροντικής άνοιας (60-70% των περιπτώσεων) και εκδηλώνεται, αρχικά, με ήπια συμπτώματα

και σταδιακά προκαλεί σοβαρή βλάβη στον εγκέφαλο με αποτέλεσμα την μείωση της νοητικής ικανότητας, μνήμης, σκέψης καθώς και ανικανότητα στην εκφορά λόγου, ιδιαίτερα σε άτομα άνω των 65 ετών. Σύμφωνα με εκτιμήσεις, η κληρονομικότητα στην νόσο του Αλτσχάιμερ αγγίζει το ποσοστό του 58-79% οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι οι γενετικοί παράγοντες παίζουν

* Αντεπιστέλλων Συγγραφέας

Πανεπιστήμιο Πατρών, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Φαρμακευτικής,
Πανεπιστημιούπολη, Ρίο, 26504, Πάτρα, Email: permed@upatras.gr

σημαντικό ρόλο στη νόσο αυτή και για αυτόν τον λόγο έχουν μελετηθεί ορισμένα γονίδια τα οποία μπορούν να θεωρηθούν παράγοντες επικινδυνότητας. Ωστόσο αυτές οι γενετικά ταυτοποιημένες περιπτώσεις, οι οποίες συχνά εμφανίζουν συμπτώματα πριν τα 65 έτη, αποτελούν σχεδόν το 0, 1% των νοσούντων, ενώ διαφοροποιούνται από τις περιπτώσεις νόσου του Αλτσχάιμερ που δεν οφείλονται σε γενετικούς παράγοντες (Duthey, 2014).

Η συγκεκριμένη νόσος χωρίζεται σε δύο κύριες κατηγορίες ανάλογα την ηλικία εμφάνισης των συμπτωμάτων και την πρόκλησή της ή όχι από γενετικούς παράγοντες. Συγκεκριμένα, όταν παρατηρείται εμφάνιση των συμπτωμάτων πριν την ηλικία των 65 και κυρίως μεταξύ των 30 και 40 ετών, τότε έχουμε Πρώιμη Εμφάνιση Νόσου Αλτσχάιμερ (Early Onset Alzheimer's Disease, EOAD), η οποία ωστόσο αποτελεί λιγότερο από 5% του νοσούντος πληθυσμού. Αυτός ο τύπος της νόσου χαρακτηρίζεται από μεταλλάξεις που έχουν ως αποτέλεσμα την αδρανοποίηση των αυτοσωμικών επικρατών γονιδίων APP, PSEN1 και PSEN2 οι οποίες οδηγούν στην παραγωγή των ολιγοπεπτιδίων Αβ₄₂ (Αμυλοειδές β 42), η συσσώρευση των οποίων σχηματίζει τις αμυλοειδικές πλάκες προκαλώντας τον θάνατο των νευρώνων. Οι υπόλοιπες περιπτώσεις της νόσου ορίζονται ως μορφές Νόσου του Αλτσχάιμερ Σποραδικής/Όψιμης Εμφάνισης (Sporadic/Late Onset Alzheimer's Disease-LOAD). Αυτή η μορφή της νόσου αφορά την πλειονότητα του νοσούντος πληθυσμού και παρουσιάζει συμπτώματα μετά τα 65 έτη, ενώ οφείλεται σε ορισμένους γενετικούς παράγοντες επικινδυνότητας όπως η κληρονομικότητα του ε4 ισομόρφου της απολιποπρωτεΐνης E (apolipoprotein E, apoE) το οποίο κωδικοποιείται από το ε4 αλληλόμορφο του γονιδίου APOE (Brookes και Morgan, 2017). Ατομα άνω των 65 έχουν 5-8% πιθανότητα να νοσήσουν, άτομα άνω των 75 έχουν πιθανότητα 15-20%, ενώ το ποσοστό σε άτομα άνω των 85 είναι 50%. Οι τιμές αυτές, λαμβάνοντας υπ' όψιν συγκεκριμένα την ηλικία, δείχνουν διπλασιασμό των περιστατικών κάθε 6 χρόνια ζωής, που σημαίνει εκθετική αύξηση του κινδύνου με την αύξηση της ηλικίας (Duthey, 2004).

Ωστόσο, εκτός από την προχωρημένη ηλικία, παράμετροι όπως ο διαβήτης, η υπέρταση, το κάπνισμα και η παχυσαρκία αυξάνουν τον κίνδυνο εκδήλωσης της νόσου, όπως επίσης και το ιστορικό εγκεφαλικού τραύματος, οι αγγειοεγκεφαλικές παθήσεις και γενικότερα οι αγγειακές παθήσεις, διότι, σε αυτές τις περιπτώσεις, η συγκέντρωση των πεπτιδίων Αβ βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα και υπερπαραγάγεται η πρόδρομη πρωτεΐνη του αμυλοειδούς (Amyloid Precursor Protein, APP) -υπεύθυ-

νη για τον σχηματισμό των Αβ ολιγοπεπτιδίων. Αντίθετα, ένα υψηλό επίπεδο μόρφωσης σε συνδυασμό με μια ισορροπημένη Μεσογειακή διατροφή είναι παράγοντες που μειώνουν την πιθανότητα ανάπτυξης νόσου του Αλτσχάιμερ (Mayeux και Stern, 2012).

Επιπρόσθετα, είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι ο ρόλος των περιβαλλοντικών παραγόντων μπορεί να ερευνηθεί και σε δίδυμα (co-twin study) μέσω σύγκρισης συγκεκριμένων τιμών συμβατότητας σε μονοζυγωτικά και διζυγωτικά δίδυμα. Η αξιοποίηση των πληροφοριών από αυτές τις έρευνες έχει οδηγήσει στο συμπέρασμα πως υπάρχει μεγαλύτερη «συμφωνία» στην εκδήλωση της νόσου στα μονοζυγωτικά παρά στα διζυγωτικά δίδυμα (Räihä και συν., 1997).

Το φύλο αποτελεί εξίσου σημαντικό παράγοντα για την έκβαση της νόσου. Συγκεκριμένα, η εμφάνιση της ασθένειας είναι συχνότερη στις ηλικιωμένες γυναίκες παρά στους άντρες κι αυτό δεν οφείλεται μόνο στο αυξημένο προσδόκιμο ζωής των γυναικών έναντι των αντρών. Αναλυτικότερα, έχει παρατηρηθεί αυξημένο ποσοστό εκδήλωσης της νόσου σε ηλικιωμένες γυναίκες με ένα ε4 αλληλόμορφο του APOE γονιδίου σε σχέση με το ίδιο ποσοστό στους άντρες, ενώ το ίδιο αλληλόμορφο προκαλεί μεγαλύτερα προβλήματα στην φυσιολογία του ιππόκαμπου, στις λειτουργίες του νευρικού συστήματος και στο πάχος του φλοιού του εγκεφάλου στις γυναίκες παρά στους άντρες σε διαφορετικά στάδια της νόσου. Ακόμη, σε ηλικιωμένες γυναίκες, αλλά και σε ορισμένους νεαρότερους άνδρες, η τοξική επίδραση της πρωτεΐνης του Αβ έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή υπεροξειδίων, την νίτρωση και οξειδωση πρωτεϊνών αλλά και την απελευθέρωση κυτοχρώματος c. Ωστόσο, τα αποτελέσματα αυτά δεν έχουν παρατηρηθεί σε νεαρότερες γυναίκες, όπου σύμπλοκα οιστρογόνου προστατεύουν τα νευρικά κύτταρα από το τοξικό πεπτίδιο του Αβ (Lloret και συν., 2008, Vítora και Lloret., 2010).

Η γρήγορη αύξηση της συχνότητας της νόσου του Αλτσχάιμερ με την ηλικία, σε συνδυασμό με την μεγάλη διάρκεια της ασθένειας, οδηγούν, κατά κύριο λόγο, στον μεγάλο επιπολασμό της νόσου παγκοσμίως. Μελέτες του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO) για τον προσδιορισμό του δείκτη επιπολασμού σε 14 περιοχές έχουν καταστήσει σαφές πως, συγκριτικά με την Αφρική και την Ευρώπη, ο επιπολασμός φαίνεται να είναι μεγαλύτερος στην Αμερική, συγκεκριμένα 6, 4% για ασθενείς 60 ετών, ενώ ακολουθεί η Δυτική Ευρώπη με το αντίστοιχο ποσοστό να είναι 5, 4%. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι νοσούντες αυξάνονται κατά 4, 6 εκατομμύρια κάθε χρόνο, πράγμα που καθιστά απαραίτητη

την εύρεση τρόπων αντιμετώπισης των συμπτωμάτων της νόσου πέραν της φαρμακολογικής προσέγγισης, όπως η ενασχόληση με πνευματικές δραστηριότητες προκειμένου να αυξηθεί το νοητικό απόθεμα (cognitive reserve) των ασθενών (Duthey, 2004, Mielke και συν., 2014).

Γονιδιωματικές μελέτες διασύνδεσης και συσχέτισης και Αλληλούχηση νέας γενιάς

Οι μελέτες διασύνδεσης (Linkage studies) συνιστούν μία απόπειρα ταυτοποίησης πολλαπλών γενετικών τόπων σε ολόκληρο το γονιδίωμα, κοινούς σε ασθενείς της ίδιας οικογένειας (affected relative pairs). Τα ευρήματα που αφορούν τη χρωμοσωμική περιοχή 19q13 είναι τα πιο συνεπή και αποδίδονται στην ύπαρξη του APOE, δεδομένης της υψηλής επικινδυνότητάς του (20-29% της γενετικής επικινδυνότητας), παρόλο που δεν μπορεί να αποκλειστεί η επίδραση επιπλέον μη εξακριβωμένων γενετικών τόπων. Από επόμενες μελέτες προέκυψε ότι πολύ περισσότερα γονίδια με μικρό δείκτη επικινδυνότητας φαίνεται να εμπλέκονται στον προσδιορισμό του γενετικού κινδύνου εμφάνισης της νόσου (πέραν του APOE), καθώς και ότι υπάρχει σημαντική ετερογένεια ανάμεσα στους ασθενείς με όψιμη εμφάνιση νόσου του Αλτσχάιμερ (Brookes και Morgan, 2017).

Με τον όρο μελέτη συσχέτισης γονιδιωματικού εύρους (genome-wide association study, GWA study ή GWAS) περιγράφουμε τη μελέτη μίας συλλογής γενετικών παραλλαγών σε ολόκληρο το γονιδίωμα σε διαφορετικά άτομα για να διαπιστωθεί εάν μία παραλλαγή (variant) σχετίζεται με ένα χαρακτηριστικό. Οι μελέτες GWA συνήθως εστιάζουν στη συσχέτιση μεταξύ των μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNPs) και χαρακτηριστικών όπως σημαντικές ανθρώπινες ασθένειες, αλλά η προσέγγιση μπορεί να εφαρμοστεί εξίσου και σε κάθε άλλη γενετική παραλλαγή ανεξαρτήτως οργανισμού (Brookes και Morgan, 2017).

Η ανάπτυξη συστοιχιών ολιγονουκλεοτιδικών ιχνηθετών για συγκεκριμένους μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς διευκόλυνε την επίτευξη καλύτερης αναλυτικής δυνατότητας των γενετικών σημάτων σε ολόκληρο το γονιδίωμα, επιτρέποντας έτσι την πιο στοχευμένη χαρτογράφηση σε σχέση με τη χρήση μικροδορυφορικών γενετικών δεικτών. Επίσης, η επιστράτευση ομάδων ελέγχου στα δείγματα έδωσε τη δυνατότητα να αυξηθεί το μέγεθος των δειγμάτων. Αυτή η προσέγγιση θα επιτρέψει την εξακρίβωση ενδεχόμενων νέων και σπάνιων παραλλαγών που απουσίαζαν από τις εμπορικά διαθέσιμες SNP συστοιχίες που εστίαζαν σε γνωστά SNPs επί κωδικών αλληλουχιών και κοινά αλληλόμορ-

φα πολυμορφισμών με συχνότητα εμφάνισης μικρότερη του 5% (Brookes και Morgan, 2017).

Κοινές γενετικές παραλλαγές

Σε έρευνα του 2009, το κορυφαίο εύρημα που δεν σχετίζεται με την περιοχή του APOE ήταν το SNP rs11136000 του CLU (Chr8p21). Το εν λόγω γονίδιο κωδικοποιεί την κλαστερίνη, ή απολιποπρωτεΐνη J, η οποία είναι μία γλυκοπρωτεΐνη βάρους περίπου 75 kDa που εκφράζεται σε όλους τους ιστούς, συμπεριλαμβανομένου και του ΚΝΣ (Κεντρικού Νευρικού Συστήματος). Το εν λόγω SNP δυνητικά εμπλέκεται στη διαδικασία εναλλακτικής συρραφής (το μάτισμα είναι για ράφτρες). Όσον αφορά τη νόσο του Αλτσχάιμερ, η κλαστερίνη θεωρείται ότι δεσμεύει υδατοδιαλυτό Αβ και το μεταφέρει από το πλάσμα στον εγκέφαλο μέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Ενδιαφέρον προκαλεί το ότι η απολιποπρωτεΐνη E (apoE) πραγματοποιεί την αντίστροφη διαδικασία, μεταφέροντας Αβ από τον εγκέφαλο στο πλάσμα, και έτσι επιτυγχάνεται ρύθμιση των επιπέδων Αβ στον εγκέφαλο. Παρόλα αυτά, σύμφωνα με υπολογισμούς, στο CLU δεν αποδίδεται παρά μόνο το 2-3% της επικινδυνότητας για εμφάνιση νόσου του Αλτσχάιμερ στο γενικό πληθυσμό, δηλαδή δέκα φορές μικρότερη από αυτή του αλληλόμορφου ε4 του APOE (Bertram και Tanzi., 2009).

Το 2013, διεξήχθη η μεγαλύτερη μετα-ανάλυση μέχρι εκείνη τη χρονιά για τη LOAD. 20 γενετικές περιοχές επιβεβαιώθηκαν ως σημαντικές από τις μελέτες GWA για το LOAD, εκτός του APOE οι μισές από τις οποίες είχαν αναγνωριστεί από προηγούμενες μελέτες GWAS. Αυτές είναι οι CR1, BIN1, INPP5D, MEF2C, HLA-DRB5, CD2AP, NME8, ZCWPW1, ERHA1, PTK2B, CLU, CELF1, MS4, PICALM, SORL1, FERMT2, SLC24A4, ABCA7 και CASS4.

Το 2017, παρουσιάστηκαν στοιχεία για το ρόλο των απλότυπων A και B της τάξης I και του απλότυπου DR15 της τάξης II του συμπλόκου Ανθρώπινων Λευκοκυτταρικών Αντιγόνων (human leukocyte antigen, HLA) στην εμφάνιση νόσου του Αλτσχάιμερ. Οι απλότυποι της τάξης I πιθανόν σχετίζονται με τα επίπεδα βιοδεικτών της νόσου του Αλτσχάιμερ στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (CSF) και μεγαλύτερη μείωση της νοητικής ικανότητας εις το διηνεκές. Παράλληλα, οι απλότυποι της τάξης II δυνητικά προκαλούν ευρύτερη φλεγμονή στον εγκέφαλο με τη γήρανση. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι οι απλότυποι HLA-A, -B, -DRB1, -DQA1 και -DQB1 συσχετίζονται με την εμφάνιση της νόσου ανεξάρτητα από την ύπαρξη του ε4 αλληλόμορφου του APOE, ειδικά στους άνδρες. Επειδή οι εν λόγω παράγοντες έχει βρεθεί ότι ενέχονται και στην εμφάνιση σκλήρυνσης κατά πλάκας,

θεωρείται πιθανό να προκαλούν και νόσο του Αλτσχάιμερ (Steele και συν., 2017).

Το 2018, εντοπίστηκαν 27 SNPs σε 7 γονίδια: BIN1, PVRL2, GEMIN7, SPI1, MS4A2, MS46A και MS44A. Ιδιαίτερη μνεία αξίζει στο γονίδιο BIN που κωδικοποιεί την νουκλεο-κυτταροπλασματική πρωτεΐνη που εξαρτάται από το Myc box (Myc box-dependent-interacting protein 1). Όσες ισομορφές εκφράζονται στο ΚΝΣ θεωρείται ότι συμμετέχουν στην ενδοκυττάρωση συναπτικών κυστίδιων και μπορεί να αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες ενεργοποίησης, , την ενδοτηελίνη ή την ρετικουλίνη. Εξαιτίας της καθολικής έκφρασης του BIN1 στον εγκέφαλο, πολλοί επιστήμονες αναζητούν τη σχέση του με τη νόσο του Αλτσχάιμερ (Hu και συν., 2019). Έχει διατυπωθεί η άποψη ότι το BIN1 μετριάξει τον κίνδυνο εμφάνισης νόσου του Αλτσχάιμερ τροποποιώντας το μεταβολισμό της πρωτεΐνης tau (Charuis και συν., 2013). Το ίδιο έτος, ταυτοποιήθηκαν τα SNP rs679515 (p-value = 5.2×10^{-9} , Chr1, περιοχή του CR1), rs6733839 (p-value = 1.1×10^{-27} , Chr2, περιοχή του BIN1), rs7384878 (p-value = 1.3×10^{-10} , Chr7, περιοχή του PILRA), rs3851179 (p-value = 1.8×10^{-12} , Chr11, περιοχή του PICALM), rs3845261 (p-value = 4.0×10^{-8} , Chr17, περιοχή του ZNF232), rs593742 (p-value = 6.2×10^{-11} , Chr15, περιοχή του ADAM10), rs889555 (p-value = 3.2×10^{-8} , Chr16, περιοχή των BCKDK/KAT8), rs138190086 (p-value = 5.4×10^{-9} , Chr17, περιοχή του ACE) και rs10119 (p-value = 3.5×10^{-308} , Chr19, περιοχή των APOE/TOMM40). Τα νέα γονίδια που ταυτοποιήθηκαν ήταν τα VKORC1, ACE και ADAM10. Η περιοχή των BCKDK/KAT8 περιέχει το VKORC1 (p-value = 5.1×10^{-8}). Ο πολυμορφισμός rs9923231 του αλληλόμορφου T του γονιδίου αυτού φαίνεται να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης νόσου Αλτσχάιμερ (p-value = 1.8×10^{-7}). Το ACE ρυθμίζει τα επίπεδα της αγγειοτενσίνης II η οποία τρέφει τα κύτταρα του εγκεφάλου και συμβάλλει στη ρύθμιση της κυκλοφορίας του αίματος. Παραλλαγές του ACE μπορούν να συσχετιστούν με ατροφία του ιππόκαμπου και της αμυγδαλής, ενώ τα επίπεδα πρωτεϊνών CSF-ACE σχετίζονται με αυτά της CSF tau και της φωσφορυλιωμένης tau. Το ADAM10 εμπλέκεται στην πρωτεόλυση της απολιποπρωτεΐνης (APP), η οποία συμμετέχει στην εναπόθεση αμυλοειδούς β (Marioni και συν., 2018).

Το 2020, έρευνα οδήγησε στον προσδιορισμό, σε πολλαπλούς ιστούς, των επιπέδων έκφρασης γονιδίων που έχει βρεθεί ότι είναι παρουσιάζουν στατιστική σημαντικότητα ως παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση νόσου του Αλτσχάιμερ. Το σημαντικότερο γονίδιο εκτός της περιοχής του APOE που βρέθη-

κε (p-value = 1.24×10^{-24}) ήταν το VASP (vasodilator-stimulated phosphoprotein) που εκφράζεται κυρίως στους όρχεις. Το γονίδιο με τη μεγαλύτερη στατιστική σημαντικότητα εκτός του χρωμοσώματος 19 φαίνεται να είναι το CLU που κωδικοποιεί την κλαστερίνη, με μεγαλύτερη έκφραση στο δέρμα. Παρόλο που ο εγκέφαλος είναι το όργανο που πλήττεται κατά κύριο λόγο στη νόσο του Αλτσχάιμερ, οι γενετικοί παράγοντες που επηρεάζουν την έκφραση γονιδίων στα οποία φαίνεται να οφείλεται η νόσος είναι παρόντες και σε άλλους ιστούς, όπως στα αγγεία και στο δέρμα. Αυτά τα δεδομένα, σε συνδυασμό με τις γνώσεις για το APOE, υποδεικνύουν ότι το δέρμα (μαζί και με άλλους περιφερικούς ιστούς) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εύκολα προσβάσιμος παρένθετος ιστός για τη ανίχνευση βιοδιαδικασιών που οδηγούν στην εμφάνιση νόσου του Αλτσχάιμερ (Gerring και συν., 2020).

Πολλαπλές σπάνιες παραλλαγές (Multiple rare variants)

Η αλληλούχιση ολόκληρης της κωδικής περιοχής του γονιδιώματος (Whole Exome Sequencing, WES) αποτελεί μία προσέγγιση αλληλούχισης των περιοχών ενός γονιδιώματος που κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Η εν λόγω τεχνική χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση σπάνιων παραλλαγών των κωδικών περιοχών των γονιδίων, που ίσως ενέχονται στην εμφάνιση νόσου του Αλτσχάιμερ περισσότερο από τα κοινά SNPs (Brookes και Morgan, 2017). Τα κυριότερα γονίδια και οι σημαντικότερες σπάνιες παραλλαγές που εμφανίζουν παρατίθενται παρακάτω:

TREM2 (Chr6p21)

Με στατιστική σημαντικότητα να πλησιάζει αυτή του APOE, η οφειλόμενη στο SNP rs75932628 παραλλαγή R47H (R47H variant) έχει ταυτοποιηθεί επανειλημμένως. Παρόλα αυτά, η συγκεκριμένη παραλλαγή περιορίζεται στους Καυκάσιους πληθυσμούς, με έρευνες που διεξήχθησαν σε Ασιάτες και Αμερικανούς αφρικανικής καταγωγής ασθενείς να μη βρίσκουν συσχέτιση της παραλλαγής (όταν αυτή ανιχνεύεται) με τη νόσο του Αλτσχάιμερ (Cady και συν., 2014) a rare missense variant (p.R47H).

PLD3 (Chr19q13)

Σε πρόσφατες μελέτες, η μη συνώνυμη παραλλαγή V232M οφειλόμενη στο SNP rs145999145 στο εξώνιο 7 παρουσιάζει μέτρια επίδραση στην παθογένεια της νόσου του Αλτσχάιμερ (Cruchaga και συν., 2014). These uncommon variants have replicable but small effects

on LOAD risk and generally do not have obvious functional effects. Low-frequency coding variants, not detected by GWAS, are predicted to include functional variants with larger effects on risk. To identify low frequency coding variants with large effects on LOAD risk, we performed whole exome-sequencing (WES).

UNC5C (Chr4q22)

Μία παραλλαγή του γονιδίου, η T835M, βρέθηκε να σχετίζεται σημαντικά με την όψιμη εμφάνιση νόσου του Αλτσχάιμερ και οφείλεται στο SNP rs137875858 (Wetzel-Smith και συν., 2014).

AKAP9 (Chr7q21)

Ορισμένες σπάνιες παραλλαγές του γονιδίου αναγνωρίστηκαν σε μία μελέτη πληθυσμού Αμερικανών αφρικανικής καταγωγής, (rs144662445 και rs1449979685) (Logue και συν., 2014) 037 cases and 1,869 controls from the Alzheimer Disease Genetics Consortium (ADGC).

ABI3 (Chr17q21)

Το SNP rs616338 ενδέχεται να συνδέεται με κίνδυνο για την εμφάνιση νόσου του Αλτσχάιμερ (Sims και συν., 2017) 133 subjects. In stage 1, 34, 174 samples were genotyped using a whole-exome microarray. In stage 2, we tested associated variants ($P < 1 \times 10^{-4}$).

PLCG2 (Chr16q23.3)

Το εν λόγω γονίδιο φαίνεται να ασκεί προστατευτικό ρόλο κατά της νόσου του Αλτσχάιμερ μέσω της παραλλαγής Pro522Arg που οφείλεται στο SNP rs72824905 (Sims και συν., 2017) 133 subjects. In stage 1, 34, 174 samples were genotyped using a whole-exome microarray. In stage 2, we tested associated variants ($P < 1 \times 10^{-4}$).

Τρέχουσες Προσπάθειες: Εξειδικευμένες Μικροσυστοιχίες SNP (Custom SNP Arrays) και βαθμοί πολυγονιδιακής επικινδυνότητας (Polygenic Risk Scores)

Είναι πολύ πιθανό ότι παραπάνω πολυμορφισμοί μικρότερης αλλά εξίσου σημαντικής επιρροής εμπλέκονται στην εμφάνιση της νόσου του Αλτσχάιμερ. Όμως, οι τωρινές μέθοδοι δεν μπορούν να την ανιχνεύσουν. Εντούτοις, η ανάπτυξη βαθμών πολυγονιδιακής επικινδυνότητας (polygenic risk score, PRS), δηλαδή μίας πιο περιεκτικής μεθοδολογίας από τη βαθμολόγηση γενετικής επικινδυνότητας μεμονωμένων γνωστών παραλλαγών, δύναται να επιβεβαιώσει την σημασία αυτών των γενετικών σημάτων (Euesden και συν., 2015). Συνεπώς, το PRS ορίζεται ως το άθροισμα των αλληλόμορφων πολλών γενετικών τόπων, τα οποία σχετίζονται με ένα

συγκεκριμένο γνώρισμα και το οποίο υπολογίζεται από το βαθμό επιρροής των γονιδίων που συσχετίζονται θετικά με τον (παθο)φαινότυπο σε μία μελέτη συσχέτισης γονιδιωματικού εύρους (Brookes και συν., 2017).

Μία από τις σχετικές έρευνες έγινε σε 122 ασθενείς με ήπια νοητική διαταραχή (mild-cognitive impairment, MCI) και διεξήχθη σε μία περίοδο 36 μηνών κατά την οποία η MCI εξελίχθηκε σε LOAD. Οι εν λόγω ασθενείς γονοτυπήθηκαν, μαζί με άλλους οι οποίοι είχαν διαγνωστεί με LOAD αλλά και με νοητικώς ακέραια άτομα, με τη βοήθεια μικροσυστοιχιών. Για κάθε άτομο προσδιορίστηκε το PRS. Έπειτα, αναπτύχθηκε πρότυπο προβλεψιμότητας που εμπεριείχε το PRS με τα SNPs του APOE (rs7412 και rs429358), 165 άλλα SNPs, την ηλικία και το φύλο των ασθενών. Αυτό το πρότυπο εφαρμόστηκε ακολούθως στο δείγμα ασθενών με MCI για να προσδιοριστεί το αν μπορεί να προβλέψει την εξέλιξη της σε LOAD. Το ποσοστό προβλεψιμότητας ήταν 82.5% (Chaudhury και συν., 2019).

Σε μία πρόσφατη έρευνα, τα PRS επιβεβαιώνουν πως γενετικές περιοχές μικρότερης επικινδυνότητας μπορούν να αυξήσουν τον κίνδυνο εμφάνισης νόσου του Αλτσχάιμερ. Στο πείραμα που διεξήχθη, προσδιορίστηκαν τα επίπεδα μεταγραφής διαγονιδίων σε δύο μοντέλων ποντικών: το ένα μοντέλο έφερε τα διαγονίδια APP^{swE}/PS1^{L166P} (APPtg) και και το άλλο το διαγονίδιο Thy-TAU22 (TAUtg). Η ερευνητική ομάδα ταυτοποίησε ένα μεταγραφικό γονιδιακό πρότυπο (APPtg-Blue) το οποίο επάγεται ειδικά από την υπερέκφραση των μεταλλαγμένων APP/PSEN1 και ενισχύεται σημαντικά από μία μεγάλη ομάδα γονιδίων τα οποία έχουν συσχετιστεί με SNPs μικρότερης επικινδυνότητας υπεύθυνα για την αύξηση του κινδύνου εμφάνισης νόσου του Αλτσχάιμερ. Στα πειράματα της ομάδας αναγνωρίστηκαν επίσης 7 επιβεβαιωμένα γονίδια κινδύνου για τη νόσο του Αλτσχάιμερ (APOE, CLU, INPP5D, CD33, PLCG2, SPI1 και FCER1G) και 11 γονίδια από μελέτες γονιδιωματικής συσχέτισης με σημαντικότητα μικρότερη της αναγκαίας στατιστικά (GPC2, TREML2, SYK, GRN, SLC2A5, SAMSN1, PYDC1, HEXB, RRBP1, LYN και BLNK), των οποίων η έκφραση αυξήθηκε σημαντικά με την έκθεσή τους σε Αβ, οπότε εξήχθη το συμπέρασμα ότι είναι μέρος ενός ή περισσότερων μονοπατιών που χαρακτηρίζουν τη μικρογλοιακή απόκριση στο Αβ. Λειτουργικά, το συρρυθμιστικό δίκτυο APPtg-Blue αποτελεί μία εκτενή νευροφλεγμονώδη απόκριση όπου εμπλέκονται αστροκύτταρα και, κυρίως, μικρογλοιακά κύτταρα. Αυτές οι παρατηρήσεις ενισχύουν την υπόθεση ότι η κύρια αντίδραση του εγκεφάλου στο Αβ είναι η νευροφλεγμονή (Matarin και συν., 2015, Wirz και συν., 2013). Αυτά και

άλλα δεδομένα υποδηλώνουν ότι αυτού του είδους η απόκριση είναι κινητήρια δύναμη στην εμφάνιση νόσου του Αλτσχάιμερ και ότι το Αβ είναι αρκετό για να ενεργοποιήσει τους μηχανισμούς της έμφυτης ανοσίας (Matarin και συν., 2015, Zhang και συν., 2013). Συνεπώς, η ομάδα κατέληξε στο ότι ο γενετικός κίνδυνος εμφάνισης νόσου του Αλτσχάιμερ αποδίδεται λειτουργικά με διαφορετικές αποκρίσεις στην συσσώρευση Αβ από μικρογλοιακά μονοπάτια, θεωρώντας λειτουργικά τον κίνδυνο για νόσο Αλτσχάιμερ επόμενο της εμφάνισης αμυλοειδούς αλλά προηγούμενο της παθολογίας της tau (Sierksma και συν., 2020).

Γονίδια υψηλού κινδύνου

PSEN1, PSEN2

Όπως προαναφέρθηκε, οι ασθενείς με την κληρονομική μορφή νόσου του Αλτσχάιμερ (EOAD) φέρουν μεταλλάξεις που οδηγούν στην αδρανοποίηση των γονιδίων που κωδικοποιούν την πρεσενιλίνη 1 και την πρεσενιλίνη 2, δηλαδή τα PSEN1 και PSEN2 αντίστοιχα καθώς επίσης και στο APP που κωδικοποιεί την πρόδρομη πρωτεΐνη του β-αμυλοειδούς (Amyloid Precursor Protein-APP) (Fedeli και συν., 2019). Αυτές οι μεταλλάξεις έχουν ως αποτέλεσμα την υπερπαραγωγή της πρόδρομης πρωτεΐνης του β-αμυλοειδούς, σχηματίζοντας έτσι τις γεροντικές πλάκες, καθώς οι πρεσενιλίνες ελέγχουν την ποσότητα της πρωτεΐνης APP μέσω της συμμετοχής τους στον σχηματισμό του συμπλόκου της γ-εκκριτάσης. Αυτή αποτελεί ένα σύμπλεγμα ενδοπρωτεάσης που πρωτεολύει την APP και συνίσταται από τις πρεσενιλίνες καθώς και τις πρωτεΐνες νικαστρίνη, APH1 και PEN2 (Buxbaum και Greengard 1996, Perry και συν., 1998, Peskind, 1996).

Η γ-εκκριτάση (αυτή λέγεται «γ-εκκριτάση») παίζει ρόλο στην διακυτταρική σηματοδότηση και στην έκφραση γονιδίων, στην σύνδεση της χρωματίνης στην πυρηνική μεμβράνη αλλά και στον διαχωρισμό μεταξύ των πρωτεϊνών στο κυτταρόπλασμα. Όσον αφορά τις πρεσενιλίνες, καταλύουν την πρωτεόλυση της APP προκειμένου να δημιουργηθεί ένα μεγάλο αμινοτελικό θραύσμα και ένα μικρότερο καρβοξυτελικό, τα οποία θα αποτελέσουν μέρος της λειτουργικής πρωτεΐνης, ενώ μπορούν επίσης να ρυθμίσουν και την προσρόφηση Ca^{2+} στους προσυναπτικούς νευρώνες για την διέγερσή τους. Αρχικά, η APP πρωτεολύεται από την β-εκκριτάση κι έπειτα από την γ-εκκριτάση οδηγώντας στον σχηματισμό πεπτιδίων Αβ διαφόρων μεγεθών. Παρότι το πεπτίδιο Αβ₄₀ αποτελεί 90% των πεπτιδίων Αβ, το προϊόν Αβ₄₂ που παράγεται σε μικρότερη ποσότητα, είναι περισσότερο υδρόφοβο, οπότε πιστεύεται ότι συμ-

μετέχει περισσότερο στον σχηματισμό των γεροντικών πλακών (Kelleher και Shen, 2017).

Γενικά, υπάρχουν δύο υποθέσεις σχετικά με το πώς η αδρανοποίηση του PSEN1 επηρεάζει την παραγωγή αυτών των πεπτιδίων και άρα οδηγεί στην εμφάνιση της FAD (Familial Alzheimer's Disease). Η υπόθεση που αφορά την πρωτεΐνη του αμυλοειδούς βασίζεται στο ότι η αδρανοποίηση του PSEN1 οδηγεί σε νόσο του Αλτσχάιμερ μέσω της αύξησης της παραγωγής των πεπτιδίων Αβ₄₂. Αντίθετα, η υπόθεση της πρεσενιλίνης, που είναι και η επικρατέστερη, υποστηρίζει πως η αδρανοποίηση του PSEN1 προκαλεί απώλεια των σημαντικών για τον εγκέφαλο λειτουργιών της πρεσενιλίνης, που κατ'επέκταση οδηγεί σε καταστροφή των νευρώνων και άρα σε FAD. Η τελευταία υπόθεση υποστηρίχθηκε ιδιαίτερα καθώς η πρεσενιλίνη είναι σημαντική για την μνήμη και την μάθηση, καθώς επίσης και για την επιβίωση των νευρώνων κατά τη γήρανση. Βρέθηκε ότι οι μεταλλάξεις που αδρανοποιούν το PSEN1, και συγκεκριμένα η απώλεια του ένατου εξωνίου της πρεσενιλίνης 1, προκαλούν απώλεια της λειτουργίας του γονιδίου, ενώ άλλες σοβαρές μεταλλάξεις στα PSEN1 και PSEN2 αναστέλλουν τις λειτουργίες της γ-εκκριτάσης, καθώς και την παραγωγή του πεπτιδίου Αβ. Το τελευταίο αποδείχθηκε σε έρευνα όπου πραγματοποιήθηκε ανάλυση 138 παθογόνων μεταλλάξεων στο γονίδιο PSEN1, με στόχο την μελέτη της επίδρασης αυτών των μεταλλάξεων στην λειτουργία της γ-εκκριτάσης, δηλαδή το εάν οδηγούν στην ενίσχυση ή καταστολή της δραστηριότητας αυτού του ενζύμου. Αναλυτικότερα, σε 67 αναλύσεις παρατηρήθηκε μείωση του πεπτιδίου Αβ₄₀ κατά 95% ενώ 14 αναλύσεις έδειξαν σοβαρή μείωση του πεπτιδίου Αβ₄₂. Το 75% των αναλύσεων έδειξε μείωση στην παραγωγή των πεπτιδίων Αβ₄₀ και Αβ₄₂. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι μεταλλάξεις που αδρανοποιούν το PSEN1 κυρίως καταστέλλουν παρά ενισχύουν την δραστηριότητα της γ-εκκριτάσης και την παραγωγή του Αβ πεπτιδίου (Kelleher και Shen, 2017).

APP

Η πρόδρομη πρωτεΐνη αμυλοειδούς είναι μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη που συναντάται σε πολλούς ιστούς και κυρίως στις συνάψεις των νευρώνων. Το μόριο αυτό είναι το πρόδρομο από το οποίο προκύπτει το πεπτίδιο του αμυλοειδούς β. Συντίθεται από το αντίστοιχο γονίδιο το οποίο πιστεύεται ότι παίζει καίριο ρόλο την παθολογία της νόσου του Αλτσχάιμερ. Η ακριβής δράση του στη φυσιολογία του νευρικού συστήματος δεν είναι πλήρως κατανοητή αλλά πιστεύεται ότι επάγει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Βρίσκεται στο χρωμόσω-

μα 21. Ένας από τους λόγους που ενοχοποιείται για την εμφάνιση της νόσου είναι ότι, σε άτομα με τρισωμία 21 (Down's Syndrome), τα ποσοστά εμφάνισης της νόσου είναι μεγαλύτερα, αφού το γονίδιο υπάρχει σε τρία αντίγραφα (Thinakaran, 2008).

Η APP συντίθεται σε μεγάλες ποσότητες στους νευρώνες τόσο στο προσυναπτικό όσο και στο μετασυναπτικό άκρο και μεταβολίζεται πολύ γρήγορα. Υπάρχουν πολλές μεταβολικές οδοί για την APP. Κάποιες από αυτές επάγουν την παραγωγή Αβ, πιθανώς σε παθολογικές συγκεντρώσεις. Φυσιολογικά, μεγάλες ποσότητες APP καταβολίζονται συνεχώς σε Αβ₄₂ στον εγκέφαλο. Στην αρχή της εμφάνισης της νόσου έχουμε πτώση του ποσού της πρωτεΐνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (CSF). Έχουμε, έτσι, μία μείωση του Αβ₄₂ που αποβάλλεται από τα εγκεφαλικά κύτταρα. Ένας άλλος δείκτης είναι ο λόγος Αβ₄₂/Αβ₄₀. (O'Brien και Wong, 2011) the leading cause of dementia worldwide, is characterized by the accumulation of the β-amyloid peptide (Αβ).

Τα παραπάνω έχουν επιδειχθεί και in vivo σε ποντίκια. Ποντίκια που υπερεξέφραζαν ανθρώπινη APP, η οποία έφερε μεταλλάξεις, εμφάνιζαν υψηλές συγκεντρώσεις Αβ σε χρονικό διάστημα 4-6 μηνών και συμπτώματα νευρικών αλλοιώσεων (O'Brien και Wong, 2011).

Υπάρχουν 32 επικρατείς μεταλλάξεις στην APP, ειδικά στην περιοχή που επιδρά η γ-εκκριτάση. Οι μεταλλάξεις αφορούν κυρίως την αντικατάσταση ενός αμινοξέος ενώ μόνο μία παραλλαγή (A673T) έχει βρεθεί ότι προστατεύει απέναντι στη νόσο. Κοινός παρανομαστής των μεταλλάξεων είναι η αυξημένη παραγωγή του λιγότερο διαλυτού, τοξικότερου Αβ₄₂ σε σχέση με το Αβ₄₀ (O'Brien και Wong, 2011) the leading cause of dementia worldwide, is characterized by the accumulation of the β-amyloid peptide (Αβ).

Γονίδια μεσαίου κινδύνου

APOE

Το APOE κωδικοποιεί την απολιποπρωτεΐνη Ε (apoE), που αποτελεί μέρος των LDL και HDL (Χαμηλής και υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών αντίστοιχα). Παράγεται από τα νευρογλοιακά κύτταρα του εγκεφάλου. Στον εγκέφαλο παράγεται de novo καθώς ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός εμποδίζει την μεταφορά από και προς τον εγκέφαλο. Υπάρχουν τρεις πολυμορφισμοί του γονιδίου:

- APOE ε2: δρα προστατευτικά κατά της νόσου του Αλτσχάιμερ
- APOE ε3: Είναι το συχνότερα εμφανιζόμενο. Είναι το φυσιολογικό αλληλόμορφο με την μικρότερη επιρροή.

- APOE ε4: Το γονίδιο που σχετίζεται περισσότερο με τη νόσο. Στον καυκάσιο πληθυσμό, η συχνότητα εμφάνισης του γονιδίου είναι μόλις 13, 7% ενώ στους πάσχοντες από νόσο του Αλτσχάιμερ φτάνει το 36, 7%.

Όπως γίνεται αντιληπτό, υπάρχουν 6 διαφορετικοί γονότυποι από τους οποίους ο ε3/ε3 είναι ο πιο κοινός. Ασθενείς με γονότυπο ε4/ε4 έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης νόσου του Αλτσχάιμερ, και μάλιστα σε μικρότερη ηλικία. Άτομα με γονότυπο ε2/ε2 έχουν τη μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης και αυτός ο γονότυπος δρα προστατευτικά απέναντι στην εμφάνιση της νόσου.

Τα επίπεδα ολιγομερών Αβ είναι αισθητά αυξημένα σε ασθενείς ομόζυγους για το αλληλόμορφο ε4, που δείχνει ότι επιταχύνει τη εμφάνιση των παθολογικών σημείων και συμπτωμάτων μέσω του Αβ. Σε μοντέλα ποντικών που έφεραν το ε4 αλληλόμορφο παρατηρήθηκε μεγαλύτερη εναπόθεση πλακών αμυλοειδούς πεπτιδίου β σε σχέση με ποντίκια που έφεραν το ε3 αλληλόμορφο.

Το Αβ μπορεί να απομακρυνθεί από τον εγκέφαλο μέσω διάφορων διαδρομών. Στα κύτταρα, το ενδοκυττάριο Αβ μπορεί να απομακρυνθεί μέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού και των αγγειακών κυττάρων. Μπορεί, επίσης, να μεταφερθεί στο ISF (Interstitial fluid) και να περάσει στο κυκλοφορικό και λεμφικό σύστημα. Μεγάλο μέρος της απομάκρυνσης του Αβ περιλαμβάνει τη μεσολάβηση υποδοχέων (LRP1, LDLR) ή πρωτεόλυση από ενδοπεπτιδάσες. Η λιπιδωμένη apoE μπορεί να συνδεθεί με το Αβ και να διευκολύνει τη διάλυσή του μέσω κυτταρικών υποδοχέων που αναφέρθηκαν. Το σύμπλοκο ε4-Αβ είναι το λιγότερο σταθερό. Εναλλακτικά, μπορεί να εμποδίζει την απομάκρυνση του Αβ δρώντας ανταγωνιστικά στους υποδοχείς του στα αστροκύτταρα (Zhao και συν., 2018).

Πολλοί υποδοχείς της apoE, όπως ο LRP1, αλληλεπιδρούν μαζί της και δύνανται να επηρεάζουν την μετακίνηση και επεξεργασία της σε Αβ. Λόγω της ταχείας ενδοκυττάρωσης, ο LRP1 επιταχύνει τη μεταφορά APP εντός του κυττάρου και αυξάνει την παραγωγή Αβ. Ο LRP6 ένας υποδοχέας της apoE που μεσολαβεί στη σηματοδότηση Wnt (μονοπάτια που ξεκινούν με πρωτεΐνες να στέλνουν σήμα σε μεμβρανικούς υποδοχείς κυττάρων) φαίνεται να μειώνει την παραγωγή Αβ. Ο περιορισμός της λειτουργίας του υποδοχέα αυξάνει την εναπόθεση Αβ και ενισχύει την φλεγμονή των νευρικών κυττάρων. Επίσης, το ε4 αλληλόμορφο επηρεάζει την εσωτερική της APP σε μεγαλύτερο βαθμό από τα άλλα δύο αλληλόμορφα (Zhao και συν., 2018) the ε4 allele of the APOE gene is the strongest genetic risk factor for late-onset Alzheimer's disease (AD. Πα-

Πίνακας. Οι διαφορές στα τρία αλληλόμορφα εντοπίζονται στις θέσεις 112 και 158της αμινοξικής αλληλουχίας (Zhao και συν., 2018)

	Θέση 112	Θέση 158
APOE ε2	κυστεΐνη	αργινίνη
APOE ε3	κυστεΐνη	κυστεΐνη
APOE ε4	αργινίνη	αργινίνη

ρακάτω αναλύονται περαιτέρω τα χαρακτηριστικά των υποδοχέων της apoE και ο πιθανός τους ρόλος στην παθολογία της νόσου του Αλτσχάιμερ.

- Πρωτεΐνη 1 που σχετίζεται με τον υποδοχέα λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (Low density lipoprotein receptor-related protein 1, LRP1): Είναι ο υποδοχέας που έχει μελετηθεί περισσότερο για το ρόλο του στην παθολογία του Αβ. Μελέτη in vitro έδειξε ότι υπερέκφραση ενός λειτουργικού υποδοχέα LRP1 αυξάνει τη μετακίνηση Αβ στα λυσοσώματα ενώ η απενεργοποίησή του μειώνει τα επίπεδα στους νευρώνες. Ωστόσο, παίζει ρόλο και η περιοχή του εγκεφάλου που γίνεται η διεργασία. Σε ποντίκια APP/PSEN1, η έλλειψη του υποδοχέα οδηγεί σε προβληματική αποβολή του Αβ στον φλοιό αλλά δεν επηρεάζει την ίδια τη παραγωγή του Αβ. Παρόλα αυτά, στον ιππόκαμπο των ίδιων ποντικών, δεν φαίνεται να επηρεάζει τις διεργασίες της APP οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι διαφορετικές περιοχές του εγκεφάλου επηρεάζονται με διαφορετικό τρόπο από την έλλειψη του υποδοχέα. Υπάρχει, επίσης, η υπόθεση ότι ο LRP1 βοηθά στην αποβολή του Αβ από τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (Zhao και συν., 2018).

- Υποδοχέας λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (low density lipoprotein receptor, LDLR): Έλλειψη του υποδοχέα οδηγεί σε μείωση της πρόσληψης Αβ από τα αστροκύτταρα. Η αύξηση του LDLR βελτιώνει σημαντικά την πρόσληψη Αβ από τα κύτταρα. Ποντίκια με έλλειψη LDLR έχουν αυξημένη εναπόθεση Αβ και δημιουργία αμυλοειδών πλακών και νευροτοξικότητα λόγω της συσσώρευσης Αβ, χωρίς να επηρεάζει την έκφραση του APP. Υπερέκφραση του υποδοχέα σε ποντίκια μειώνει δραματικά τις φλεγμονές στα νευρικά κύτταρα που σχετίζονται με τις πλάκες Αβ (Zhao και συν., 2018).

- Πρωτεογλυκάνη θειικής ηπαράνης (Heparan sulfate proteoglycan, HSPG): Εκφράζεται σε όλους τους τύπους κυττάρων και εμπλέκεται σε διάφορα χαρακτηριστικά/παθολογίες της νόσου. Συνδέεται με το Αβ στην κυτταρική μεμβράνη και αλληλεπιδρά με τον LRP1. Έλλειψη του σε ποντίκια αυξάνει την απομάκρυν-

ση του Αβ και μειώνει την ύπαρξη πλακών σε ποντίκια. Έτσι, φαίνεται ότι η HSPG να μην επιδρά σωστά στην απομάκρυνση του Αβ, καθώς η σύνδεση της ευνοεί την παραγωγή ολιγομερών (Zhao και συν., 2018).

Η apoE φαίνεται να δρα ανταγωνιστικά με τους δύο πρώτους υποδοχείς σε σχέση με το Αβ, ενώ το ε4 φαίνεται να είναι αυτό που προκαλεί μεγαλύτερο αποκλεισμό των υποδοχέων (Zhao και συν., 2018).

Συζήτηση

Η νόσος του Αλτσχάιμερ αποτελεί μία νευροεκφυλιστική νόσο που μαστίζει την ανθρωπότητα παγκοσμίως, με ασθενείς ηλικίας κυρίως άνω των 65 οι οποίοι παρουσιάζουν σταδιακή μείωση της νοητικής λειτουργίας με αποτέλεσμα την ολοκληρωτική απώλειά της. Οι δύο κατηγορίες της νόσου, EOAD και LOAD, εμφανίζονται σε ένα εύρος ηλικιών με συμπτωματολογία σε ασθενείς κάτω και άνω των 65 αντίστοιχα. Εκτός από τα κοινά χαρακτηριστικά της νόσου δίνεται έμφαση και σε διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες που ενδέχεται να επιταχύνουν την πρόοδο της νόσου, εντείνοντας τον σχηματισμό των αμυλοειδικών πλακών. Αντικείμενο μελέτης αποτελεί πλέον η αντιμετώπιση των συμπτωμάτων μέσω της ενασχόλησης με πνευματικές δραστηριότητες με στόχο την ενίσχυση του νοητικού αποθέματος των ασθενών.

Το γενετικό υπόβαθρο της νόσου έχει απασχολήσει έντονα την επιστημονική κοινότητα. Κυρίως οι μεταλλάξεις στα αυτοσωμικά επικρατή γονίδια PSEN1, PSEN2 και APP φαίνεται να σχετίζονται άμεσα με την κληρονομική μορφή της νόσου. Παράλληλα, η υπόθεση της πρεσενιλίνης, πρωτεΐνης που κωδικοποιείται από τα PSEN1 και PSEN2 και συστατικό του ενζύμου γ-εκκριτάση, παρουσιάζεται ως αιτία εμφάνισης της νόσου, καθώς αδρανοποιήσεις στα συγκεκριμένα γονίδια οδηγούν σε απώλεια των ζωτικής σημασίας λειτουργιών αυτής της πρωτεΐνης. Συνεπώς, η συμμετοχή της στον μηχανισμό δράσης της γ-εκκριτάσης χρήζει περαιτέρω εξέτασης.

Η αναγνώριση των κύριων παραγόντων της νόσου έχει γίνει σε ικανοποιητικά επίπεδα και μόνο οι διαμε-

σολαβητές των παθολογικών παραλλαγών μένουν να προσδιοριστούν μέσω των PRS. Το PRS έχει επιδείξει επαρκή ακρίβεια στην πρόβλεψη ώστε να έχει εφαρμογές στην έγκαιρη αναγνώριση των υποκειμένων που κινδυνεύουν να εμφανίσουν τη νόσο, την αποκρυπτογράφηση της γενετικής αρχιτεκτονικής της ασθένειας το «screening» και την επιλογή ατόμων για κλινικές δοκιμές και τις ερευνητικές προσπάθειες. Η ένταξη του PRS για την κατηγοριοποίηση των δειγμάτων μπορεί να καταλήξει σε πιο ομοιόμορφα αποτελέσματα στις κλινικές δοκιμές και στον προσδιορισμό των υποκειμένων με έλλειμμα σε ένα συγκεκριμένο μονοπάτι ή σε περισσότερα και με συγκεκριμένους ενδοφαινότυπους, τα οποία ανταποκρίνονται και διαφορετικά στις δοκιμές φαρμάκων. Επιπροσθέτως, εφόσον το PRS δεν ενέχει περιορισμούς, μπορεί

να προσαρμοστεί στο κάθε άτομο και να εγκαινιάσει την εποχή της εξατομικευμένης ιατρικής στον τομέα του της νόσου του Αλτσχάιμερ. Τα whole genome 'omics' είναι πλέον εφικτά και παρέχουν δεδομένα για όλα τα προϊόντα μεταγραφής του γονιδιώματος και τις θέσεις μεθυλίωσής του. Αυτά τα ευρήματα σε συνδυασμό με πορίσματα άλλων ερευνών θα μπορέσουν τελικά να οδηγήσουν στην εξακρίβωση της βιολογικής αιτιολογίας της νόσου. Οι μελλοντικές προσπάθειες θα επικεντρωθούν στην αποκρυπτογράφηση του τρόπου με τον οποίο αυτές οι παραλλαγές συνδυάζονται και αλληλεπιδρούν ώστε να τροποποιήσουν μονοπάτια και ενδοφαινότυπους με αποτέλεσμα το LOAD. ●

ABSTRACT

Genetic Basis of Alzheimer's Disease

Christina Kanellia, Nikolaos Skoulas, Konstantina Christoforou

University of Patras, School of Health Sciences, Department of Pharmacy, Patras, Greece

Alzheimer's disease is the most common type of dementia, the cause of which is yet to be determined. For this reason, questions arise as to whether this disease is a consequence of genetic factors. The study of the genetic background of the disease led to the discovery of genes and polymorphisms that may be involved in the mechanism of its occurrence. As part of identifying specific genes, various methods and tools such as linkage studies were used to "scan" multiple chromosomal sites throughout the genome, as well as genome-wide association studies (GWAS) aiming at evaluating a collection of genetic variants in the genome. Furthermore, Whole Exome Sequencing (WES) contributed to the sequencing of all genes translated into proteins. However, the

tools mentioned fail to detect polymorphisms of lesser risk but equally important for the onset of the disease. The solution to this problem was provided by the development of Polygenic Risk Scores (PRS) which include all alleles of the genetic loci associated with the disease. Due to these efforts, high-risk genes such as PSEN1, PSEN2 and APP emerged, as well as the APOE, a lower-risk gene, which appears to be, nonetheless, responsible for most cases of the disease. These findings have led to the development of pharmacogenomics and personalized medicine for the treatment of the disease, in addition to the conventional pharmacological approach, giving scientists additional tools in their efforts to halt the progression of Alzheimer's.

KEY WORDS: Alzheimer's disease, Polygenic Risk Scores-PRS, GWAS, Whole exome Sequencing-WES

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Bertram L, Tanzi ER. Genome-Wide Association Studies in Alzheimer's Disease. *Human Molecular Genetics* 2009; 18(R2): R137–45.
2. Brookes KJ, Morgan K. Genetics of Alzheimer's Disease. In *ELS*, American Cancer Society 2017; 1–16. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780470015902.a0020228.pub2> (27/02/2021).
3. Buxbaum JD, Greengard P. Regulation of APP Processing by Intra- and Intercellular Signals. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1996; 777: 327–31.
4. Cady J, Koval ED, Benitez BA, et al. The TREM2 Variant p.R47H Is a Risk Factor for Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis. *JAMA neurology* 2014; 71(4): 449–53.
5. Chapuis J, Hnasmanne F, Gistelink M, et al. Increased Expression of BIN1 Mediates Alzheimer Genetic Risk by Modulating Tau Pathology. *Molecular Psychiatry* 2013; 18(11): 1225–34.
6. Chaudhury S, Karch CM, Jin SC, et al. Alzheimer's Disease Polygenic Risk Score as a Predictor of Conversion from Mild-Cognitive Impairment. *Translational Psychiatry* 2019; 9. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6534556/> (27/02/2021).
7. Cruchaga, Carlos et al. 2014. "Rare Coding Variants in Phospholipase D3 (PLD3) Confer Risk for Alzheimer's Disease." *Nature* 505(7484): 550–54.
8. Duthey B. Background Paper 6.11 Alzheimer Disease and Other Dementias. WHO 2014; Background Paper: 74. https://www.who.int/medicines/areas/priority_medicines/BP6_11_Alzheimer.pdf (15/04/2021)
9. Euesden J, Lewis CM, O'Reilly PF. PRSice: Polygenic Risk Score Software. *Bioinformatics* 2015; 31(9): 1466–68.
10. Fedeli C, Filadi R, Rossi A, Mammucari C, Pizzo P. PSEN2 (Presenilin 2) Mutants Linked to Familial Alzheimer Disease Impair Autophagy by Altering Ca²⁺ Homeostasis. *Autophagy* 2019; 15(12): 2044–62.
11. Gerring ZF, Lupton MK, Edey D, Gamazon ER, Derks EM. An Analysis of Genetically Regulated Gene Expression across Multiple Tissues Implicates Novel Gene Candidates in Alzheimer's Disease. *Alzheimer's Research & Therapy* 2020; 12(1): 43.
12. Hu Y, Zhao T, Zang T, Zhang Y, Cheng L. Identification of Alzheimer's Disease-Related Genes Based on Data Integration Method. *Frontiers in Genetics* 2019; 9. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6355707/> (27/02/2021).
13. Kelleher RJ, Shen J. Presenilin-1 Mutations and Alzheimer's Disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2017; 114(4): 629–31.
14. Lambert JC, Ibrahim-Verbaas CA, Harold D, et al. Meta-Analysis of 74,046 Individuals Identifies 11 New Susceptibility Loci for Alzheimer's Disease. *Nature Genetics* 2013; 45(12): 1452–58.
15. Lloret A, Badía M-C, Mora NJ, et al. Gender and Age-Dependent Differences in the Mitochondrial Apoptogenic Pathway in Alzheimer's Disease. *Free Radical Biology & Medicine* 2008; 44(12): 2019–25.
16. Logue MW, Schu M, Vardarajan BN, et al. Two Rare AKAP9 Variants Are Associated with Alzheimer Disease in African Americans. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association* 2014; 10(6): 609-618.e11.
17. Marioni RE, Harris SE, Zhang Q, et al. GWAS on Family History of Alzheimer's Disease. *Translational Psychiatry* 2018; 8. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5959890/> (25/02/2021).
18. Matarin M, Salih DA, Yasvoina M, et al. A Genome-Wide Gene-Expression Analysis and Database in Transgenic Mice during Development of Amyloid or Tau Pathology. *Cell Reports* 2015; 10(4): 633–44.
19. Mayeux R, Stern Y. Epidemiology of Alzheimer Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 2012; 2(8). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3405821/> (29/03/2021).
20. Mielke MM, Vemuri P, Rocca WA. Clinical Epidemiology of Alzheimer's Disease: Assessing Sex and Gender Differences. *Clinical Epidemiology* 2014; 6: 37–48.
21. O'Brien RJ, Wong PC. Amyloid Precursor Protein Processing and Alzheimer's Disease. *Annual review of neuroscience* 2011; 34: 185–204.
22. Perry G, Nunomura A, Lucassen P, Lassmann H, Smith MA. Apoptosis and Alzheimer's Disease. *Science (New York, N.Y.)* 1998; 282(5392): 1268–69.
23. Peskind ER. Neurobiology of Alzheimer's Disease. *The Journal of Clinical Psychiatry* 1996; 57 Suppl 14: 5–8.
24. Råihä I, Kaprio J, Koskenvuo M, et al. Alzheimer's Disease in Twins. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedicine & Pharmacotherapie* 1997; 51(3): 101–4.
25. Sierksma A, Lu A, Mancuso R, et al. Novel Alzheimer Risk Genes Determine the Microglia Response to Amyloid- β but Not to TAU Pathology. *EMBO Molecular Medicine* 2020; 12(3). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7111111/> (27/02/2021).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- nih.gov/pmc/articles/PMC7059012/ (February 27, 2021).
26. Sims R, van der Lee SJ, Naj AC, et al. Rare Coding Variants in PLCG2, ABI3 and TREM2 Implicate Microglial-Mediated Innate Immunity in Alzheimer's Disease. *Nature genetics* 2017; 49(9): 1373–84.
 27. Steele NZR, Carr JS, Bonham LW, et al. Fine-Mapping of the Human Leukocyte Antigen Locus as a Risk Factor for Alzheimer Disease: A Case–Control Study. *PLoS Medicine* 2017; 14(3). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5369701/> (29/03/2021).
 28. Thinakaran G, Koo EH. Amyloid Precursor Protein Trafficking, Processing, and Function. *Journal of Biological Chemistry* 2008; 283(44): 5.
 29. Viña J, Lloret A. Why Women Have More Alzheimer's Disease than Men: Gender and Mitochondrial Toxicity of Amyloid-Beta Peptide. *Journal of Alzheimer's disease: JAD* 2010; 20 Suppl 2: S527-533.
 30. Wetzel-Smith MK, Hunkapiller J, Bhangale TR, et al. A Rare Mutation in UNC5C Predisposes to Alzheimer's Disease and Increases Neuronal Cell Death. *Nature medicine* 2014; 20(12): 1452–57.
 31. Wirz KTS, Bossers K, Stargardt A, et al. Cortical Beta Amyloid Protein Triggers an Immune Response, but No Synaptic Changes in the APP^{swe}/PS1^{dE9} Alzheimer's Disease Mouse Model. *Neurobiology of Aging* 2013; 34(5): 1328–42.
 32. Zhang B, Gaiteri C, Bodea L-G. Integrated Systems Approach Identifies Genetic Nodes and Networks in Late-Onset Alzheimer's Disease. *Cell* 2013; 153(3): 707–20.
 33. Zhao N, Liu C-C, Qiao W, et al. Apolipoprotein E, Receptors and Modulation of Alzheimer's Disease. *Biological psychiatry* 2018; 83(4): 347–57.