



**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: Άνοιξη: Γενετική Ανάλυση.**

**Α. Γενετική ανάλυση στο Εργαστήριο Νευρογενετικής, Α Νευρολογική Κλινική, ΕΚΠΑ**

**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): Εργαστήριο Νευρογενετικής, Α Νευρολογική Κλινική (ΕΚΠΑ)**

## Άνοιες: Γενετική Ανάλυση.

### A. Γενετική ανάλυση στο Εργαστήριο Νευρογενετικής, Α Νευρολογική Κλινική, ΕΚΠΑ

**ΕΕ3.** Βιοχημικός και μοριακός χαρακτηρισμός του βιολογικού υλικού με στόχο την ανάδειξη της γενετικής βάσης των νευροεκφυλιστικών νόσων Alzheimer και Parkinson

**ΠΑΡΑΔΟΤΕΟ.** Άνοιες: Γενετική Ανάλυση.

A. Γενετική ανάλυση στο Εργαστήριο Νευρογενετικής, Α Νευρολογική Κλινική, ΕΚΠΑ

#### **ΣΥΝΤΟΜΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ / ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Το παρόν έργο είχε ως αντικείμενο τη συστηματική γενετική διερεύνηση δειγμάτων DNA που συλλέχθηκαν από τους κλινικούς φορείς του έργου από ασθενείς με Ανοιχκή Συνδρομή Πρώιμης Έναρξης, συμπεριλαμβανομένων ασθενών με Μετωποκροταφική Άνοια (ΜΚΑ), Μετωποκροταφική Άνοια με χαρακτηριστικά Νόσου Alzheimer (ΜΚΑ-ΝΑ) και Νόσο Alzheimer (ΝΑ).

Στο σύνολο των περιστατικών με ισχυρή ένδειξη γενετικού υποβάθρου εφαρμόστηκε αρχικά στοχευμένος γενετικός έλεγχος για την ταυτοποίηση της παθογόνου εξανουκλεοτιδικής επέκτασης GGGGCC (>30 επαναλήψεις) στο γονίδιο *CSORF72*, στο Εργαστήριο Νευρογενετικής της Α' Νευρολογικής Κλινικής του Αιγινήτειου Νοσοκομείου.

Η συγκεκριμένη γενετική βλάβη αποτελεί τη συχνότερη γνωστή γενετική αιτία πλαγίας μυατροφικής σκλήρυνσης (amyotrophic lateral sclerosis, ALS) και ανιχνεύεται σε σημαντικό ποσοστό ασθενών με ΜΚΑ, ιδίως σε οικογενείς μορφές της νόσου. Σε διεθνείς σειρές ασθενών, η συγκεκριμένη γενετική βλάβη ανευρίσκεται σε περίπου 40% των οικογενών περιστατικών ALS και σε περίπου 7-10% των σποραδικών μορφών, ενώ ευθύνεται για περίπου 25% των οικογενών μορφών ΜΚΑ. Αντίθετα, η παρουσία της επέκτασης σε ασθενείς με ΝΑ είναι σαφώς σπανιότερη (π.χ. ~1-2% σε ελληνικό πληθυσμό). Τα δεδομένα αυτά τεκμηριώνουν τη σημαντικά μεγαλύτερη διαγνωστική απόδοση του ελέγχου *CSORF72* στη ΜΚΑ σε σύγκριση με τη ΝΑ.

Στις περιπτώσεις που ο έλεγχος ήταν αρνητικός, και υπήρχε ακόμη υψηλή υποψία Μεντέλειας γενετικής βάσης της νόσου, ακολούθησε, σε πολύ περιορισμένο αριθμό δειγμάτων, διερεύνηση, για παθογόνες σημειακές παραλλαγές, όλης της κωδικοποιού περιοχής του γονιδιώματος (Whole Exome Sequencing, WES) (Εργαστήριο Νευρογενετικής, Αιγινήτειο Νοσοκομείο, Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής σε συνεργασία και με το ΙΙΒΕΑΑ).

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΠΟΡΕΙΑΣ ΥΛΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ ΕΕ

Συνολικά, κατά την περίοδο Ιουνίου 2023 - Δεκεμβρίου 2025 συλλέχθηκε γενετικό υλικό (DNA) από 126 ασθενείς και ολοκληρώθηκε ο γενετικός έλεγχος για την εξανουκλεοτιδική επέκταση στο γονίδιο C9ORF72 σε 117 δείγματα (93%). Η παθολόγος επέκταση εντοπίστηκε σε 3 ασθενείς με ΜΚΑ, εύρημα το οποίο ήταν συμβατό με τα διεθνή δεδομένα που υποδεικνύουν υψηλότερη συχνότητα της συγκεκριμένης γενετικής βλάβης στη ΜΚΑ σε σχέση με τη ΝΑ.

Στον πίνακα 1 παρατίθενται αναλυτικά οι γενετικοί έλεγχοι που πραγματοποιήθηκαν. Η πληροφορία αυτή αναρτήθηκε στο σύστημα της ιστοσελίδας του ΕΔΙΑΝ και έγινε σχετική επικοινωνία με τους ασθενείς για την κοινοποίηση των αποτελεσμάτων. Το ίδιο έγινε και με τα αρνητικά αποτελέσματα.

ΝΟΣΗΜΑ	ΓΟΝΙΔΙΟ (παραλλαγή)	ΑΡ. ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΕΛΕΓΧΩΝ (παραπομπή)	ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΟΙ ΕΛΕΓΧΟΙ	Αρ. ΘΕΤΙΚΩΝ	ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ
ΝΑ (AD)	C9ORF72 (GGGGCC rpt)	38	38 (100%)	0	PCR, RP-PCR & fragment analysis
ΜΚΑ (FTD)	C9ORF72 (GGGGCC rpt)	24	23 (96%)	3 (13%)	PCR, RP-PCR & fragment analysis
ΛΟΙΠΕΣ ΑΝΟΙΞΕΣ (CBS, PSP, PCA, ανοϊκό σύνδρομο)	C9ORF72 (GGGGCC rpt)	64	56 (88%)	0	PCR, RP-PCR & fragment analysis
<b>ΣΥΝΟΛΟ</b>		126	117 (93%)	3 (2,6%)	PCR, RP-PCR & fragment analysis

### Πίνακας 1: Γενετική διερεύνηση της εξανουκλεοτιδικής επανάληψης στο γονίδιο C9ORF72

Η ανίχνευση της εξανουκλεοτιδικής επέκτασης πραγματοποιήθηκε με τη μεθοδολογία Repeat-Primed PCR (RP-PCR), η οποία αποτελεί διεθνώς τη βασική και πλέον αξιόπιστη προσέγγιση για τη διερεύνηση δυναμικών παραλλαγών, δηλαδή επεκτάσεων νουκλεοτιδικών επαναλήψεων. Η εφαρμογή και καθιέρωση του πρωτοκόλλου RP-PCR είναι ιδιαίτερα απαιτητική σε περιοχές πλούσιες σε GC, όπως η επανάληψη GGGGCC του C9ORF72, όπου η συμβατική PCR αποτυγχάνει συχνά να ανιχνεύσει παθολογικές επεκτάσεις.

Το Εργαστήριο της Μονάδας Νευρογενετικής του Αιγινήτειου Νοσοκομείου, ως πρωτοπόρος Μονάδα, κατάφερε να εγκαταστήσει και να βελτιστοποιήσει τη συγκεκριμένη τεχνική ήδη από την πρώτη περίοδο δημοσίευσης της εμπλοκής του C9ORF72 στα νευροεκφυλιστικά νοσήματα. Η καθιέρωση του πρωτοκόλλου RP-PCR σε εθνικό επίπεδο έχει ιδιαίτερη κλινική και ερευνητική σημασία, καθώς:

- Επιτρέπει αξιόπιστη και έγκαιρη διάγνωση σε ασθενείς με ύποπτο οικογενειακό ιστορικό.
- Διασφαλίζει υψηλή αναλυτική ευαισθησία για μεγάλες επεκτάσεις που δεν ανιχνεύονται με συμβατικές μεθόδους.
- Υποστηρίζει τη γενετική συμβουλευτική και τον προγνωστικό σχεδιασμό.
- Συμβάλλει στη δημιουργία εθνικών επιδημιολογικών δεδομένων για τον ελληνικό πληθυσμό.
- Παρέχει τη δυνατότητα συμμετοχής σε διεθνή ερευνητικά δίκτυα και κλινικές μελέτες.



Η Μονάδα Νευρογενετικής έχει δημοσιεύσει επανειλημμένα δεδομένα σχετικά με τη συχνότητα της συγκεκριμένης παραλλαγής σε Έλληνες ασθενείς με πλάγια μυατροφική σκλήρυνση, Μετωποκροταφική Άνοια, Νόσο Alzheimer και Νόσο Parkinson, προσφέροντας τεκμηριωμένη βάση για την ενσωμάτωση του ελέγχου C9ORF72 στη διαγνωστική πρακτική.

### Περαιτέρω γενετική διερεύνηση (WES)

Σε περιπτώσεις με αρνητικό έλεγχο για την επέκταση C9ORF72 αλλά ισχυρή ένδειξη Μεντελειανής κληρονομησης, πραγματοποιήθηκε σε περιορισμένο αριθμό δειγμάτων αλληλούχηση όλης της κωδικοποιού περιοχής του γονιδιώματος (Whole Exome Sequencing - WES), σε συνεργασία μεταξύ του Εργαστηρίου Νευρογενετικής, του Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής και του ΙΙΒΕΑΑ.

Από τους ασθενείς που πληρούσαν τα κριτήρια, μόνο σε τρεις κατέστη εφικτή η περαιτέρω διερεύνηση λόγω οικονομικών περιορισμών της ΕΕ. Δεν εντοπίστηκαν παθογόνες σημειακές παραλλαγές σε κανέναν από αυτούς.

### Συμβολή του έργου

Τα αποτελέσματα της παρούσας ΕΕ παρείχαν πρόσθετα δεδομένα για το γενετικό υπόβαθρο της πρώιμης άνοιας στον ελληνικό πληθυσμό, ενισχύοντας τη διαγνωστική στρατηγική και τη γενετική συμβουλευτική. Τα αποτελέσματα κοινοποιήθηκαν στους ασθενείς μέσω του συστήματος της ιστοσελίδας του ΕΔΙΑΝ.

Η ερευνητική δραστηριότητα παρουσιάστηκε σε επιστημονική ημερίδα της Ελληνικής Εταιρείας Άνοιας (Αθήνα 2023):

- « Η μετωποκροταφική εκφύλιση-Οι πολλές διαστάσεις της νόσου. γενετική βάση της Μετωποκροταφικής Άνοιας», όπου έγινε αναφορά στην παρούσα ΕΕ. Αθήνα, 2023. Ομιλία της Γ. Καραδήμα

Συναφής μελέτη για το *CSORF72* παρουσιάστηκε σε διεθνή (ESHG CEAN) και ελληνικά συνέδρια ( Πανελλήνιο ΕΝΕ C ΣΙΓΕ) και δημοσιεύτηκε τελικά στο «Amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal degeneration» το 2025 η παρακάτω εργασία :

- **Unraveling the genetic landscape of ALS in Greece: identification of known and novel causative variants in a 353-patient cohort.** Chrisoula Kartanou<sup>1</sup>, Zoi Kontogeorgiou<sup>1</sup>, Theodoros Loupis<sup>2</sup>, Dimitrios M Vrachnos<sup>2</sup>, Nikolaos Ragazos<sup>1</sup>, Ifigenia Spyropoulou<sup>1</sup>, Maria Petraki<sup>1</sup>, Chrysoula Koniari<sup>1</sup>, Stavroula Aristeidou<sup>3</sup>, Eleftheria Koropouli<sup>3</sup>, Ariadne Daponte<sup>3</sup>, Michail Rentzos<sup>3</sup>, Elisabeth Kapaki<sup>3</sup>, Marios Panas<sup>1</sup>, Periklis Makrythanasis<sup>4,5,6</sup>, Leonidas Stefanis<sup>3</sup>, Georgios Koutsis<sup>1\*</sup>, Georgia Karadima<sup>1\*</sup> (\* Equal contribution)

Η δημοσίευση αυτή αφορά και σε κάποιους ασθενείς με ALS από την πρώτη εμβληματική (ΕΔΙΑΝ)

των οποίων τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν μέσω βιοπληροφορικής ανάλυσης και δημοσιεύθηκαν κατά την περίοδο της δεύτερης εμβληματικής (BRAIN PRECISION) και καταγράφει την γενετική εικόνα των Ελλήνων ασθενών με ALS συμβάλλοντας σε καλύτερη πρόγνωση σε έγκυρη και έγκαιρη διάγνωση. Παρότι το παρόν έργο δεν περιλάμβανε τη μελέτη της ALS, η αναφορά θεωρείται σημαντική και σχετική λόγω ερευνητικής συνέχειας με την πρώτη εμβληματική δράση (ΕΔΙΑΝ). Επιπλέον, η πολύπλοκη βιοπληροφορική ανάλυση των δεδομένων, αρχικά σε μορφή WGS, που απλοποιήθηκε κατόπιν σε WES VCFs, πραγματοποιήθηκε κατά την διάρκεια του Brain Precision από την ομάδα της Νευρογενετικής, σε συνεργασία με το Εργαστήριο Γενετικής της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ, και βελτίωσε σημαντικά την τεχνογνωσία της ομάδας στο πεδίο αυτό. Επιπλέον, υπάρχει σημαντική επικάλυψη των φαινοτύπων ALS και FTD, με πολύ συχνή την ταυτοποίηση γενετικού αιτίου στο φάσμα αυτό, με πολύ χαρακτηριστική την ανεύρεση C9ORF72 επέκτασης. Στο δείγμα της συγκεκριμένης μελέτης συμπεριλαμβάνονται και ασθενείς με φαινότυπο ALS-FTD.

Για τον ίδιο λόγο στα παραδοτέα συμπεριλαμβάνεται και εργασία υπό δημοσίευση στο Movement Disorders Clinical Practice που αφορά ασθενή με άνοια και βασικό φαινότυπο PSP, ο οποίος διερευνήθηκε με WES στο πλαίσιο της πρώτης εμβληματικής δράσης (ΕΔΙΑΝ). Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο NPC1 επιβεβαιώθηκαν στον ίδιο με Sanger Sequencing και ανιχνεύθηκαν και σε 3 αδέρφια του με διαφορετικούς επικαλυπτόμενους φαινοτύπους νευροεκφυλιστικής νόσου, θέτοντας την διάγνωση μιας εν δυνάμει θεραπεύσιμης γενετικής νόσου, της Niemann Pick Type C, σε 4 άτομα της ίδιας οικογένειας.

**Niemann Pick Type C presenting as familial late-onset Richardson syndrome.**  
Constantinides V, MD, PhD, Koros C, MD, PhD, Kyrozis A, MD, PhD, Papathanasiou E, MD, Manginas C, MD, Armenis G, MD, Kalligerou F, MD, Daskalaki A, MD, Koniari C, MD, Ragazos N, MD, Kontogeorgiou Z, PhD, Kartanou C, PhD, Linardaki E, PhD, Tavernarakis N, PhD, Karadima G, PhD, Koutsis G, MB BChir, PhD, Kapaki E, MD, PhD, Scarneas N, MD, PhD, Stefanis L, MD, PhD, Papageorgiou S. MD, PhD.