

HEALTHY NEURAL NETWORKS

DOPAMINERGIC PATHWAY DISRUPTION (PARKINSON'S)

AMYLOID & TAU PATHOLOGY (ALZHEIMER'S)

# BRAINPRECISION

UNDERSTAND. TARGET. TRANSFORM.

ΚΩΔΙΚΟΣ ΠΡΑΞΗΣ: TAEDR-0535850

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:** Μελέτη νέων βιοδεικτών νευροεκφύλισης στα ανοϊκά σύνδρομα / Βιοχημικές μελέτες σε πλάσμα, Μονάδα Νευροχημείας και Βιολογικών Δεικτών

**ΕΝΟΤΗΤΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ 4:** Ανάπτυξη κυτταρικών και ζωικών μοντέλων, καθώς και νέων βιοδεικτών για τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες Alzheimer και Parkinson.

**ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΟΜΑΔΑ (ΦΟΡΕΑΣ):** ΕΛΙΣΑΒΕΤ ΚΑΠΑΚΗ (ΕΚΠΑ)

## Μελέτη νέων βιοδεικτών νευροεκφύλισης στα ανοϊκά σύνδρομα Βιοχημικές μελέτες σε πλάσμα, Μονάδα Νευροχημείας και Βιολογικών Δεικτών

**Ενότητα Εργασίας 4:** Ανάπτυξη κυτταρικών και ζωικών μοντέλων, καθώς και νέων βιοδεικτών για τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες Alzheimer και Parkinson. (Φορέας: ΙΔΡΥΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΕΡΕΥΝΑΣ)

**Τίτλος Παραδοτέου. :** Μελέτη νέων βιοδεικτών νευροεκφύλισης στα ανοϊκά σύνδρομα

**A.** Βιοχημικές μελέτες σε πλάσμα, Μονάδα Νευροχημείας και Βιολογικών Δεικτών

**Ερευνητική ομάδα:** Ελισσάβητ/Καπάκη/ΕΚΠΑ. Συμμετοχή: Γιώργος Παρασκευάς, Φωτεινή Μπουφίδου, Βασίλης Κωνσταντινίδης

### **ΣΥΝΤΟΜΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ / ΕΙΣΑΓΩΓΗ (γενικά για Παραδοτέο 4.1.)**

Στο βιολογικό υλικό που θα συλλεγεί στα ανοϊκά σύνδρομα στα πλαίσια του έργου, πέραν των καθιερωμένων δεικτών νευροεκφύλισης στο ENY, θα γίνει και ανάλυση για πιθανούς καινούργιους βιοχημικούς δείκτες, που είτε δεν είναι ακόμη πλήρως καθιερωμένοι, είτε είναι καθαρά διερευνητικοί σε αυτή την φάση. Ειδικά για τις περιπτώσεις με πιθανή Μετωποκροταφική Άνοια, θα γίνουν μετρήσεις μέσω ELISA της προγκρανουλίνης στο πλάσμα. Η προγκρανουλίνη είναι μια πλειοτροπική εκκριτική πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από το GRN γονίδιο. Εμπλέκεται σε μια σωρεία βιολογικών μονοπατιών, όπως της φλεγμονής, της επιβίωσης των νευρικών κυττάρων, της ανάπτυξης και της ογκογένεσης. Μεταλλάξεις του γονιδίου GRN οδηγούν σε απλοανεπάρκεια με χαμηλά έως και μη ανιχνεύσιμα επίπεδα προγκρανουλίνης στο πλάσμα και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Σκοπός της μελέτης είναι ο η δημιουργία και η εφαρμογή ενός αξιόπιστου πρωτοκόλλου ELISA για τον προσδιορισμό των επιπέδων προγκρανουλίνης στο πλάσμα και η ανεύρεση τιμών αναφοράς κατόπιν μετρήσεων σε υγιή άτομα ελέγχου από τον ελληνικό πληθυσμό. Απώτερος στόχος είναι η δυνατότητα εφαρμογής της μεθοδολογίας ως εργαλείο ανίχνευσης για τον αρχικό εντοπισμό ασθενών με πιθανή μετωποκροταφική άνοια οφειλόμενη σε μεταλλάξεις GRN μέσω μιας ελάχιστα επεμβατικής και μη δαπανηρής μεθόδου σε σχέση με την οσφυονωτιαία παρακέντηση και το WES και ως ερευνητικό εργαλείο προκειμένου να διερευνηθεί η πιθανότητα συμμετοχής της προγκρανουλίνης στην παθολογία περισσότερων νευροεκφυλιστικών και άλλων νοσημάτων.

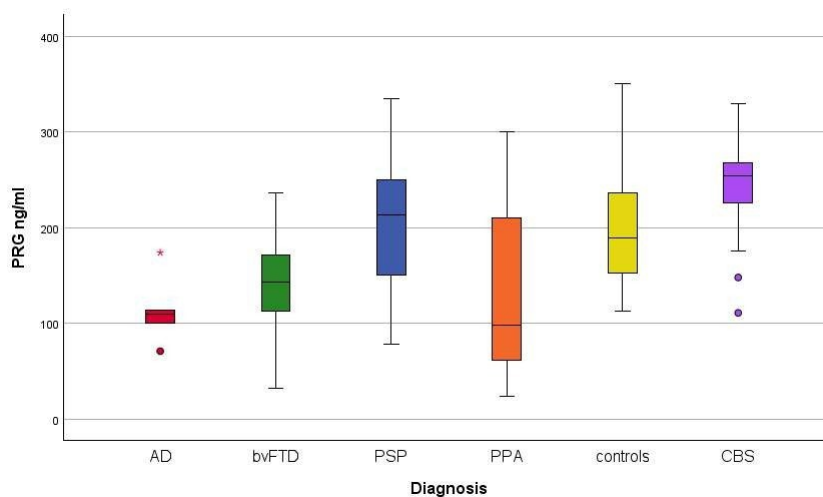
### **ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΠΟΡΕΙΑΣ ΥΛΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ ΕΕ ΑΠΟ ΤΗ ΜΝΒΔ– ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ**

Για τις μετρήσεις προγκρανουλίνης, δοκιμάσθηκαν 3 διαφορετικά εμπορικά διαθέσιμα κιτ

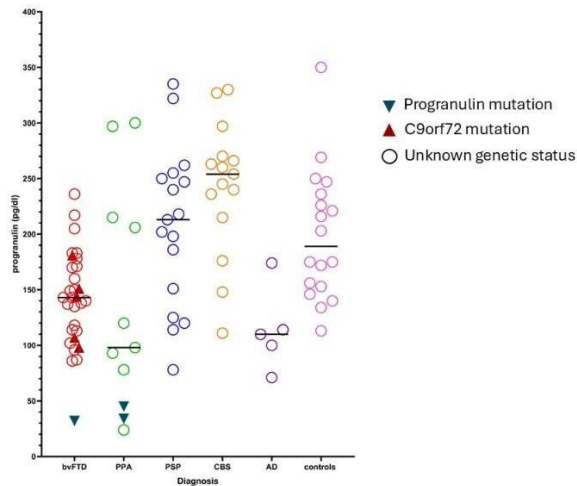
ELISA και διαφορετικές αραιώσεις των δειγμάτων. Επιτεύχθηκε η εξαγωγή αξιόπιστων αποτελεσμάτων και η δημιουργία πρωτοκόλλου με πολύ καλή ευαισθησία, ειδικότητα και αναπαραγωγιμότητα. Ακολούθησε η εφαρμογή του πρωτοκόλλου στον αυτόματο αναλυτή ELISA της MNBD για ακόμη μεγαλύτερη ακρίβεια. Μέσω αυτής της μεθόδου πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της προγκρανουλίνης πλάσματος σε 161 ασθενείς διαγνωσμένους με νευροεκφυλιστικές ασθένειες (μετωποκροταφική άνοια – FTD - συμπεριλαμβανομένων μεταλλάξεων στο GRN γονίδιο και στο C9ORF πλαίσιο ανάγνωσης, προϊούσα υπερπυρηνική παράλυση-PSP, φλοιοβασική εκφύλιση-CBS, νόσο Alzheimer-AD, πρωτοπαθή προϊούσα αφασία-PPA) και 40 δείγματα ελέγχου (controls).

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα επίπεδα προγκρανουλίνης των ασθενών, συμπεριλαμβανομένων των C9orf72 θετικών αλλά και της ομάδας ελέγχου διέφεραν σημαντικά από τα επίπεδα των φορέων μεταλλάξεων στο γονίδιο GRN. Η προγκρανουλίνη πλάσματος θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως βιοδείκτης πρόβλεψης GRN μεταλλάξεων και να συμβάλλει στο διαχωρισμό γενετικών μορφών GRN-FTD από σποραδικές μορφές ή μεταλλάξεις σε άλλα γονίδια. Τα διαχωριστικά όρια, οι τιμές αναφοράς στον ελληνικό πληθυσμό και πιθανές ενδείξεις συμμετοχής της προγκρανουλίνης στην παθογένεση και άλλων νευροεκφυλιστικών ανοιών αναμένεται να αναδειχθούν από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων η οποία βρίσκεται σε εξέλιξη. Από τη στατιστική ανάλυση για τις πρώτες 96 μετρήσεις (bvFTD n=30, PPA n=11, PSP n=17, CBS n=15, AD n=5, controls n=18: 48% των δειγμάτων) έχουμε τα παρακάτω ευρήματα:



**Διάγραμμα μέσων τιμών ανά νόσο/ Post-hoc σύγκριση επιπέδων προγκρανουλίνης μεταξύ των διαφορετικών ομάδων:** Οι πάσχοντες από AD είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα προγκρανουλίνης σε σχέση με τους πάσχοντες από CBS ( $p=0.002$ ), οι πάσχοντες από CBS είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα σε σχέση με τους πάσχοντες από bvFTD ( $p<0.001$ ) και PPA ( $p<0.001$ ), οι πάσχοντες από bvFTD είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα προγκρανουλίνης σε σχέση με τους υγιείς ( $p=0,048$ ) και τους πάσχοντες από PSP ( $p=0,016$ ).



**Scatterplot τιμών:** Τα επίπεδα προγκρανουλίνης των ασθενών, συμπεριλαμβανομένων των C9orf72 θετικών αλλά και της ομάδας ελέγχου διέφεραν σημαντικά από τα επίπεδα των φορέων μεταλλάξεων στο γονίδιο GRN.

#### Coordinates of the ROC Curve

Test Result Variable(s): PRG ng/ml

Positive if Less Than or Equal To <sup>a</sup>	Sensitivity	1 - Specificity	Youden's Index
23,00	,000	,000	,000
28,00	,000	,011	-,011
33,00	,333	,011	,323
39,50	,667	,011	,656
58,00	1,000	,011	,989
74,50	1,000	,022	,978

**ROC curve analysis:** Τιμή <58 pg/ml είχε ευαισθησία 100% και ειδικότητα 98.9% για διάγνωση μετάλλαξης PGRN.

#### ΠΙΘΑΝΕΣ ΛΟΙΠΕΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

Στα δείγματα συμπεριελήφθησαν σε μεγάλο ποσοστό και δείγματα εκτός έργου, από τη βιοτράπεζα της ΜΝΒΔ, ώστε να συμπληρωθεί ένα ικανό πλήθος αρκετά σπάνιων διαγνώσεων και ασθενών ανά διάγνωση. Ο εργαστηριακός προσδιορισμός της προγκρανουλίνης πλάσματος πραγματοποιήθηκε από τη ΜΝΒΔ κατά 80% ιδίως πόροις, λόγω υπέρβασης του προϋπολογισμού του έργου.

#### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Swift et al. A systematic review of progranulin concentrations in biofluids in over 7,000



Ελλάδα 2.0  
ΕΘΝΙΚΟ ΣΧΕΔΙΟ ΑΝΑΚΑΜΨΗΣ  
ΚΑΙ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ



Με τη χρηματοδότηση  
της Ευρωπαϊκής Ένωσης  
NextGenerationEU

people—assessing the pathogenicity of GRN mutations and other influencing factors. *Alzheimer's Research & Therapy* (2024) 16:66, doi.org/10.1186/s13195-024-01420-z

•Life BE, Leavitt BR. Progranulin function and regulation in the CNS. *Trends Neurosci.* 2025 Jul;48(7):523-537. doi: 10.1016/j.tins.2025.05.004Εισαγωγή.



Ελλάδα 2.0 ΕΘΝΙΚΟ ΣΧΕΔΙΟ ΑΝΑΚΑΜΨΗΣ ΚΑΙ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ  
Εμβληματικές δράσεις σε διαθεματικές επιστημονικές περιοχές με ειδικό ενδιαφέρον για την σύνδεση με τον παραγωγικό ιστό, ID 16618  
Κωδικός πράξης: ΤΑΕΔΡ-0535850