



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: Καταγραφή πασχόντων / βιοτράπεζα υλικού Κρητικών ασθενών με νόσο Alzheimer

ΕΝΟΤΗΤΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ 2: Καταγραφή πασχόντων και δημιουργία τράπεζας βιολογικού υλικού των νευροεκφυλιστικών νόσων Alzheimer και Parkinson και των πρόδρομων μορφών τους

ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΟΜΑΔΑ (ΦΟΡΕΑΣ): ΙΩΑΝΝΗΣ ΖΑΓΑΝΑΣ (ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ)

Καταγραφή πασχόντων / βιοτράπεζα υλικού Κρητικών ασθενών με νόσο Alzheimer

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Η ερευνητική ομάδα με Επιστημονικά Υπεύθυνο τον **Καθ. Ιωάννη Ζαγανά**, είχε θέσει ως στόχο την εντόπιση 100 ασθενών με νόσο Alzheimer (AD) και 100 γνωστικών φυσιολογικών μαρτύρων με αντιστοίχιση ως προς ηλικία, φύλο και επίπεδο εκπαίδευσης. Αυτοί οι συμμετέχοντες προέρχονται από τη δεξαμενή ασθενών που παρακολουθούνται στην Κλινική Μνήμης, Νευρολογικό Τμήμα, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ηρακλείου Κρήτης, όπως και τους συγγενείς τους.

Για τους ασθενείς με AD, ακολουθούνται όλες οι διαδικασίες που χρησιμοποιούνται στην κλινική πρακτική ρουτίνας, συμπεριλαμβανομένων εξετάσεων αίματος και μαγνητικής τομογραφίας για τον αποκλεισμό άλλων αιτιών άνοιας. Επίσης, ένας εκπαιδευμένος νευροψυχολόγος πραγματοποιεί εκτεταμένη αξιολόγηση ασθενών και μαρτύρων, για να χαρακτηρίσει καλύτερα τον φαινότυπο τους, ακολουθώντας τυπικές ερευνητικές μας διαδικασίες (Zaganas et al, Am J Alzheimers Dis Other Demen, 2019). Στη συνέχεια, η λαμβάνονται δείγματα αίματος για απομόνωση DNA (και αργότερα εξαγωγή PBMC πλάσματος, ορού, και RNA). Τα δείγματα μεταφέρονται στο Εργαστήριο Νευρολογίας / Νευρογενετικής για απομόνωση πλάσματος, ορού και DNA με διαδικασίες που έχουμε ήδη περιγράψει (Mathioudakis et al, Neurobiol Aging, 2022, Bourbouli et al, Brain Sci, 2021) και αργότερα σε συνεργαζόμενα εργαστήρια για απομόνωση PBMCs. Τα εξαγόμενα δείγματα αποθηκεύονται στους -80°C μέχρι περαιτέρω χρήση.

Καταγραφή πασχόντων / Βιοτράπεζα υλικού Κρητικών ασθενών με νόσο Alzheimer

Το παρόν παραδοτέο στοχεύει στην ένταξη και πλήρη φαινοτυπική και γενετική διερεύνηση 100 ασθενών με νόσο Alzheimer (AD) και 100 γνωστικά φυσιολογικών υγιών μαρτύρων, με αντιστοίχιση ως προς ηλικία, φύλο και επίπεδο εκπαίδευσης. Οι συμμετέχοντες προέρχονται από τη δεξαμενή ασθενών που παρακολουθούνται στην Κλινική Μνήμης της Νευρολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου (ΠΑΓΝΗ), καθώς και από συγγενείς τους.

Στρατολόγηση και διαγνωστικός έλεγχος συμμετεχόντων

Ακολουθώντας καθιερωμένες ερευνητικές διαδικασίες (Zaganas et al., 2019), έως σήμερα έχουν εξεταστεί συνολικά 188 συμμετέχοντες, εκ των οποίων:

- 74 ασθενείς με νόσο Alzheimer
- 67 άτομα με ήπια γνωστική διαταραχή (MCI)
- 47 άτομα με υποκειμενική γνωστική έκπτωση ή χωρίς γνωστικά ελλείμματα

Επιπλέον, 23 άτομα αποκλείστηκαν λόγω παρουσίας μικτής παθολογίας ή μη επιβεβαιωμένης διάγνωσης.

Οι συμμετέχοντες εξετάζονται κλινικά από εκπαιδευμένο νευρολόγο (Ι. Ζαγανά) και προς εκπαίδευση νευρολόγο (Α. Ζαμπετάκη), ενώ η νευροψυχολογική αξιολόγηση πραγματοποιείται από εξειδικευμένο νευροψυχολόγο, με στόχο την ακριβέστερη φαινοτυπική ταξινόμηση.

Για όλους τους συμμετέχοντες πραγματοποιήθηκαν 2–3 επισκέψεις διάρκειας περίπου 2 ωρών, κατά τις οποίες διενεργήθηκαν:

- αναλυτική κλινική και δημογραφική συνέντευξη
- πλήρες ιατρικό και οικογενειακό ιστορικό
- πλήρης νευρολογική εξέταση
- εκτεταμένος νευροψυχολογικός έλεγχος
- συμπλήρωση ερωτηματολογίων διατροφής, συναισθήματος και καθημερινής λειτουργικότητας

Παράλληλα, πραγματοποιήθηκε εργαστηριακός και απεικονιστικός έλεγχος (MRI, CT, FDG-PET), σύμφωνα με τον συνήθη διαγνωστικό αλγόριθμο, ενώ η διάγνωση τέθηκε βάσει διεθνών κριτηρίων.

Όλες οι διαδικασίες ακολούθησαν τυποποιημένα πρωτόκολλα, διασφαλίζοντας την ποιότητα και συγκρισιμότητα των δεδομένων. Το πρωτόκολλο έχει κατατεθεί στην Επιτροπή Δεοντολογίας του ΠΑΓΝΗ.

Συλλογή και επεξεργασία βιολογικού υλικού – Βιοτράπεζα

Μετά την ολοκλήρωση του διαγνωστικού ελέγχου, πραγματοποιήθηκε αιμοληψία σε όλους τους συμμετέχοντες και ακολούθησε:

- φυγοκέντρηση
- απομόνωση πλάσματος και ορού
- αποθήκευση στους -80°C

Η διαδικασία ακολουθεί πρωτόκολλα βιοτράπεζας που έχουν ήδη περιγραφεί στη βιβλιογραφία (Mathioudakis et al., 2022; Bourbouli et al., 2021). Η εργαστηριακή επεξεργασία πραγματοποιείται σε συνεργασία με την ομάδα της κ. Κεκλίκογλου (Επίκ. Καθηγήτρια ΠΚ), μέλος του συγκεκριμένου έργου επίσης.

Έχει ήδη δημιουργηθεί οργανωμένη βάση βιολογικών δειγμάτων, κατάλληλη για μελλοντικές μοριακές και βιοχημικές αναλύσεις.

Γενετικές αναλύσεις – APOE και Whole Exome Sequencing

Το επόμενο διάστημα προγραμματίζεται η ολοκλήρωση των DNA extractions και ο προσδιορισμός του αλληλομόρφου APOE ε4, αναμένοντας – βάσει προηγούμενης εμπειρίας από την Cretan Aging Cohort – ότι περίπου 25% των ασθενών και 7% των μαρτύρων θα φέρουν το APOE ε4.

Ήδη, σε 21 ασθενείς με AD και σημαντικό οικογενειακό ιστορικό άνοιας, έχει πραγματοποιηθεί Whole Exome Sequencing (WES) σε συνεργασία με την ομάδα της Δρ. Λιναρδάκη στο ΙΤΕ, ενώ αναμένεται να πραγματοποιηθεί σε άλλους 4 ασθενείς τον επόμενο μήνα. Τα δεδομένα αυτά βρίσκονται σε διαδικασία ανάλυσης.

Η εμπειρία της ομάδας σε γενετικές αναλύσεις και εφαρμογή WES σε ασθενείς με άνοια τεκμηριώνεται και από πρόσφατες δημοσιεύσεις της, όπως η μελέτη NOTCH3/CADASIL στην Κρήτη (Zaganas et al., Brain and Behavior, 2025), όπου αναφέρεται η υποστήριξη από το πρόγραμμα Brain Precision.

Κυτταρικά μοντέλα – *In vitro* μελέτη APOE ε4.

Μετά τον προσδιορισμό του APOE αλληλίου, PBMCs από ασθενείς με AD που φέρουν το APOE ε4 και υγιείς δότες χωρίς APOE ε4 θα χρησιμοποιηθούν στο μέλλον για επαναπρογραμματισμό προς επαγόμενα Νευρικά Βλαστικά Κύτταρα, τα οποία μπορούν να διαφοροποιηθούν σε νευρώνες και αστροκύτταρα μετά την βελτιστοποίηση των συνθηκών η οποία πραγματοποιήθηκε σε άλλα πακέτα εργασίας.

Δυσκολίες που αντιμετωπίσαμε

Οι βασικές προκλήσεις αφορούν:

- δυσκολία στρατολόγησης ασθενών με AD χωρίς μικτή παθολογία
- αυξημένο φόρτο λόγω της ανάγκης 2–3 επισκέψεων ανά συμμετέχοντα
- περιορισμένη διαθεσιμότητα ασθενών να ολοκληρώσουν πολύωρες διαδικασίες

Οι δυσκολίες αντιμετωπίζονται με αναπροσαρμογή του χρονοδιαγράμματος και συνεργασία με άλλα εργαστήρια.

Προγραμματισμός επόμενων βημάτων

1. Ολοκλήρωση στρατολόγησης έως 06/2026
2. Ολοκλήρωση DNA extraction και APOE ε4 genotyping έως 03/2026
3. Επέκταση WES αναλύσεων από 02/2026
4. Έναρξη *in vitro* μελετών ApoE4 από 04/2026
5. Προκαταρκτική στατιστική ανάλυση
6. Προετοιμασία επιστημονικών δημοσιεύσεων