

8. Ottobre

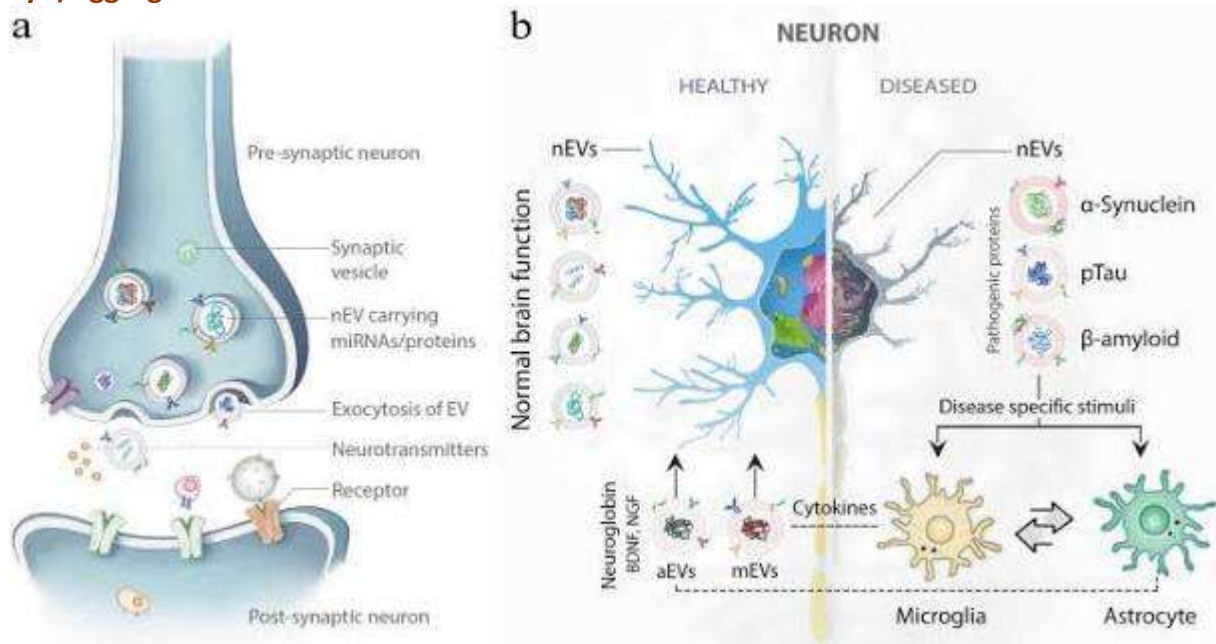
La profilazione elettronica delle vescicole extracellulari neuronali consente la previsione precoce della malattia di Parkinson

Le previsioni sono estremamente difficili.

Specialmente sul futuro.

Niels Bohr

La **malattia di Parkinson (PD)** è una patologia neurodegenerativa progressiva caratterizzata dalla presenza di corpi di Lewy, inclusioni intracellulari composte principalmente da **alfa-sinucleina (α -Syn) aggregata**



Heinzel S et MDS Task Force on the Definition of Parkinson's Disease. Update of the MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2019 Oct;34(10):1464-1470.

La fase prodromica della PD può durare più di un decennio, con sintomi non motori e lievi cambiamenti motori che emergono prima della diagnosi clinica. Il disturbo idiopatico del comportamento durante il sonno REM (iRBD) è uno dei più forti predittori di sinucleinopatia, con fino all'80% dei pazienti che sviluppano la PD o disturbi correlati entro 12 anni

Heinzel S, Berg D, Gasser T, Chen H, Yao C, Postuma RB; MDS Task Force on the Definition of Parkinson's Disease. Update of the MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2019 Oct;34(10):1464-1470.

Tuttavia, l'iRBD non è presente in tutti i pazienti, il che sottolinea la necessità di biomarcatori oggettivi della fase prodromica.

La diagnosi di PD attualmente si basa sulla valutazione clinica delle caratteristiche motorie cardinali, che è soggettiva e spesso non riesce a individuare la malattia nelle sue fasi precliniche. Sebbene le tecniche di imaging possano aiutare la diagnosi, sono costose, non ampiamente accessibili o adatte allo screening a livello di popolazione

Armstrong MJ, Okun MS. Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease: A Review. *JAMA.* 2020 Feb 11;323(6):548-560.

Fondamentalmente, nessun test basato sul sangue può rilevare in modo affidabile la patologia del PD. I test esistenti per l' α -sinucleina totale o patologica hanno prodotto risultati incoerenti e i

metodi di rilevamento sono subottimali. Vi è un'urgente necessità di strumenti diagnostici sensibili e specifici in grado di identificare la sinucleinopatia nelle sue fasi più precoci, ben prima che emergano danni neuronali irreversibili e deficit motori o cognitivi, idealmente da un fluido biologico accessibile come il sangue

La recente fenotipizzazione proteomica basata sulla spettrometria di massa ha identificato un pannello di biomarcatori ematici che distinguono il PD dai controlli sani (HC) fino a 7 anni prima della diagnosi, ma questo approccio richiede una complessa preelaborazione del campione e manca di sensibilità per le proteine fosforilate a bassa abbondanza

Hällqvist J et al. Plasma proteomics identify biomarkers predicting Parkinson's disease up to 7 years before symptom onset. Nat Commun. 2024 Jun 18;15(1):4759.

Tra i marcatori molecolari proposti, l' α -Syn totale, l' α -Syn aggregata e la sua forma fosforilata in serina-129 (pSer129) hanno un forte potenziale per la diagnosi precoce e l'intervento terapeutico. Tuttavia, la loro misurazione nel sangue è complicata dall'enorme abbondanza di α -Syn periferica: circa il 95% dell' α -Syn circolante proviene dai globuli rossi e persino una lieve emolisi oscura i segnali rilevanti per la malattia

Shi M et al. Significance and confounders of peripheral DJ-1 and alpha-synuclein in Parkinson's disease. Neurosci Lett. 2010 Aug 9;480(1):78-82.

Le vescicole extracellulari neuronali (EV) offrono una soluzione. Queste particelle di dimensioni nanometriche, delimitate da membrana, rilasciate dai neuroni e presenti nel sangue, trasportano un carico molecolare derivato dal SNC, tra cui l' α -sinucleina. Recenti studi multicentrici hanno dimostrato che la quantificazione dell' α -sinucleina totale nelle EV neuronali L1CAM + isolate dal siero può predire o diagnosticare in modo affidabile il morbo di Parkinson

Tuttavia, persiste una sfida traslazionale fondamentale: la quantificazione di concentrazioni estremamente basse di carico di α -sinucleina, in particolare pSer129 . (i) La cattura specifica delle EV dal siero complesso e il loro rilascio controllabile e (ii) il superamento di queste sfide analitiche sono essenziali per l'impiego clinico dei biomarcatori derivati dalle EV.

Nogueras-Ortiz CJ et al. Single-extracellular vesicle (EV) analyses validate the use of L1 Cell Adhesion Molecule (L1CAM) as a reliable biomarker of neuron-derived EVs. J Extracell Vesicles. 2024 Jun;13(6):e12459.

Il transistor elettrochimico organico (OECT) è recentemente emerso come un potente trasduttore di amplificazione per il biosensing, offrendo un rapporto segnale-rumore superiore rispetto alla maggior parte delle tecniche diagnostiche convenzionali, consentendo al contempo il rilevamento di biomarcatori rapido, in tempo reale e senza etichetta

Operando in ambienti acquosi, gli OECT utilizzano semiconduttori polimerici permeabili agli ioni negli elettrodi di canale e di gate che modulano la conduttività del canale tramite ioni elettrolitici. La loro elevata transconduttanza consente anche a pochi eventi di legame biochimico all'elettrodo di gate di essere trasdotti in grandi risposte di corrente dal canale, fornendo un'amplificazione intrinseca e consentendo quindi la miniaturizzazione, rendendoli idealmente adatti per applicazioni di biosensing point-of-care

Voltage Amplifier Based on Organic Electrochemical Transistor

<https://doi.org/10.1002/adv.201600247>Digital Object Identifier (DOI)

I test basati su OECT hanno raggiunto una sensibilità femtomolare per diversi target proteici, inclusi i biomarcatori della malattia di Alzheimer e gli antigeni SARS-CoV-2 in fluidi biologici complessi, tra cui siero e saliva umani. *La loro* architettura *compatta* e la funzionalizzazione modulare del gate li rendono adatti per la diagnostica molecolare multiplex.

Un team di ricercatori coordinato dal **Organic Bioelectronics Laboratory, Biological and Environmental Science and Engineering Division, King Abdullah University of Science and Technology (KAUST), Saudi Arabia.**



nello studio

Chang T et al

**Electronic profiling of neuronal extracellular vesicles
enables early prediction of Parkinson's disease.**

Sci Adv. 2026 Oct 2;12(40):eade4525.

presentiamo un immunosensore multiplex basato su OECT che consente la previsione precoce della patologia del Parkinson (PD) attraverso il rilevamento ultrasensibile delle proteoforme di α -sinucleina (α -Syn) nelle vescicole extracellulari L1CAM + (L1EV) immunocatturate da campioni clinici.

Ciascun elettrodo di gate è funzionalizzato con un anticorpo specifico per il sottotipo, consentendo la misurazione parallela di tre proteoforme di α -Syn rilevanti per la malattia entro 40 minuti.

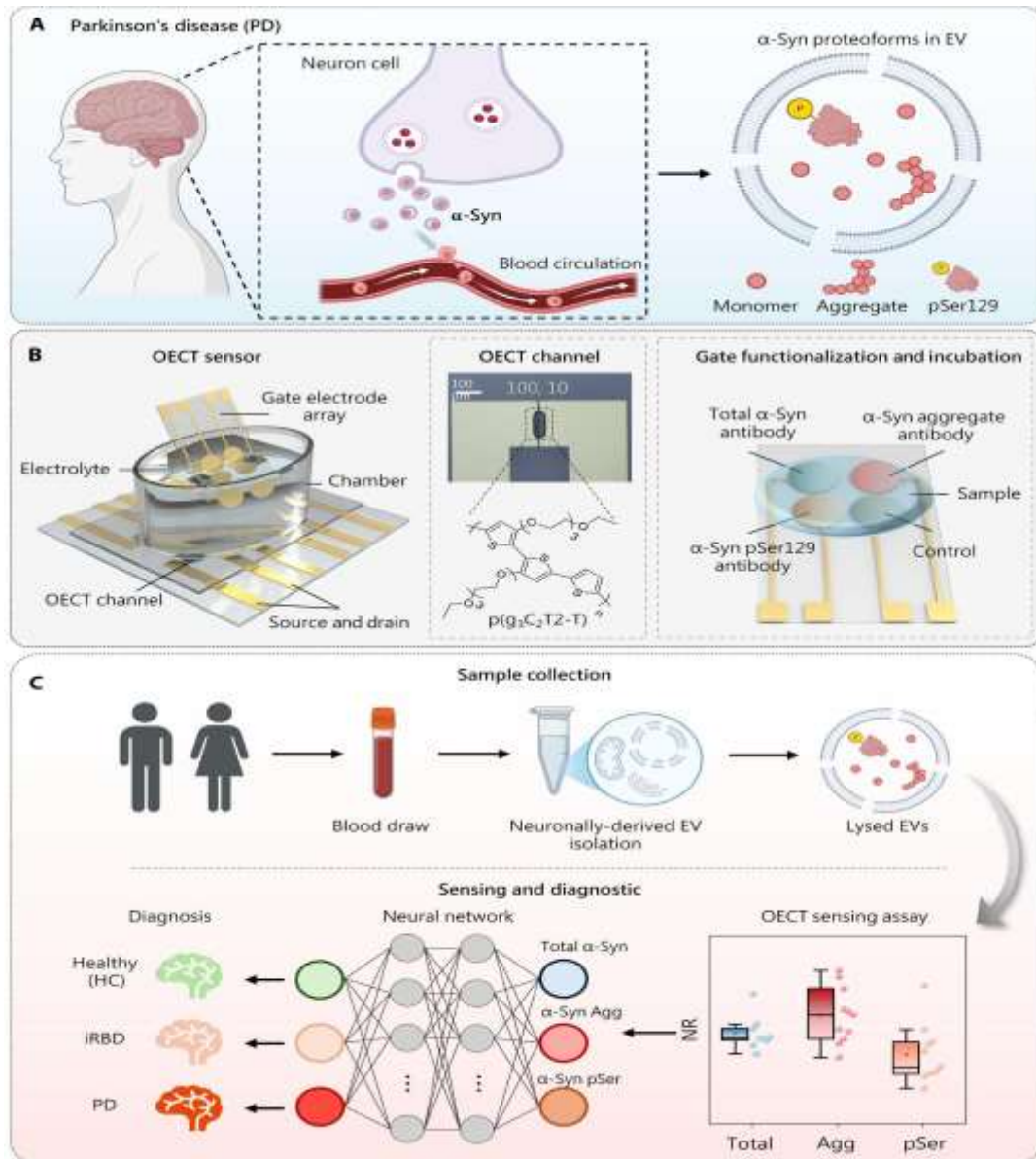
Abbiamo validato la piattaforma in una coorte di 66 partecipanti, inclusi individui con PD (n = 19), iRBD (n = 25) e soggetti di controllo sani (HC) (n = 22).

Le letture multiplex hanno differenziato PD e iRBD dai controlli con una **sensibilità dell'86,8% e una specificità dell'89,5%, con la α -Syn pSer129 che ha mostrato la migliore capacità discriminativa.**

Integrando un protocollo di arricchimento delle vescicole extracellulari (EV) con l'amplificazione elettronica intrinseca del transistor organico, che consente il rilevamento di proteoforme rilevanti per la malattia a concentrazioni estremamente basse, questa piattaforma dimostra un approccio meccanicisticamente fondato e minimamente invasivo per l'identificazione precoce della sinucleinopatia.

Il metodo è facilmente generalizzabile ad altri pannelli di biomarcatori e contesti patologici che richiedono elevata sensibilità a basse concentrazioni e rilevamento multiplex.

Rilevamento elettronico multiplex delle proteoforme di α -sinucleina nelle vescicole extracellulari neuronali per la diagnosi del morbo di Parkinson.



(A) L' α -sinucleina mal ripiegata, proveniente da neuroni in degenerazione, viene rilasciata in circolo all'interno di vescicole extracellulari neuronali (EV). Queste EV trasportano proteoforme di α -sinucleina totale, aggregata e pSer129 che riflettono la patologia cerebrale sottostante. (B) Configurazione del sensore OECT utilizzata per il rilevamento multiplex. Il dispositivo è costituito da un conduttore ionico-elettronico organico misto di tipo p ($g_3C_2T_2 - T$) (larghezza 100 μm ; lunghezza 10 μm) e da elettrodi di gate funzionalizzati con anticorpi di cattura per l' α -sinucleina totale, l' α -sinucleina aggregata e l' α -sinucleina pSer129. (C) Flusso di lavoro clinico: il siero viene raccolto dai partecipanti, le EV neuronali vengono isolate tramite arricchimento L1CAM e lisate, e le proteoforme di α -sinucleina vengono quantificate mediante il test OECT. Le firme proteoformi combinate vengono analizzate utilizzando un classificatore a rete neurale per differenziare i controlli sani (HC), gli individui con iRBD isolato (ovvero, PD prodromico) e il PD diagnosticato clinicamente.

Commento di BAEDEKER

L'accumulo di alfa-sinucleina (α -Syn) mal ripiegata è la patologia molecolare che definisce la malattia di Parkinson (PD), tuttavia i test ematici continuano a essere limitati dall'elevata concentrazione di fondo di α -Syn periferica, proveniente principalmente dai globuli rossi. Le vescicole extracellulari neuronali (EV) circolanti nel sangue offrono una fonte biologicamente arricchita di proteoforme di α -Syn derivate dal cervello, ma la loro bassissima abbondanza ha ostacolato un rilevamento affidabile.

Questo studio propone un test diagnostico multiparametrico basato su un transistor elettrochimico organico (OET) che rileva simultaneamente le proteoforme di α -Syn totali, aggregate e fosforilate in serina-129 nelle EV L1CAM + del siero. La piattaforma raggiunge una sensibilità a livello di femtomoli in soluzione tampone e prestazioni analitiche robuste in campioni clinici. In una coorte di 66 individui, inclusi pazienti con malattia di Parkinson in fase prodromica e con diagnosi clinica, la combinazione dei tre parametri proteoformi ha permesso di distinguere i pazienti con Parkinson dai soggetti di controllo con un'accuratezza del 90,9% (sensibilità dell'88,6% e specificità del 90,9%). Amplificando e analizzando elettronicamente molteplici profili di α -sinucleina neuronale nel sangue, questo test consente di ottenere uno strumento diagnostico minimamente invasivo per la diagnosi precoce della malattia di Parkinson e apre la strada a un intervento terapeutico durante il periodo in cui i trattamenti in grado di modificare il decorso della malattia hanno maggiori probabilità di essere efficaci.