

La medicina di precisione nella sclerosi multipla

Leonardo Sinisi

UOC Neurologia e Centro SM, Ospedale San Paolo, ASL Napoli 1 Centro, Napoli

La sclerosi multipla (SM) è una malattia cronica del sistema nervoso centrale (SNC) che colpisce principalmente giovani adulti, caratterizzata da diversi processi patologici concomitanti (infiammazione, demielinizzazione e neurodegenerazione). La complessità della SM risiede nella difficoltà di identificazione degli aspetti patogenetici, dei fattori prognostici, dell'andamento clinico, della risposta al trattamento, elementi che presentano un'elevata eterogeneità intra- e interindividuale ⁽¹⁾.

La ricerca per la definizione di questi aspetti ha fatto grandi progressi negli ultimi anni, sia nelle prime fasi della malattia sia in quelle più avanzate; tuttavia, appare ancora essenziale approfondire le nostre conoscenze, in modo da poter meglio predire la progressione di disabilità e ricorrere a diversi ed opportuni regimi terapeutici.

Infatti, con l'incremento costante del numero di terapie disponibili per la SM, il trattamento ottimale si

baserà su un approccio sempre più preciso sulla scorta degli elementi prognostici e del profilo di rischio del singolo paziente. Parte integrante di tali decisioni terapeutiche sarà l'uso di biomarcatori, molecolari e non, per monitorare l'attività della malattia e valutare la risposta al trattamento.

Nell'attuale scenario aumenta sempre più la difficoltà per il clinico nello scegliere l'approccio terapeutico più efficace o più giusto nel soggetto con diagnosi di sclerosi multipla. Sempre più e da più parti si sente l'esigenza di individuare gli elementi fondamentali per una scelta terapeutica precisa e personalizzata ^(2,3). Questi sono due concetti diversi ma con molti punti in comune che, per essere concretizzati, richiederebbero innanzitutto la comprensione dei meccanismi patogenetici caratterizzanti le diverse forme di malattia.

La medicina personalizzata è in effetti un approccio terapeutico basato sull'identificazione di quella che potrebbe essere la terapia miglio-

re per il singolo paziente sulla base di una profilazione individuale ^(3,4). Un esempio di medicina personalizzata nella SM è rappresentato senza dubbio dal test sviluppato per delineare il profilo di sicurezza del trattamento con natalizumab. Questo modello combina i titoli di anticorpi anti-John Cunningham Virus (anti-JCV), durata del trattamento e precedenti terapie immunosoppressive per stratificare il rischio del paziente di sviluppare la leucoencefalopatia multifocale progressiva (PML, *Progressive Multifocal Leukoencephalopathy*) ⁽³⁾.

Disporre di test che prevedano la risposta al trattamento, consentirebbe ai clinici di sviluppare piani terapeutici personalizzati basati su una conoscenza consapevole del rapporto rischio/beneficio per ciascun paziente.

A questo fine, non ultimo per la realizzazione di una medicina di precisione nella SM, va considerato il ruolo della genetica, che con recenti acquisizioni sulle varianti geneti-

che associate alla suscettibilità per la malattia, legate al sistema immunitario, apre nuove prospettive per un approccio terapeutico mirato. Infatti, sebbene la farmacogenomica sia stata finora di uso limitato nella SM, questa realtà potrebbe cambiare, in particolare se la comunità medica si muove verso una profilazione genotipica più sistematica ⁽³⁾.

Forme cliniche

Importanti questioni relative alla tassonomia della SM sono l'effettivo esordio come forma clinicamente isolata (CIS), l'inizio della fase di progressione nelle forme di sclerosi multipla secondaria progressiva (SM-SP), l'eventuale diverso meccanismo patogenetico nelle forme di sclerosi multipla primaria progressiva (SM-PP), l'esistenza di una reale opportunità di finestra terapeutica ^(2,3). Tali questioni sono sul tavolo oramai da anni, ma alcuni punti fermi sono stati certamente individuati.

A partire dalla prima manifestazione come CIS, c'è bisogno di biomarcatori per predire la "conversione" in SM clinicamente definita. La previsione della conversione dipende da numero e sede di lesioni demielinizzanti di vario tipo nelle varie sequenze della risonanza magnetica (RM) e dalla presenza di anticorpi IgG oligoclonali intratecali o "bande" (*Oligoclonal IgG bands*, OCB) nel liquor cerebrospinale (CSF, *cerebrospinal fluid*).

Dal momento che l'esame del CSF viene spesso eseguito a scopo diagnostico e prognostico nei pazienti CIS, ci sono stati numerosi studi investigativi sui biomarcatori in questa tipologia di pazienti, confrontando coloro che convertono in SM definita rispetto a coloro che non lo fanno,



nell'ottica di identificare i soggetti a prognosi più sfavorevole ⁽⁵⁾.

Negli ultimi anni, nella revisione della classificazione delle diverse forme cliniche di SM, è stato proposto il concetto di una malattia con o senza attività infiammatoria, e con o senza progressione clinica (Lublin, 2013). Questi elementi definiscono, in modo più semplice e pratico, dei punti di riferimento nell'ambito di uno spettro di malattia che aiutano non poco nel processo decisionale, riguardo non solo la definizione del fenotipo clinico, ma anche la tempestività e la modalità di evoluzione. Infatti, per un trattamento di precisione, è importante accertare la fase di malattia, sia considerando l'andamento clinico sia monitorando il carico delle lesioni infiammatorie focali nel tempo ⁽²⁾.

Gli indicatori prognostici favorevoli includono l'età più giovane all'esordio, il sesso femminile, la razza caucasica e la tipologia del primo attacco. Negli ultimi anni, l'uso della risonanza magnetica come indicatore prognostico è aumentato drasticamente. Attraverso la RM

possiamo "vedere" quante lesioni e quante porzioni di cervello sono coinvolte nel processo demielinizzante ed atrofico e valutare in particolare la presenza di alterazioni corticali e midollari che rappresentano elementi prognosticamente sfavorevoli. Possiamo, ad esempio, osservare la gravità delle lesioni calcolando quante di esse sono "buchi neri" in T1, che sono un tipo di lesione più "distruttivo" rispetto alle lesioni T2 tipiche. Pertanto, il supporto neuroradiologico aiuta il clinico a stratificare con precisione i pazienti e, potenzialmente, a prevedere l'attività o la progressione della malattia per indirizzare verso una scelta terapeutica appropriata.

Secondo alcuni Autori ⁽⁴⁾, la SM progressiva rappresenta il paradigma dell'importanza e della necessità di una scelta terapeutica personalizzata, ad esempio, in considerazione del documentato coinvolgimento dell'attivazione linfocitaria B nei follicoli meningei tipici delle forme secondarie progressive, e dove fino ad oggi non vi erano biomarcatori specifici né terapie di provata efficacia.

Biomarcatori

Il biomarcatore ideale dovrebbe essere specifico, affidabile e facilmente quantificabile e riproducibile ⁽⁴⁾.

Negli ultimi anni, i livelli di neurofilamenti (NF) del citoscheletro neuronale nei fluidi biologici, in particolare nel CSF ma recentemente anche nel siero, sono emersi come marcatori utili per riflettere il grado di danno assonale, in base al loro rilascio nello spazio extracellulare da questo determinato.

Si ritiene che i livelli di neurofilamenti a catena leggera (NF-L) nel CSF e nel siero riflettano il danno assonale precoce, acuto, infiammatorio, per la correlazione con l'attività di malattia, e stanno consolidando il loro ruolo prognostico in pazienti con CIS ⁽⁵⁻⁷⁾. Tuttavia, anche nelle forme progressive di SM, il dosaggio delle proteine dei NF e gli anticor-

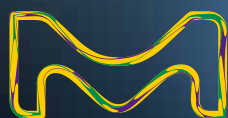
pi verso le subunità a catena leggera sono stati correlati all'andamento clinico ed alle misure di atrofia alla RM, rappresentando un biomarcatore sensibile per il monitoraggio del danno assonale ⁽⁴⁾. Elevati livelli di neurofilamenti a catena pesante (NF-H) correlano meglio con la progressione della malattia e, quindi, si pensa che riflettano il danno neurodegenerativo in atto ^(5,6).

Pertanto l'uso di biomarcatori prognostici, come NF-H, nelle prime fasi della malattia potrebbe influenzare significativamente il decorso terapeutico degli individui, identificando i pazienti ad alto rischio di sviluppare disabilità ^(5,6).

Con l'obiettivo di una sempre migliore precisione diagnostica e terapeutica per la SM, anche altri biomarcatori del CSF sono stati utilizzati per identificare i pazienti con

SM ad alto rischio, come i livelli di protein chitinasi-3-like1 (CHI3L1) astrocitaria associati alla forte predizione di evoluzione sfavorevole ^(5,7,8). La CHI3L1 è espressa negli astrociti in placche nella sostanza bianca, ma anche nella sostanza bianca apparentemente normale, così come nella microglia delle lesioni demielinizzanti ^(5,8).

Un'altra ricerca in via di sviluppo riguarda i microRNA (miRNA) ^(4,5,8). Questi costituiscono una classe recentemente identificata di RNA non codificanti, brevi e a filamento singolo, le cui funzioni consistono nella regolazione post-trascrizionale della sintesi proteica e quindi dell'espressione genica delle cellule immunitarie. Alcuni studi hanno valutato l'espressione ed il profilo dei miRNA circolanti in pazienti con forme



Materiale destinato agli Operatori Sanitari - IT/NOV/0318/0007 - 13/03/2018

Numero Verde
800-44.44.22

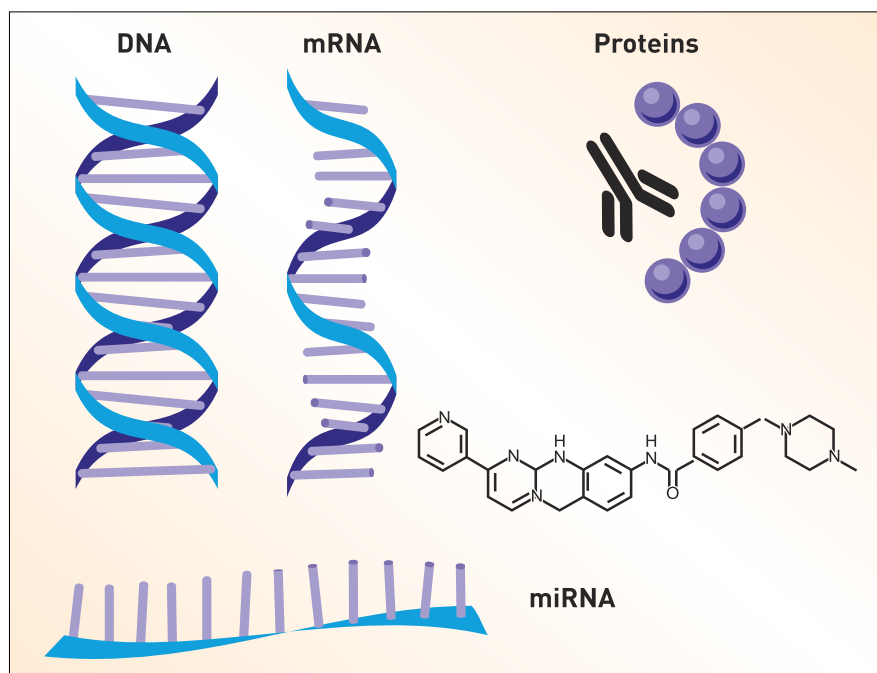
Il Servizio è attivo dal lunedì al venerdì dalle 08:00 alle 18:00
Esclusivamente per assistenza tecnica



Servizi, informazioni utili e consigli pratici per **sostenere** il paziente con Sclerosi Multipla. **Ogni giorno, con un click.**



progressive primarie e secondarie, e l'aumentata espressione di quattro miRNA in particolare è stata associata ad entrambi i decorsi della malattia ⁽⁴⁾. La disregolazione dei miRNA può svolgere un ruolo importante nei meccanismi alla base della malattia nella SM ed una interessante area di ricerca su questi biomarcatori è la possibilità di prevedere, attraverso i miRNA, la risposta o il rischio di un trattamento ^(5,8). Dal momento che il riconoscimento del coinvolgimento di microglia e macrofagi nei processi patogenetici della SM diviene sempre più rilevante, per valutare lo stato della malattia e la risposta alle terapie saranno necessari biomarcatori per valutare l'attivazione della risposta immunitaria innata nel sistema nervoso centrale ⁽⁵⁾. Biomarcatori solubili quali sCD163 e sCD14 rilasciati dai monociti e macrofagi risultano elevati nel CSF, anche se con profili di attività differenti. Il rapporto sCD14/monociti potrebbe essere un utile *marker* di attivazione della microglia, ed il rapporto CSF/siero di sCD163 risulta incrementato sia nelle forme recidivanti che progressive ⁽⁵⁾. Complessivamente, questi studi indicano che i marcatori di superficie solubili sCD14 e sCD163 possono essere utili biomarcatori di attivazione intratecale della microglia e dei macrofagi per monitorare l'attività della malattia e la risposta terapeutica. La presenza di OCB IgG intratecali ed un elevato indice IgG rappresentano certamente un segno distintivo della SM e sono il *biomarker* diagnostico più utilizzato nella SM, nonostante non siano specifici ⁽⁵⁾. A differenza delle IgG, le OCB IgM sono presenti nel CSF nel 40% dei pazienti con SM. Analogamente alle OCB IgG, tuttavia, le



OCB IgM hanno un valore nel predire la conversione precoce da CIS a SM clinicamente definita, insieme ad altri parametri come età inferiore all'esordio e presenza di neurite ottica. La presenza di OCB IgM nei pazienti con CIS sembra predire un decorso più aggressivo della malattia e correla con l'atrofia cerebrale, il carico lesionale e livelli liquorali aumentati di CXCL13, una chemochina che indirizza la migrazione delle cellule B ⁽⁵⁾. È interessante notare che gli anticorpi IgM intratecali hanno mostrato un alto grado di ipermutazione somatica, suggerendo la presenza di centri germinativi di cellule B produttrici ⁽⁵⁾.

Recenti evidenze supportano la misurazione delle IgM intratecali come *biomarker* nella progressione della malattia. La presenza di OCB IgM correla con l'aumento della concentrazione di NF-L nel liquor, un più alto punteggio della *Expanded Disability Status Scale* (EDSS), un aumento del numero di lesioni alla risonanza magnetica e un assottigliamento del *Retinal Nerve Fibre Layer* (RNFL), suggerendo un ruolo

per le IgM intratecali nel danno assonale in corso nella SM ⁽⁵⁾.

La fetuin-A (alfa-2-HS-glicoproteina) è una glicoproteina riscontrata all'analisi proteomica del CSF in pazienti con SM. Livelli alterati di fetuin-A sono stati associati alla conversione precoce a SM-RR ed in soggetti con SM-SP ⁽⁸⁾. La fetuin-A è assente nel cervello adulto normale, ma è espressa durante lo sviluppo del cervello fetale ed è presente ad alti livelli nel CSF fetale, suggerendo un ruolo durante lo sviluppo del SNC. I livelli di fetuin-A nel CSF in pazienti che erano classificati clinicamente come affetti da malattia attiva o inattiva, risultavano significativamente correlati con la presenza di evidenza infiammatoria ⁽⁸⁾.

L'osteopontina è una citochina pro-infiammatoria pleiotropa secreta da cellule immunitarie attivate ed è espressa in modo abbondante nelle lesioni della SM. I livelli di osteopontina sono elevati nel plasma di pazienti con SM rispetto ai controlli e sono risultati anche correlati con terapie *disease modifying* (DMTs) ⁽⁸⁾.

Biomarcatori non convenzionali

Il biomarcatore strumentale di riferimento nella SM è certamente la RM. Come già accennato, numero, tipo e sede delle lesioni, ed in particolare la localizzazione midollare e corticale, guidano il clinico nella diagnosi e nella valutazione prognostica. Nei criteri diagnostici aggiornati al 2017 per rendere più rapida la definizione di SM, è stata inserita la possibilità di inclusione delle lesioni sintomatiche. Inoltre, assistiamo alla valorizzazione di più nuovi e specifici elementi, quali il rilievo di lesioni subpiali e la rilevazione della presenza venulare centrale nelle lesioni, per aumentare l'accuratezza diagnostica e prognostica⁽⁶⁾. Naturalmente il numero complessivo delle lesioni T2 pesate e di quelle con *enhancement* nelle sequenze T1 pesate dopo contrasto rappresentano ad oggi un biomarcatore prognostico ben consolidato da solo o inserito in appositi punteggi di valutazione multidimensionale (*RIO score*). Inoltre, emerge dagli studi un sempre più rilevante ruolo delle misure del volume cerebrale per il monitoraggio della malattia e del trattamento, dietro la spinta del raggiungimento dell'obiettivo di uno stato di completo controllo della malattia (*NEDA, No Evidence of Disease Activity*)⁽⁶⁾.

Tuttavia, ad oggi le misure volumetriche corticali e sottocorticali, talamiche, cerebellari e spinali, e l'utilizzo di tecniche non convenzionali come la *Diffusion Tensor Imaging* (DTI) e la *Magnetization Transfer* (MT), che pure tante informazioni prognostiche appaiono fornire negli studi clinici, non sono entrate a far parte dei *biomarkers* utilizzati nella *real life* per il monitoraggio delle

forme progressive⁽⁴⁾.

Le misure degli strati retinici in pazienti SM, valutate utilizzando la tomografia a coerenza ottica (OCT, *Optical Coherence Tomography*), sembrano direttamente correlate con i volumi di sostanza bianca e grigia, ed inversamente con il carico lesionale nelle sequenze FLAIR alla RM, riflettendo soprattutto il danno neurodegenerativo nel SNC. Infatti, questa perdita assonale osservata alla OCT, è associata a disabilità fisica e cognitiva misurata dalla scala EDSS, soprattutto nelle forme ad andamento progressivo⁽⁹⁾.

Recentemente, è stato dimostrato che la misura dello spessore dello strato gangliare plessiforme interno (GCIPL, *Ganglion Cell-Inner Plexiform Layer*) avrebbe una sensibilità migliore rispetto allo spessore del RNFL per la rilevazione delle modificazioni retiniche in corso di SM, e sarebbe un potenziale predittore del danno assonale⁽⁹⁾.

Quindi, lo spessore del GCIPL è emerso come utile *biomarker* strutturale nella SM, anche superiore allo spessore del RNFL, probabilmente perché i corpi delle cellule neuronali soffrono più precocemente rispetto agli assoni retinici⁽⁹⁾.

Negli ultimi anni sono stati sviluppati diversi approcci radiofarmaceutici per l'*imaging* con *Positron Emission Tomography* (PET) nella SM, compresi biomarcatori per specifici recettori e per il metabolismo lipidico. Finora, gli studi clinici sulla PET sono stati indirizzati soprattutto alla valutazione di due processi biologici: il metabolismo del glucosio e l'infiammazione. Tuttavia, recentemente l'uso di *imaging* combinato PET/RM sta fornendo nuove informazioni nella ricerca sulla SM, ed uno degli obiettivi principali è lo

sviluppo di marcatori emergenti per definire stadio di malattia, tipologia delle popolazioni cellulari coinvolte e valutazione metabolica dei cambiamenti correlati all'attività⁽¹⁰⁾.

Biomarcatori del processo decisionale terapeutico

Da anni, il rilevamento degli anticorpi neutralizzanti (NABs) verso l'interferone beta (IFN β) nella SM continua a essere uno dei biomarcatori più utilizzati nella pratica clinica per il processo decisionale terapeutico.

In combinazione con altre valutazioni dell'attività di malattia, cliniche e di RM, il test dei NABs, infatti, può fornire ulteriori informazioni e guidare le decisioni cliniche quando viene presa in considerazione la sospensione di IFN β a causa della mancanza di una risposta terapeutica soddisfacente⁽⁸⁾.

Riguardo gli anticorpi monoclonali, sebbene il natalizumab sia di tipo umanizzato, può risultare anch'esso immunogeno. Come l'interferone, anche NABs contro il natalizumab possono svilupparsi precocemente durante il trattamento riducendone la potenziale efficacia terapeutica, ed il dosaggio di tali anticorpi andrebbe utilizzato come guida nei pazienti con persistente attività⁽⁸⁾.

Verso una medicina di precisione nella SM

La SM è una malattia complessa ed eterogenea, che trarrà certamente beneficio dalla medicina di precisione nel prossimo futuro. Un approccio personalizzato dovrà definire un profilo prognostico personale, considerando in ogni paziente sia l'attività clinica che l'attività alla RM. Alcuni Autori hanno proposto una applicazione specificamente svilup-

pata per la SM, il BioScreen, che fornendo un accesso ai dati da più fonti, promuove un percorso decisionale efficiente, informato, personalizzato e preciso in grado di potenziare e riformulare il processo gestionale dei pazienti ⁽¹¹⁾.

Negli ultimi anni, come descritto, è emerso un numero elevato di biomarcatori di malattia, che sono candidati anche ad essere utilizzati per misurare la risposta al trattamento in corso. Questi includono la determinazione dei livelli proteici che riflettono l'attività della malattia e altri aspetti dei processi fisiopatologici, come lo stress ossidativo e la disfunzione immunitaria, nonché la degenerazione neurale.

L'applicazione di questi biomarcatori nella pratica clinica aiuterà a ottimizzare il processo decisionale terapeutico. Il trattamento ottimale

dei singoli pazienti con SM richiederà in definitiva pannelli validati in grado di prevedere e monitorare l'efficacia del crescente numero di opzioni terapeutiche disponibili.

Infatti, gli ultimi due decenni hanno visto emergere una serie di nuove e sempre più efficaci terapie modificanti il decorso (DMTs) per i pazienti con SM. Con le crescenti aspettative, la completa cessazione dell'attività della malattia sta diventando un obiettivo sempre meno utopistico. L'applicazione clinica di *biomarkers* affidabili renderà probabilmente più fattibile tale obiettivo, in quanto sarà possibile valutare l'efficacia di una modalità di trattamento oggettivamente, anche in assenza di deterioramento clinico.

Ad oggi, l'obiettivo raggiunto è la personalizzazione della scelta dei trattamenti tenendo conto dei ri-

schì che alcuni pazienti hanno per le complicazioni derivanti da taluni di essi, riconoscendo sempre più precisamente nella *real life* quali sono i profili di sicurezza delle terapie, e in che modo i diversi pazienti hanno una maggiore o minore predisposizione a tali rischi.

Sebbene siano necessari ulteriori studi per la comprensione dei meccanismi epigenetici della patologia, per la validazione dei biomarcatori emergenti, e per rendere sempre più incisivo e specifico l'intervento farmacologico, va sottolineato che le risorse di *neuroimaging* e biomolecolari degli ultimi anni stanno già fornendo un determinante contributo al concetto di medicina di precisione nella SM e che la personalizzazione della terapia dovrà rappresentare una priorità nelle scelte cliniche future ■

Bibliografia

1. Ziemssen T, Kern R, Thomas K. Multiple sclerosis: clinical profiling and data collection as prerequisite for personalized medicine approach. *BMC Neurol.* 2016;16:124.
2. Giovannoni G. Personalized medicine in multiple sclerosis. *Neurodegener Dis Manag.* 2017;7(6s):13-17.
3. Gafson A, Craner MJ, Matthews PM. Personalised medicine for multiple sclerosis care. *Mult Scler.* 2017;23(3):362-369.
4. D'Amico E, Patti F, Zanghi A, Zappia M. A Personalized Approach in Progressive Multiple Sclerosis: The Current Status of Disease Modifying Therapies (DMTs) and Future Perspectives. *Int J Mol Sci.* 2016;17(10).
5. Harris VK, Tuddenham JF, Sadiq SA. Biomarkers of multiple sclerosis: current findings. *Degener Neurol Neuromuscul Dis.* 2017;7:19-29.
6. Raphael I, Webb J, Stuve O, et al. Body fluid biomarkers in multiple sclerosis: how far we have come and how they could affect the clinic now and in the future. *Expert Rev Clin Immunol.* 2015;11(1):69-91.
7. Comabella M, Sastre-Garriga J, Montalban X. Precision medicine in multiple sclerosis: biomarkers for diagnosis, prognosis, and treatment response. *Curr Opin Neurol.* 2016;29(3):254-62.
8. Harris VK, Sadiq SA. Biomarkers of therapeutic response in multiple sclerosis: current status. *Mol Diagn Ther.* 2014;18(6):605-17.
9. Satue M, Obis J, Rodrigo MJ, et al. Optical Coherence Tomography as a Biomarker for Diagnosis, Progression, and Prognosis of Neurodegenerative Diseases. *J Ophthalmol.* 2016;2016: 850-859.
10. Poutiainen P, Jaronen M, Quintana FJ, Brownell AL. Precision Medicine in Multiple Sclerosis: Future of PET Imaging of Inflammation and Reactive Astrocytes. *Front Mol Neurosci.* 2016;9:85.
11. Gourraud PA, Henry RG, Cree BA, et al. Precision medicine in chronic disease management: The multiple sclerosis BioScreen. *Ann Neurol.* 2014;76(5):633