

Biomarcatori nella sclerosi multipla

Simona Pontecorvo, Marta Altieri

Dipartimento di Neuroscienze umane, "Sapienza" Università di Roma

Introduzione

La Sclerosi Multipla (SM), la patologia infiammatoria più frequente del sistema nervoso centrale, generalmente colpisce i giovani adulti. Le forme attive, incluse le forme clinicamente isolate (CIS) e a ricadute (SM-RR), anche in fase progressiva, sono associate ad infiammazione focale e danno assonale, mentre le forme progressive sono caratterizzate da infiammazione diffusa e neurodegenerazione. In entrambi i casi la disseminazione nel tempo (DIT) e nello spazio (DIS) delle lesioni del sistema nervoso centrale (SNC) sono le due principali caratteristiche della patologia. La diagnosi di SM rimane di esclusione rispetto ad altre patologie infiammatorie, sebbene le caratteristiche cliniche, di risonanza magnetica (RMN) e biologiche spesso forniscano chiari caratteri suggestivi di patologia, soddisfacendo i criteri diagnostici ⁽¹⁾. Sebbene l'eziologia della patologia sia sconosciuta, evidenze suggeriscono che risulti da una complessa interazione tra fattori ambientali, predisposizione genetica, as-

setto immunologico dell'individuo ⁽²⁾. I segni patologici sono l'infiammazione, la demielinizzazione, la rimielinizzazione, la neurodegenerazione e la formazione di cicatrici gliali, che si presentano sia focalmente sia diffusamente nella sostanza bianca (SB) e nella sostanza grigia (SG) di encefalo e midollo spinale ⁽³⁾. Questi elementi patologici sono presenti sia nelle forme *relapsing-remitting* (SM-RR), che primariamente e secondariamente progressive (SM-PP e SM-SP), sebbene possano variare tra queste forme qualitativamente e quantitativamente, e tra individui, contribuendo all'eterogeneità fenotipica e della risposta alla terapia ^(4,5). La SM è una patologia considerata generalmente autoimmune T-mediata; i linfociti transmigrano nel SNC per iniziare un danno tissutale ⁽⁶⁾. Sebbene i linfociti T Th1 e Th17 CD4⁺ mielin-specifici siano coinvolti nella patologia, anche altre cellule quali linfociti T CD8⁺, linfociti B, macrofagi e cellule *Natural Killer* (NK) contribuiscono alla patogenesi della patologia ⁽⁷⁾. È probabile che le risposte infiamma-

torie siano i mediatori chiave delle fasi precoci e che nel tempo ci sia una neurodegenerazione progressiva che correla con la progressione di disabilità. Tuttavia, le attuali evidenze indicano che in tutte le forme di malattia l'infiammazione sembra portare a demielinizzazione e neurodegenerazione, e nelle forme progressive (a differenza delle forme precoci in cui si evidenzia una compromissione della barriera emato-encefalica, BEE), l'infiammazione sia parzialmente compartimentalizzata all'interno del SNC e della BEE, rendendo gli attuali trattamenti anti-infiammatori inefficaci ⁽⁴⁾. Dunque, i meccanismi fisiopatologici coinvolgono principalmente 3 compartimenti:

- il sangue periferico, in cui i processi autoimmuni hanno luogo;
- la BEE, che ad un certo punto si rompe permettendo il passaggio di cellule nel SNC;
- il SNC, in cui le lesioni acute marciano il tessuto con infiammazione e danno neurale, portando a segni di disabilità.

In ciascuno di questi comparti, cambiamenti dell'espressione genica di certi *set* di proteine e tipi cellulari sono segni distintivi di SM ⁽⁸⁾.

La disabilità clinica viene misurata con l'*Expanded Disability Status Scale* (EDSS) ⁽⁹⁾, mentre l'attività di malattia è valutata utilizzando la RMN con lesioni captanti gadolinio, fornendo lo strumento più oggettivo e sensibile per valutare la progressione e l'attività di malattia.

Biomarcatori nella sclerosi multipla

I biomarcatori sono degli indicatori misurabili di attività biologica e processi patologici, o risposte farmacologiche ad un intervento terapeutico. Un buon biomarcatore dovrebbe essere preciso e ripetibile, capace di distinguere tra pazienti affetti da SM e controlli, misurare infiammazione e grado di neurodegenerazione/rimielinizzazione, per fornire una foto più accurata dello stato di malattia ⁽¹⁾.

Per anni sono stati profusi molti sforzi per cercare di identificare biomarcatori in fluidi corporei (sangue e liquor) associati con vari aspetti della patologia a vari livelli (DNA, RNA, proteine, cellule) ⁽¹⁰⁾. L'applicazione di tecniche più avanzate ha aperto a nuove categorie di biomarcatori, tra cui espressione genica e *arrays* anticorpali, microRNA (miRNA), microvescicole circolanti (MVs). Tuttavia nonostante i numerosi studi su vari candidati, la maggior parte non è stata validata, e perciò non sono utili in clinica al momento. La mancanza di validazione è un problema comune dei biomarcatori di malattie complesse come la SM, riflettendo un *bias* nell'analisi statistica o mancanza di dati disponibili, ma possono anche indicare difficoltà nell'effettuare studi di validazione ⁽¹¹⁾.

La maggior parte degli studi cerca biomarcatori nel liquor col presupposto che più probabilmente riflettano la patologia del SNC. Tuttavia, i biomarcatori ematici possono avere un enorme valore clinico, perché possono essere ottenuti più facilmente in maniera minimamente invasiva.

I biomarcatori ematici possono esistere nella SM se c'è una componente sistemica di patologia o se cambiamenti periferici possono riflettere la patologia centrale ⁽¹²⁾. Purtroppo gli eventi associati all'attività infiammatoria cerebrale focale potrebbero non essere subito rilevati nel sangue periferico o mancare di specificità perché alterati da eventi sistemici, come infezioni virali. Nonostante tali limitazioni, il sangue periferico può fornire importanti informazioni che riguardano *triggers* autoimmuni e risposte terapeutiche.

I *biomarkers* periferici possono essere categorizzati in 5 gruppi ⁽⁸⁾:

- diagnostici;
- associati a forme clinicamente definite;
- di attività di malattia;
- di progressione;
- di risposta terapeutica.

Biomarcatori diagnostici

Possono essere utilizzati per distinguere pazienti da gruppi con altre patologie autoimmuni o neurologiche, o gruppi di controllo. Per questa ragione un *set* di criteri diagnostici [criteri di McDonald rivisti ⁽¹³⁾] che includono reperti clinici, laboratoristici, radiologici è usato per stabilire una diagnosi definitiva di SM.

Il solo *biomarker* validato di SM nella pratica clinica è il ritrovamento delle Bande Oligoclonali (BO) nel liquor, che, insieme alla RMN riflette l'attività infiammatoria della malattia, ed è

pertanto un importante strumento diagnostico.

Gli autoanticorpi sierici, sebbene validati come *biomarkers* per varie patologie autoimmuni, non hanno specificità nella SM. Al contrario, la scoperta di anticorpi patogenetici specifici che hanno come *target* il canale dell'acqua dell'astrocita acquaporina-4 (NMO-IgG o anti-AQP4), permettendo di distinguere la neuromielite ottica, o malattia di Devic, dalla SM ⁽¹⁴⁾.

Molti studi hanno ricercato autoanticorpi verso proteine della mielina, come *biomarker* di malattia, ben dimostrato nel modello sperimentale di malattia (encefalomielite autoimmune sperimentale, EAE) dove gli anticorpi antimielina inducono demielinizzazione del SNC.

Tuttavia il dosaggio di anticorpi sierici verso la proteina basica della mielina (MBP, *Myelin Basic Protein*), la glicoproteina mielina-associata, e la proteina proteolipidica sono risultati in dati contrastanti, che in ogni caso sono mancati di specificità, sensibilità e riproducibilità.

Tra questi autoantigeni è emerso il ruolo della glicoproteina mielinica oligodendrocitica (MOG, *Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein*) come autoantigene promettente, specialmente in forme demielinizzanti pediatriche, sia nell'ADEM sia nella SM ⁽¹⁵⁾, mentre nell'adulto ha un ruolo ancora solo speculativo. La discrepanza è dovuta al dosaggio, probabilmente poiché negli studi vengono utilizzati metodi diversi (ELISA, *Western Blot* e immunistochimica).

Esistono numerose evidenze che il virus di Epstein-Barr (EBV) sia un forte fattore di rischio per lo sviluppo di SM. Inoltre, ancora più importante, il rischio di SM è estremamente basso in individui che sono EBV-negativi e di-

venta diverse volte più alto in seguito ad infezione da EBV. Perciò l'evidenza di un'infezione da EBV può avere rilevanza nella diagnosi di SM. La presenza di anticorpi anti-EBV non è considerata rilevante da un punto di vista diagnostico, poiché diversi studi hanno mostrato la presenza di anticorpi anti-EBV nel 99% dei pazienti con SM ma anche nel 90% della popolazione generale ⁽¹⁶⁾.

Più recentemente il titolo anticorpale contro l'antigene nucleare EBV-1 (EBNA-1) è stato suggerito come associato ad attività di malattia, ipotizzandone un possibile ruolo come biomarcatore. Diversi studi hanno indagato la risposta anticorpale a specifici segmenti dell'antigene EBNA-1. Le forme pediatriche di SM riconoscono un ampio spettro di epitopi distinti di EBNA-1, in particolare tre regioni uniche. Anticorpi specifici contro uno di questi epitopi sono stati associati con il più alto rischio di SM in uno studio sulla popolazione adulta, in cui la combinazione con la HLA DRB1*1501 e la reattività anticorpale al suddetto epitopo erano associate ad un aumentato rischio di 24 volte di sviluppare la sclerosi multipla ⁽¹⁷⁾.

Gli herpes virus umani di tipo 6 (HHV-6) potrebbero essere un importante fattore eziologico nella SM. Virtualmente infettano tutti i bambini all'età di 2 anni così che non è possibile comparare il rischio di SM tra popolazioni infette verso gli individui non infetti.

Le prove per un coinvolgimento dell'HHV-6 nella patogenesi della SM si basano su dati patologici che mostrano la presenza del virus nelle lesioni demielinizzanti *post-mortem* e la sua natura neurotrofica; d'altro canto un *trial* con una terapia antivirale contro l'HHV-6 non ha avuto effetti benefici in pazienti con SM, suggeren-

do che diversi virus possono essere responsabili per la stessa entità clinica all'interno della popolazione affetta da SM ⁽¹⁸⁾.

Biomarcatori di conversione da forme clinicamente isolate a clinicamente definite

La sindrome clinicamente isolata (CIS) è un termine che descrive un primo episodio clinico con caratteristiche suggestive di SM. Approssimativamente un terzo delle forme CIS progredisce a forme clinicamente definite nell'arco di un anno dalla diagnosi, approssimativamente metà di essi dopo due anni. Ad oggi il carico lesionale nella prima risonanza e la presenza di BO nel liquor dei pazienti CIS è stata validata come misura prognostica. Una risonanza precoce può predire con un'alta probabilità se un paziente svilupperà SM, ma non può determinare accuratamente quando ciò avverrà.

I pazienti CIS rappresentano l'unica popolazione per lo studio di eventi molecolari precoci che porta a demielinizzazione e danno assonale.

Uno studio di *microarray* sull'espressione genica in cellule CD4⁺ di pazienti *naïve* al momento della diagnosi e dopo un anno ha evidenziato che i pazienti con più alto rischio di conversione a SM avevano una forma molecolare distintiva; in particolare un fattore di trascrizione critico per la codifica genica per la repressione della proliferazione delle cellule T o B è stato trovato come significativamente *down*-regolato nel gruppo dei pazienti CIS che convertivano rapidamente a SM ⁽¹⁹⁾.

Questi risultati indicano che i pazienti CIS con maggior rischio di conversione hanno una difettosa regolazione della quiescenza dei linfociti T, pro-

tabilmente risultante in una precoce attivazione di CD4⁺ patogeni. Recentemente è stato mostrato che i livelli di IgM anti- α -glucosio potrebbero fornire non solo un *biomarker* diagnostico per la SM ma anche un fattore predittivo specifico e indipendente per una precoce conversione a forme clinicamente definite. In particolare, livelli più alti di un pannello di anti-Ga4Ga e α -glucosio glicano sembrano essere utili nella predizione dei pazienti CIS che sono pronti ad un'imminente ricaduta entro 24 mesi ⁽²⁰⁾.

Diversi studi hanno mostrato una frequenza elevata di livelli di anticorpi anti-MOG nei pazienti SM. Sebbene non universalmente confermato, è stato dimostrato che la presenza di anticorpi anti-MOG sierici e anticorpi anti-MBP in pazienti CIS aumenta significativamente il tasso di conversione da CIS a forme di SM-RR. Inoltre, elevate risposte immuni verso EBNA-1 sono selettivamente aumentate nei pazienti CIS e suggeriscono che uno specifico IgG potrebbe essere usato come *marker* prognostico per la conversione di malattia e la progressione di disabilità ⁽²¹⁾.

Studi epidemiologici hanno legato lo stato della vitamina D con la suscettibilità alle patologie autoimmuni e la loro severità. Diversi studi hanno mostrato che la somministrazione dell'ormone attivo biologicamente, 1,25-diidrossivitamina D, previene l'esordio di malattia nel modello EAE e la progressione di patologia. Al contrario, in alcuni studi è stata riportata una correlazione inversa tra la vitamina D e l'attività di malattia nella SM. Tuttavia, recentemente è stata dimostrata una robusta associazione tra livelli di vitamina D e misure più stringenti di attività di malattia, quali il tempo alla diagnosi, nuove lesioni, volume cerebrale ed atrofia.

Questi risultati forniscono prove che un basso livello sierico di 25 idrossivitamina D è un importante fattore di rischio per la conversione da CIS ad SM e per la progressione a lungo termine, suggerendo che possa essere un biomarcatore prognostico nei pazienti CIS che convertiranno a forme clinicamente definite ⁽²²⁾.

Biomarcatori di attività di malattia

L'attuale *gold standard* di biomarcatori di attività di malattia è il rilevamento di lesioni della sostanza bianca che assumono mezzo di contrasto alla RMN. D'altro canto, la risonanza cerebrale non è accurata per la valutazione della demielinizzazione della sostanza grigia sottocorticale e per misurare la perdita assonale e neuronale e la demielinizzazione infiammatoria della sostanza bianca.

Inoltre, la risonanza del midollo è meno sensibile di quella dell'encefalo nell'individuare le lesioni ⁽²⁰⁾.

L'evoluzione della ricerca ha portato a trovare diversi *biomarker* di attività di malattia che possono essere divisi in due sottogruppi: biomarcatori specifici per il danno della barriera emato-encefalica (BEE) e biomarcatori associati al danno della BEE (biomarcatori di infiammazione, microvescicole - MVs - miRNA).

Biomarcatori specifici di danno della barriera emato-encefalica

La BEE presenta un complesso sistema cellulare in cui le giunzioni strette (*tight junctions*) tra le cellule endoteliali giocano un ruolo cruciale. Le cellule che compongono la BEE in associazione con la lamina basale includono cellule endoteliali, periciti, microglia perivascolare e processi astrocitari. In particolare le terminazioni astrocitarie che avvolgono i va-

si sanguigni cerebrali contribuiscono all'induzione e al mantenimento della barriera. Diversi biomarcatori sono stati studiati per la loro abilità di riflettere la rottura della barriera e il danno cerebrale nella SM, ma solo pochi studi riportano aumentati livelli sierici di proteine derivanti dall'encefalo come la S100 β dopo trauma cerebrale o *stroke* ⁽²³⁾.

Il principale biomarcatore di apertura delle giunzioni strette endoteliali è la zonulina. Sebbene non specifica per la BEE, la zonulina è una proteina che modula le giunzioni strette e pertanto gioca un ruolo cruciale e potenziale nella modulazione della permeabilità della BEE nella SM.

Elevati livelli sierici di zonulina sono stati riportati in pazienti SM-RR che avevano lesioni captanti contrasto e in pazienti SM-SP rispetto ai controlli. Sono comunque necessari ulteriori studi per confermare l'utilità di questa proteina come biomarcatore di rottura di barriera.

Le molecole di adesione (CAMs) sono normalmente espresse a livelli molto bassi sulle cellule endoteliali ma dopo uno stimolo citochinico vengono *up*-regolate e rilasciate in forma solubile nonostante diverse cellule di adesione siano state riportate come associate a rottura della BEE e nessuna nello specifico sia risultata essere altamente predittiva di danno della BEE ⁽²⁴⁾.

È stato dimostrato, inoltre, che altre molecole di adesione come PECAM-1 (*Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1*), P-selectina e E-selectina sono *up*-regolate nelle forme SM-RR se comparate alle forme SM-PP e il loro livello risulta essere *up*-regolato durante le ricadute, suggerendo che queste molecole potrebbero essere usate come marcatori del danno di BEE.

Biomarcatori associati a danno della barriera emato-encefalica

Diversi studi hanno valutato la potenziale correlazione di biomarcatori associati a rottura della BEE, inclusi biomarcatori infiammatori come citochine e chemochine e i loro recettori, sottogruppi di cellule immunitarie, molecole co-stimolatorie, anticorpi, metalloproteasi di matrice (MMPs, *Matrix MetalloProteases*) e i loro naturali inibitori tissutali (TIMPs, *Tissue Inhibitors of matrix MetalloProteinases*).

Queste molecole che regolano l'integrità della BEE e l'invasione di cellule infiammatorie verso il SNC sembrano avere cambiamenti di espressione in pazienti con SM. Un altro tipo di marcatore associato al danno di BEE sono le MV endoteliali, che si formano da cellule endoteliali cerebrali attivate da citochine proinfiammatorie e chemochine.

Cambiamenti nella composizione e nella funzione di miRNA in fluidi corporei o in differenti popolazioni cellulari di pazienti affetti da SM sembrano essere biomarcatori particolarmente accurati di attività di malattia ⁽⁸⁾.

Biomarcatori di infiammazione

Diverse citochine proinfiammatorie sembrano essere correlate con danno di BEE. Elevati livelli di TNF- α , IL-1 β , recettore attivatore del fattore nucleare kappa-B ligando (RANKL, *receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand*) e livelli di proteina C reattiva nel siero e nel liquor sono stati associati ad esordio di ricadute di malattia. Studi su pazienti hanno evidenziato come numerosi aspetti del sistema immunitario siano disfunzionali. Evidenze supportano un'anomala attività di cellule T e B, di anticorpi secreti e di attivazione del complemento, cellule dendritiche, macrofagi e cellule NK ⁽⁸⁾.

Le cellule T CD4⁺ possono essere divise in principali sottogruppi basati sulla produzione di citochine: Th1 (attività proinfiammatoria con IFN- γ , IL-12 e secrezione di TNF- α), Th2 (attività immunoregolatoria con IL-10 e IL-4), Th17 (infiammatoria con IL-17 e IL-6) e Treg (TGF- β e IL-10).

La produzione di IL-17 è aumentata in relazione all'attività di malattia e ridotta sotto terapia con IFN β . In particolare i livelli di interleuchina 17 sono più alti in pazienti con una diagnosi recente rispetto a quelli con un decorso più lungo di patologia, il che può essere correlato ad una recente attività di malattia. Il numero e l'attività delle cellule T regolatorie è ridotto nel siero e nel liquor durante ricaduta clinica. Livelli di IL-6 nel siero risultano significativamente correlati con la frequenza delle ricadute nelle donne affette da SM e con l'età all'esordio per tutti i pazienti affetti da SM.

I recettori sono espressi in maniera differente in vari tipi cellulari e sotto diverse condizioni la loro regolazione sembra guidare il traffico delle cellule infiammatorie verso il sistema nervoso centrale e perciò potrebbe correlare con la rottura della BEE. In uno studio recente i livelli plasmatici di Pentrasina 3 (PTX3), componente essenziale del sistema immunitario innato e i cui livelli ematici sono bassi in condizioni normali, erano significativamente aumentati durante le ricadute di malattia e avevano una correlazione debole con l'EDSS. In fase di remissione i livelli plasmatici di PTX3 erano più bassi e non c'era associazione con l'EDSS score, confermando che i livelli plasmatici di PTX3 siano un potenziale biomarcatore di attività di malattia ⁽²⁴⁾.

In generale i livelli di citochine e chemochine nei pazienti affetti da SM sono sovrapponibili a quelli dei soggetti

sani come anche in altri tipi di patologie. Questo probabilmente è spiegato dal fatto che i cambiamenti di citochine riflettano un sistema regolatorio complesso nei processi immuni piuttosto che la sola rottura della BEE. Diversi studi hanno valutato una correlazione potenziale di MMPs e TIMPs coinvolti nella rottura della BEE. Livelli maggiori di MMP-9 o inferiori di TIMP-1 sembrano predire la presenza di lesioni captanti gadolinio e perciò la rottura della barriera. Poiché i loro livelli fluttuano tra i pazienti e tra diverse coorti, e sono influenzati da infezioni, il loro uso per il monitoraggio della patologia è molto complesso.

Un'attivazione ottimale di cellule T è un fenomeno a più *step* e complesso che risulta da uno specifico riconoscimento di antigeni e di interazione di molecole costimolatorie sulla superficie sia delle cellule APC che dei linfociti T. Un'espressione aberrante di molecole costimolatorie e dei loro recettori sulle cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC) è stata riscontrata in pazienti con SM; molti studi cercano di correlare la loro espressione allo stato di malattia.

Si stima che circa un terzo dei geni umani siano negativamente regolati ai livelli post-trascrizionali dai miRNA sia attraverso l'inibizione dell'inizio della traduzione che dell'allungamento o attraverso una destabilizzazione di mRNAs *target* ⁽⁸⁾.

Espressione e funzione aberranti di miRNA sono associate con diverse patologie umane incluso il cancro, la neurodegenerazione, l'autoimmunità e potenzialmente possono essere utili come biomarcatori diagnostici e prognostici o terapeutici.

I microRNA controllano diversi aspetti dell'immunità correlata alla funzione di granulociti, monociti, macrofagi,

cellule NK e dendritiche, e la differenziazione e attivazione di linfociti T e B. Diversi studi hanno effettuato il profilo dei miRNA nei pazienti affetti da SM e controlli usando i PBMC, il sangue intero e le lesioni cerebrali. Tutti gli studi hanno evidenziato un'alterata espressione di miRNA nei pazienti affetti da SM comparata ai soggetti sani ⁽²⁵⁾.

Maggiori studi sono necessari per definire quali *subset* di miRNA possano essere potenziali biomarcatori per la SM.

Biomarcatori di progressione di disabilità

Studi epidemiologici e di risonanza indicano che la fase di transizione da SM-RR a SM-SP può essere principalmente guidata dalla prevalenza della neurodegenerazione sulla infiammazione; perciò terapie che abbiano come *target* la risposta di immunità adattativa sulle forme SP dimostrano un'efficacia limitata.

Contemporaneamente, alcune prove suggeriscono che il decorso di patologia primariamente progressiva rappresenta un'entità distinta rispetto alla forma *relapsing*. Diversi meccanismi contribuiscono alla neurodegenerazione delle forme primariamente e secondariamente progressive e che attualmente non sono conosciuti (esaurimento della compensazione funzionale, mancanza di supporto trofico, attivazione di microglia cronica, danno mitocondriale, stress ossidativo come espressione alterata di canali ionici negli assoni demielinizati) ⁽²⁶⁾.

Seguendo i processi di danno, molecole rilasciate dalle cellule del sistema nervoso centrale sono liberate nel comparto extracellulare e alla fine nel liquor e nel sangue. Queste molecole che vengono rilasciate possono rag-

giungere i linfonodi periferici portando a risposte autoimmuni verso questi antigeni che possono contribuire al danno. IgG e IgM che legano la superficie di linee cellulari neuronali sono state trovate nei sieri di pazienti SM-SP e SM-RR. Questi reperti possono indicare lo *spreading* di autoimmunità verso antigeni neuronali come conseguenza di un danno tissutale del sistema nervoso centrale e l'evoluzione della patologia, da moderata a marcata perdita neuronale associata a transizione da SM-RR a SM-SP.

Biomarcatori promettenti nel monitoraggio del danno assonale e di conversione in forma progressiva sono i neurofilamenti sierici e gli anticorpi contro il citoscheletro.

I neurofilamenti (NFs) sono i maggiori componenti del citoscheletro asso-

nale, che esiste come eteropolimero di subunità proteiche leggere (NFL), medie (NFM) e pesanti (NFH). I neurofilamenti sono dei candidati come *biomarker* prognostici di decorso di patologia in quanto il loro ritrovamento nel sangue e nel liquor riflette un danno assonale. Ci sono risultati contrastanti riguardo alle NFL nel siero dei pazienti.

Anche un'alterata funzione mitocondriale è stata ipotizzata come causa di neurodegenerazione che porta a metabolismo anaerobico in pazienti SM. Il lattato prodotto durante il metabolismo energetico anaerobico potrebbe essere un *biomarker* di neurodegenerazione.

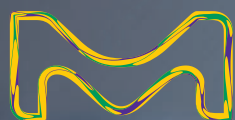
MicroRNA circolanti sono differenzialmente espressi nella SM-RR rispetto ai controlli sani e nella SM-RR *versus*

SM-SP e correlano con l'EDSS e con la durata di malattia. È interessante che gli stessi miRNA espressi nelle forme SP e nella sclerosi laterale amiotrofica ma diversamente espressi dalle forme RR suggeriscano un simile processo neurodegenerativo⁽⁸⁾.

Biomarcatori di risposta terapeutica

La terapia della SM si sta evolvendo rapidamente. Diversi farmaci sono disponibili e molti altri sono in fase di sviluppo. Per questa ragione la scoperta di biomarcatori per identificare i pazienti *non responders* ad una terapia è fondamentale per cucire il miglior trattamento per ciascun paziente.

Attualmente diversi trattamenti per SM con differenti meccanismi di azione e profili di effetti collaterali diversi



REBINFO.IT
al tuo fianco,
con un click.



Numero Verde
800-44.44.22

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

ReInfo.it: servizi, informazioni utili e consigli pratici per sostenerti ogni giorno nell'affrontare al meglio la Sclerosi Multipla.

MERCK

sono in commercio.

L'IFN β (IFN) ha la limitazione di avere una efficacia che varia dal 30 al 50%. Perciò marcatori per monitorare la terapia con interferone sono stati recentemente studiati.

La ricerca di un marcatore di risposta incontra difficoltà legate al fatto che il meccanismo preciso di azione nella sclerosi multipla rimane ignoto.

L'efficacia è probabilmente attribuibile ad un'azione immunomodulatoria, tra cui l'alterazione dell'assetto Th1/Th2, un effetto antiproliferativo sull'espansione delle cellule attive, differenziazione e aumento della apoptosi T-mediata.

C'è anche evidenza che l'interferone inibisca la tras migrazione di cellule immunitarie attraverso la BEE. L'interferone può indurre reazioni immunogeniche che portano alla formazione di anticorpi leganti e neutralizzanti. Tra il 2 e il 45% delle persone trattate svilupperanno anticorpi neutralizzanti e questo dipende dallo specifico farmaco e dal dosaggio. Cambiamenti dell'espressione genica si verificano in risposta all'IFN e questo spiega la sua bioattività ⁽²⁷⁾.

Tra i vari geni responsivi all'interferone, la proteina A resistente al myxovirus (MxA) è una proteina GTPasi codificata dal Gene Mx1 con potente attività antivirale che ha dimostrato essere uno dei biomarcatori più sensibili e specifici di bioattività dell'IFN. L'espressione di MxA è significativamente ridotta durante lo sviluppo di NAb. Uno studio ha dimostrato che la misura sia di MxA che dei NAb dopo un anno di trattamento con interferone erano predittivi per il rischio di *relapses*, suggerendo che MxA possa essere un utile biomcatore di risposta farmacologica all'IFN ⁽²⁸⁾.

Diverse altre molecole seriche coinvolte nei meccanismi di azione dell'in-

terferone sono state proposte come biomarcatori di risposta terapeutica, sebbene nessuno sia stato confermato ad oggi (sTRAIL, CXCL-10/IP-10e CCL-2/MCP-1, IFNAR).

Le MV endoteliali (EMV) sono associate a danno della BEE. Un primo studio prospettico in una coorte di pazienti SM ha dimostrato una significativa riduzione dei livelli plasmatici di CD31⁺ EMVs dopo trattamento con interferone.

In un'altra coorte di pazienti affetti da SM trattati con interferone ad alta dose seguiti per un anno è stato dimostrato che il decremento delle MV endoteliali a 12 mesi era associato ad una significativa riduzione nel numero e nel volume delle lesioni che assumevano contrasto ⁽²⁹⁾.

Gli studi di genomica hanno identificato dei geni che possono essere utili biomarcatori di risposta terapeutica. In particolare, l'espressione di diversi miRNA rilevanti immunologicamente selezionati nei PBMC derivati da pazienti SM-RR e soggetti sani per valutare l'impatto della terapia immunomodulante sono stati analizzati.

Natalizumab è coinvolto nel *trafficking* leucocitario attraverso la BEE nel sistema nervoso centrale.

Nella pratica clinica l'uso di natalizumab è complicato dalla sua associazione con la leucoencefalopatia multifocale progressiva (PML), una severa e potenzialmente fatale patologia demielinizzante del sistema nervoso centrale causata dalla riattivazione del virus latente JC (JCV) che porta ad una infezione litica degli oligodendrociti con un danno progressivo della sostanza bianca.

Per identificare i pazienti trattati con natalizumab a rischio di sviluppo di PML, gli anticorpi anti-JCV sono stati dosati in liquor e siero. Non è definitivamente noto quali siano i pazienti con un maggior rischio di sviluppare PML, sebbene il rischio sembri essere maggiore in pazienti con anticorpi positivi che hanno ricevuto un trattamento per più di 24 mesi e che siano stati esposti a pregressa terapia immunosoppressiva.

Se il titolo anti-JCV sia utile a determinare il rischio individuale è attualmente oggetto di studio ⁽⁸⁾.



Conclusioni

La complessità della sclerosi multipla porta inevitabilmente ad una grande varietà di marcatori potenzialmente specifici per predire il decorso di patologia o la risposta ai farmaci.

La misurazione dei biomarcatori è basata sull'individuazione di molecole specifiche nei fluidi corporei che di-

ventino alterate come conseguenza di un processo biologico o patologico. In particolare, marcatori che siano misurabili nel sangue periferico saranno di grande valore clinico poiché il metodo di raccolta non è invasivo.

Recenti progressi nella proteomica con *microarray* genici e analisi antigenica hanno portato ad identificare

nuovi marcatori specifici per SM nel sangue.

Diversi tra questi candidati mostrano un potenziale promettente sia riflettendo lo stato di attività clinica che il monitoraggio della risposta alla terapia, ma ad oggi nessuno di questi è ancora validato per essere utilizzato nella pratica clinica ■

Bibliografia

1. Thouvenot E. Multiple sclerosis biomarkers: Helping the diagnosis? *Rev Neurol (Paris)*. 2018 May 18. pii: S0035-3787 (18) 30563-0.
2. Fox RJ, Bethoux F, Goldman MD, Cohen JA. Multiple sclerosis: advances in understanding, diagnosing, and treating the underlying disease. *Cleve Clin J Med*. 2006;73(1):91-102.
3. Lassmann H, Brück W, Lucchinetti C. The immunopathology of multiple sclerosis: an overview. *Brain Pathol*. 2007;17(2):210-8.
4. Lucchinetti C, Brück W, Parisi J, et al. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol*. 2000;47(6):707-17.
5. Peterson LK, Fujinami RS. Inflammation, demyelination, neurodegeneration and neuroprotection in the pathogenesis of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2007;184(1-2):37-44.
6. Wekerle H. Lessons from multiple sclerosis: models, concepts, observations. *Ann Rheum Dis*. 2008;67(Suppl. 3):iii56-60.
7. Sospedra M, Martin R. Immunology of multiple sclerosis. *Annu Rev Immunol*. 2005;23:683-747.
8. D'Ambrosio A, Pontecorvo S, Colasanti T, et al. Peripheral blood biomarkers in multiple sclerosis. *Autoimmun Rev*. 2015;14(12):1097-110.
9. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983;33(1):1444-52.
10. Villoslada P. Biomarkers for multiple sclerosis. *Drug News Perspect*. 2010;23 (9): 585-95.
11. Ioannidis JP, Panagiotou OA. Comparison of effect sizes associated with biomarkers reported in highly cited individual articles and in subsequent meta-analyses. *JAMA*. 2011;305(21):2200-10.
12. Harris VK, Sadiq SA. Disease biomarkers in multiple sclerosis: potential for use in therapeutic decision making. *Mol Diagn Ther*. 2009;13(4):225-44.
13. Barkhof F, Simon JH, Fazekas F, et al. MRI monitoring of immunomodulation in relapse-onset multiple sclerosis trials. *Nat Rev Neurol*. 2011;8(1):13-21.
14. Derfuss T, Meinl E. Identifying autoantigens in demyelinating diseases: valuable clues to diagnosis and treatment? *Curr Opin Neurol*. 2012;25(3):231-8.
15. Pröbstel AK, Dornmair K, Bittner R, et al. Antibodies to MOG are transient in childhood acute disseminated encephalomyelitis. *Neurology*. 2011;77(6):580-8.
16. Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I. The role of infection. *Ann Neurol*. 2007; 61 (4):288-99.
17. Sundström P, Nyström M, Ruuth K, Lundgren E. Antibodies to specific EBNA-1 domains and HLA DRB1*1501 interact as risk factors for multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2009;215(1-2):102-7.
18. Friedman JE, Zabriskie JB, Plank C, et al. A randomized clinical trial of valgancyclovir in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2005; 11(3):286-95.
19. Corvol JC, Pelletier D, Henry RG, et al. Abrogation of T cell quiescence characterizes patients at high risk for multiple sclerosis after the initial neurological event. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; 105(33):11839-44.
20. Freedman MS, Laks J, Dotan N, et al. Anti-alpha-glucosylated glycan IgM antibodies predict relapse activity in multiple sclerosis after the first neurological event. *Mult Scler*. 2009;15(4):422-30.
21. Lünemann JD, Tintoré M, Messmer B, et al. Elevated Epstein-Barr virus-encoded nuclear antigen-1 immune responses predict conversion to multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2010;67(2):159-69.
22. Stewart N, Simpson Jr S, van der Mei I, et al. Interferon- β and serum 25-hydroxyvitamin D interact to modulate relapse risk in MS. *Neurology*. 2012;79(3):254-60.
23. Marchi N, Rasmussen P, Kapural M, et al. Peripheral markers of brain damage and blood-brain barrier dysfunction. *Restor Neurol Neurosci*. 2003;21(3-4):109-21.
24. Giovannoni G, Lai M, Thorpe J, et al. Longitudinal study of soluble adhesion molecules in multiple sclerosis: correlation with gadolinium enhanced magnetic resonance imaging. *Neurology*. 1997;48 (6):1557-65.
25. Wang H, Wang K, Wang C, et al. Increased plasma levels of pentraxin 3 in patients with multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *Mult Scler*. 2013;19 (7):926-31.
26. Junker A, Krumbholz M, Eisele S, et al. MicroRNA profiling of multiple sclerosis lesions identifies modulators of the regulatory protein CD47. *Brain*. 2009;132 (Pt 12):3342-52.
27. Lassmann H, van Horssen J, Mahad D. Progressive multiple sclerosis: pathology and pathogenesis. *Nat Rev Neurol*. 2012; 8(11):647-56.
28. Haller O, Kochs G. Interferon-induced mx proteins: dynamin-like GTPases with antiviral activity. *Traffic*. 2002;3(10):710-7.
29. Sharief M, Semra Y, Seidi O, Zoukos Y. Interferon-beta therapy downregulates the anti-apoptosis protein FLIP in T cells from patients with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2001;120(1-2):199-207.