

# Neurofilamenti sierici a catena leggera come biomarcatori per la valutazione dell'attività infiammatoria e della risposta terapeutica nella sclerosi multipla

**Lorenzo Saraceno**

Centro Sclerosi Multipla, Dipartimento di Neurologia, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano

La patofisiologia della Sclerosi Multipla (SM) è estremamente complessa e molteplici meccanismi, quali il danno assonale acuto e la neurodegenerazione cronica, concorrono nella definizione della disabilità conferita dalla malattia.

Il termine NEDA (*No Evidence of Disease Activity*) viene comunemente utilizzato per indicare l'obiettivo primario da perseguire quando si intraprende un trattamento farmacologico mirato al controllo della malattia. Tale definizione si basa sull'assenza dei seguenti tre elementi: ricadute cliniche, accumulo di disabilità e nuove lesioni agli studi di risonanza magnetica nucleare (RMN) <sup>(1)</sup>. Uno dei punti discussi di tale definizione consiste nel fatto che la RMN viene accettata come unico biomarcatore surrogato di tipo strumentale di attività infiammatoria di malattia del sistema nervoso centrale (SNC) <sup>(1)</sup>. Tuttavia, alcuni studi anatomico-patologici hanno evidenziato che solo il 30-50% delle lesioni corticali evi-

denziate istopatologicamente viene rilevato dalla RMN, persino quella a 7 Tesla <sup>(2)</sup>. È evidente che anche le tecnologie neuroradiologiche ad elevato campo e le nuove sequenze di acquisizione delle neuroimmagini non siano in grado di cogliere la totalità e la complessità dell'attività infiammatoria di malattia e del danno neuronale nella SM.

In questo scenario urge la ricerca di biomarcatori in grado di rilevare eventuali aspetti infiammatori di malattia non colti dagli studi RMN tradizionali e/o sperimentali.

I Neurofilamenti (Nf), rilasciati nel liquor in conseguenza ad insulti del SNC che conducono ad un danno assonale, sono oggi i maggiori candidati a rivestire nel prossimo futuro, accanto alla RMN, il ruolo di biomarcatore surrogato di attività di malattia.

Un biomarcatore è un marcatore biologico, la cui misurazione laboratoristica è in grado di indicare uno stato biologico, inteso come processo fisiologico o patologico. In am-

bito clinico un biomarcatore può risultare particolarmente utile nel momento in cui possiede la capacità di essere informativo circa la risposta farmacologica ad un intervento terapeutico <sup>(3)</sup>.

I Nf risultano oggi tra i più promettenti e interessanti biomarcatori di danno assonale, in corso di studio non solo per quanto concerne la SM ma, più in generale, nel campo delle Scienze Neurologiche. Costituiti da una subunità a catena leggera (60-70 kDa), una a catena intermedia (130-170 kDa) e una a catena pesante (200-220 kDa), i Nf sono i principali componenti del citoscheletro assonale e sono in grado sia di conferire un sostegno strutturale all'assone, sia di regolarne il diametro <sup>(4)</sup>. Nel momento in cui si verifica un danno acuto e/o cronico alle strutture assonali, i Nf sono rilasciati nello spazio extracellulare e risultano pertanto quantificabili nel liquor cerebrospinale. In particolare, si ritiene che i neurofilamenti a catena pesante (NfH) riflettano pre-

valentemente i processi neurodegenerativi. Vengono pertanto studiati come potenziali *markers* del danno assonale cronico. È stato infatti evidenziato come i livelli liquorali di NfH in pazienti affetti da SM siano correlati alla progressione di disabilità di malattia misurata dall'*Expanded Disability Status Scale* (EDSS) <sup>(3)</sup>. I neurofilamenti a catena leggera (NfL), invece, sono stati in primo luogo indagati quali biomarcatori relativi al danno assonale di tipo acuto, sebbene oggi tale iniziale visione sia stata parzialmente superata. Elevati livelli liquorali di NfL sono associati all'attività infiammatoria di malattia costituita da ricadute cliniche e nuove lesioni alla risonanza magnetica nucleare (RMN) dell'encefalo e/o del midollo spinale. È stato osservato come elevati livelli

di NfL persistano per circa 100 giorni successivamente ad un evento infiammatorio del SNC <sup>(5)</sup>. Inoltre, alti livelli di NfL, correlando con la presenza di ricadute recenti, si associano anche ad un conseguente peggioramento nel breve termine della disabilità misurata dalla scala EDSS <sup>(6)</sup>. Valutati su liquor al basale in pazienti affetti da CIS, costituiscono un predittore indipendente circa una diagnosi definitiva di SM <sup>(7)</sup>. Inoltre, sia in pazienti CIS, sia in quelli con diagnosi di SM, i NfL sono in grado di predire il rischio di ricaduta clinica nei successivi due anni <sup>(8)</sup>. Ridotti livelli liquorali di NfL, invece, sono stati dimostrati in pazienti affetti da SM in condizione di remissione clinica, rispetto ai pazienti in fase di ricaduta di malattia e le terapie *disease-modifying* (DMTs) sono in grado di abbassare i livelli di

NfL liquorali <sup>(5,6)</sup>.

È pertanto verosimile che nel prossimo futuro i NfL possano assumere il ruolo, nei *trial* clinici ed eventualmente nella pratica clinica, di biomarcatori surrogati per la valutazione dell'efficacia dell'intervento terapeutico. Tale intuizione è recentemente diventata una possibilità concreta in seguito allo sviluppo di nuove tecnologie quali l'analisi *Simoa™* (*Single-Molecule Array*) e, con minor precisione per bassi livelli <sup>(6,9)</sup>, il dosaggio immunologico a elettrochemiluminescenza.

L'elevata sensibilità di tali metodiche permette un'accurata quantificazione dei NfL anche su campioni sierici e plasmatici, ottenibili dunque con procedure minimamente invasive quali un banale prelievo di sangue venoso <sup>(6,9)</sup>. L'utilizzo di tali tecnologie negli ul-

IT/NONNI/0719/0021 - 08/07/2019



#### SITO WEB

Informazioni, materiali, esperienze e consigli utili a supporto della terapia e della qualità della vita.



#### TEAM

Infermieri qualificati disponibili 6 giorni a settimana al Numero Verde 800 102204 (lun-sab; 8.00-20.00)



#### APP

Personalizzata in base al regime di trattamento di ogni paziente, con promemoria per la terapia e gli appuntamenti, video informativi e materiali utili.



#### PROGRAMMA

Un supporto a 360°, personalizzato e multicanale, al fianco dei pazienti in trattamento con MAVENCLAD®.

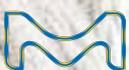
## Nasce adveva®

### Vicinanza e supporto al paziente con SM

**adveva®**  
PER LE PERSONE A CUI È STATO PRESCRITTO MAVENCLAD®

**adveva®** è il nuovo programma di supporto multicanale personalizzato che è al fianco del paziente e del Centro SM:

- facilita l'aderenza del paziente al trattamento e al monitoraggio
- fornisce suggerimenti e strumenti utili per una migliore qualità di vita.



**MERCK**

timi due anni ha destato un grandissimo interesse nella comunità scientifica. Infatti, nonostante l'utilità di tale biomarcatore nel campo della SM fosse nota già dalla fine degli anni '90, la necessità di effettuare una procedura invasiva quale la rachicentesi ne ha limitato per molti anni il possibile utilizzo su ampie popolazioni. Studi condotti recentemente con la tecnologia Simoa™ hanno evidenziato un'ottima correlazione tra livelli di neurofilamenti leggeri liquorali e livelli sierici/plasmatici (6,9).

Tali osservazioni, tuttavia, valgono esclusivamente per i NfL. Al contrario, il valore plasmatico dei NfH è risultato essere troppo ridotto e non informativo in una proporzione elevata di pazienti SM, limitandone pertanto le possibilità applicative in ambito clinico.

I risultati ottenuti con i NfL liquorali sono stati quindi confermati e replicati con la tecnologia Simoa™ anche su siero e/o plasma.

Grazie all'elevata sensibilità analitica di tale tecnologia, in grado di quantificare con accuratezza i NfL anche su controlli sani (6,9), si discute oggi su quali siano i valori di riferimento, in particolare i valori "normali" in un paziente affetto da SM. Infatti, nonostante la maggior parte dei pazienti con decorso di malattia a ricadute e remissioni (SM-RR) trattati farmacologicamente e stabili abbiano valori di NfL sierici comparabili ai controlli sani, esiste una quota di pazienti NEDA-3 con livelli di NfL più elevati (10). In una riflessione più generale, tale discrepanza potrebbe essere spiegabile con la presenza di possibili nuove lesioni clinicamente silenti, eventualmente della sostanza grigia, non evidenziabili nemmeno dalle tradizionali metodiche

di MRI. Una spiegazione alternativa suggerita da alcuni Autori (11) è che i NfL, indipendentemente dall'attività infiammatoria di uno specifico momento, possano riflettere anche il danno extra-lesionale della sostanza grigia corticale inteso come processo cronico di rarefazione neuronale e oligodendrogliale.

Tale osservazione trova conferma nella correlazione significativa tra NfL e atrofia parenchimale: maggiore è il livello di NfL al basale e maggiore è il grado di atrofia cerebrale e del midollo spinale raggiunto a distanza di 5 anni (12).

È noto inoltre che le forme progressive di malattia, nelle quali prevalgono i fenomeni neurodegenerativi su quelli infiammatori, siano caratterizzate da livelli di NfL sierici superiori rispetto alle forme RR (6).

Un recente studio ha evidenziato come i pazienti affetti da forme di malattia secondariamente progressiva (SM-SP), indipendentemente dalla presenza di nuove lesioni captanti Gadolinio (Gd) alla RMN, presentino livelli di NfL sierici superiori rispetto a quelli con forme primariamente progressive (13).

In entrambi i gruppi di pazienti è stata confermata una correlazione significativa tra livello al basale di NfL e carico lesionale da un lato, perdita di trofismo cerebrale a 12 e 24 mesi dall'altro (13).

Pertanto, i NfL si candidano al ruolo di biomarcatore non solo relativamente ai fenomeni infiammatori di tipo acuto, ma anche a quelli di tipo neurodegenerativo. In tale ottica, maggiori studi sono necessari per indagare la capacità di rilevare il passaggio a forma progressiva di malattia. Una prima ricerca ha infatti evidenziato come i NfL liquorali, valutati al primo evento clinico

di malattia, predicano la disabilità a lungo termine valutata dalla *Multiple Sclerosis Severity Scale* (MSSS) a più di 10 anni di *follow-up* (14). Tale disegno di studio, replicato misurando il medesimo biomarcatore su siero, non ha ottenuto gli stessi risultati (8). È verosimile, tuttavia, che il *follow-up* utilizzato nel secondo studio, pari a 5 anni dal primo episodio clinico, sia troppo breve per identificare correttamente la proporzione di pazienti destinati a virare verso forme secondariamente progressive di malattia (8). Sarebbero inoltre utili misurazioni seriate dei NfL negli stessi individui, allo scopo di cogliere il momento preciso in cui i processi neurodegenerativi incominciano a prevalere su quelli infiammatori.

Tornando invece agli esordi della malattia nelle forme RR, come già dimostrato su liquor, anche i NfL sierici, valutati al basale, sono in grado di predire il rischio di ricaduta clinica, l'incremento del carico lesionale e della disabilità nel breve termine, così come lo sviluppo di atrofia cerebrale a due anni (8,11,15). I pazienti che iniziano una DMT presentano una riduzione statisticamente significativa dei NfL sierici rispetto a coloro che assumono placebo o che proseguono l'osservazione clinica senza intraprendere alcuna DMT (11,15). Analogamente, i pazienti che effettuano un passaggio da trattamenti di I linea a quelli di II linea ne presentano una riduzione significativa (6,9) e in generale i trattamenti di II linea si sono dimostrati più efficaci rispetto alle prime linee e al placebo nella riduzione dei NfL sierici (11).

In conclusione i NfL, valutabili oggi con grande sensibilità attraverso un banale prelievo venoso, sono in

grado di rivelare da un lato l'attività acuta di malattia, dall'altro il peggioramento della disabilità e la perdita tissutale che ne conseguono.

È possibile che nel prossimo futuro, assieme ai dati clinici e neuro-radiologici, i NfL possano assumere il ruolo di biomarcatore prognostico anche in ambito clinico, aiutando il neurologo nell'identificazione di pazienti *non responders* o *partial responders* ad un trattamento *disease-modifying*. Potrebbero aiutare a

comprendere quali sono i pazienti che, nonostante un'apparente stabilità, presentino attività infiammatoria subclinica, eventualmente non rilevabile nemmeno alle indagini RMN e siano pertanto a maggior rischio di ricaduta. Oggi un valore molto basso di NfL può escludere con sicurezza attività acuta di malattia. Tuttavia, data la scarsa specificità del biomarcatore, un valore elevato potrebbe anche dipendere da insulti del Sistema Nervoso Cen-

trale e Periferico ad eziogenesi non riconducibile alla SM, quale quella di tipo vascolare ischemica, vasculitica, infettiva, traumatica, degenerativa o neuropatica.

Ulteriori studi di tipo prospettico e su popolazioni più numerose sono necessari allo scopo di delineare valori di riferimento standardizzati che tengano in considerazione anche dell'incremento fisiologico età-dipendente di tale biomarcatore sierico ■

## Bibliografia

- Giovannoni G, Turner B, Gnanapavan S, et al. Is it time to target no evident disease activity (NEDA) in multiple sclerosis? *Mult Scler Relat Disord*. 2015;4(4):329-33.
- van Munster CE, Jonkman LE, Weinstein HC, et al. Gray matter damage in multiple sclerosis: Impact on clinical symptoms. *Neuroscience*. 2015;303:446-61.
- Dubuisson N, Puentes F, Giovannoni G, Gnanapavan S. Science is 1% inspiration and 99% biomarkers. *Mult Scler*. 2017;23(11):1442-1452.
- Al-Chalaby A, Miller CC. Neurofilaments and neurological disease. *Biessays*. 2003;25(4):346-55.
- Novakova L, Axelsson M, Khademi M, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers as a measure of disease activity and treatment efficacy in relapsing-remitting multiple sclerosis. *J Neurochem*. 2017;141(2):296-304.
- Disanto G, Barro C, Benkert P, et al; Swiss Multiple Sclerosis Cohort Study Group. Serum neurofilament light: a biomarker of neuronal damage in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2017;81(6):857-870.
- van der Vuurst de Vries RM, Wong YYM, Mescheriakova JY, et al. High neurofilament levels are associated with clinically definite multiple sclerosis in children and adults with clinically isolated syndrome. *Mult Scler*. 2019;25(7):958-967.
- Sellebjerg F, Royen L, Soelberg Sørensen P, et al. Prognostic value of cerebrospinal fluid neurofilament light chain and chitinase-3-like-1 in newly diagnosed patients with multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2018 Aug 16; 1352458518794308.
- Piehl F, Kockum I, Khademi M, et al. Plasma neurofilament light chain levels in patients with MS switching from injectable therapies to fingolimod. *Mult Scler*. 2018;24(8):1046-1054.
- Novakova L, Zetterberg H, Sundström P, et al. Monitoring disease activity in multiple sclerosis using serum neurofilament light protein. *Neurology*. 2017; 89(22):2230-2237.
- Kuhle J, Kropshofer H, Haering DA, et al. Blood neurofilament light chain as a biomarker of MS disease activity and treatment response. *Neurology*. 2019;92(10):e1007-e1015.
- Barro C, Benkert P, Disanto G, et al. Serum neurofilament light chain as a predictor of disease worsening and brain and spinal cord atrophy in multiple sclerosis. *Brain*. 2018;141(8):2382-2391.
- Kappos L. Neurofilament light levels in the blood of patients with secondary progressive MS are higher than in primary progressive MS and may predict brain atrophy in both MS subtypes. *ECTRIMS Online Library*. Oct 12, 2018; 232039.
- Modvig S, Degn M, Roed H, et al. Cerebrospinal fluid levels of chitinase 3-like 1 and neurofilament light chain predict multiple sclerosis development and disability after optic neuritis. *Mult Scler*. 2015;21(14):1761-70.
- Siller N, Kuhle J, Muthuraman M, et al. Serum neurofilament light chain is a biomarker of acute and chronic neuronal damage in early multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2019;25(5):678-686.