

Il neurofilamento nella sclerosi multipla e nelle altre malattie autoimmuni del sistema nervoso centrale

Luigi Zuliani

Centro Sclerosi Multipla e Laboratorio di Neurobiologia, U.O.C. di Neurologia - Ospedale S. Bortolo, Vicenza

Neurofilamento e Neurologia

Il danno neuro-assonale costituisce il substrato patologico della disabilità permanente in vari disturbi neurologici tra i quali la sclerosi multipla.

La capacità di rilevare e seguire prontamente il danno assonale rappresenta un potenziale grande vantaggio nella valutazione dell'attività di malattia, nel monitoraggio delle risposte al trattamento e nella prognosi.

Le proteine del neurofilamento stanno guadagnando sempre più interesse come biomarcatori di danno neuro-assonale. I neurofilamenti sono infatti abbondanti proteine strutturali espresse esclusivamente nei neuroni e che possono raggiungere livelli anomali a causa del danno assonale non solo nel liquido cerebrospinale ma anche nel sangue. Le funzioni precise dei neurofilamenti rimangono sconosciute, ma si ritiene siano fondamentali per la crescita radiale e la stabilità degli assoni, consentendo così una conduzione nervosa efficace e ad alta velocità⁽¹⁾.

Metodi di rilevazione e quantificazione del NfL

Sino a poco tempo fa, le misurazioni della proteina del neurofilamento più promettente come potenziale biomarcatore, la catena leggera del neurofilamento (NfL), potevano essere eseguite solo su campioni di liquido cerebrospinale, principalmente a causa di una insufficiente sensibilità dei test a livello ematico. Nel liquido cerebrospinale i livelli di proteine del neurofilamento sono aumentati in un'ampia gamma di malattie neurologiche. A causa dell'invasività della puntura lombare studi longitudinali sono stati tuttavia raramente eseguiti⁽²⁾.

I livelli di neurofilamento nel sangue possono essere quantificati mediante metodica ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) o la più sensibile elettrochemiluminescenza (ECL), ma nessuna delle due tecniche può

rilevare piccole modifiche correlate all'eventuale evoluzione della malattia. Solo la recente introduzione dei saggi SiMoA (*single-molecule array*) ha consentito il rilevamento affidabile di NfL nei campioni di sangue. La tecnologia SiMoA di quarta generazione è infatti 126 volte e 25 volte più sensibile dei saggi ELISA e ECL, rispettivamente, per la quantificazione di NfL⁽³⁾.

Una stretta correlazione tra i livelli di NfL nel siero e i livelli nel liquido cerebrospinale è stata dimostrata in numerose patologie consentendo quindi di trarre conclusioni sul grado di danno neuro-assonale senza la necessità di ricorrere alla puntura lombare^(1,4).

Il Neurofilamento nella sclerosi multipla

I livelli liquorali ed ematici di proteine del neurofilamento sono stati misurati in varie malattie neurologiche con buone prove a sostegno del loro valore diagnostico e prognostico. Tra le patologie indagate vi sono la sclerosi multipla, le demenze, la sclerosi laterale amiotrofica, la malattia di Parkinson, la malattia di Huntington, l'ictus e il trauma cranico⁽¹⁾. La sclerosi multipla (SM) è una malattia infiammatoria cronica del SNC in cui il danno neuro-assonale è strettamente correlato all'attività clinica e radiologica di malattia⁽⁵⁾.

La correlazione tra i valori liquorali di NfL e quelli sierici (sNfL) nella SM sono state ampiamente confermate⁽⁶⁻⁷⁾.

NfL sierico come biomarcatore diagnostico nella SM

La sNfL non è sufficiente per una diagnosi di SM o per differenziare la SM da altre malattie infiammatorie del sistema nervoso centrale (SNC) come le patologie dello spettro della neuromielite ottica (NMOSD) o la malattia associata ad anticorpi anti-MOG (MOGAD)⁽⁸⁻¹¹⁾.

Tuttavia, in situazioni cliniche specifiche, il NfL siero può

contribuire alla diagnostica differenziale.

Ad esempio, i pazienti che sviluppano la leucoencefalopatia multifocale progressiva (PML) in trattamento con natalizumab hanno un aumento di sNfL più marcato rispetto a quelli con recidive correlate alla SM⁽¹²⁾.

Inoltre, nei pazienti con sindrome radiologicamente isolata (RIS) e sindrome clinicamente isolata (CIS) livelli elevati di sNfL indicano un rischio maggiore di sviluppare la SM in futuro⁽¹³⁾.

NfL sierico come biomarcatore di attività di malattia

Le ricadute e le lesioni captanti il gadolinio che causano danno neuronale acuto sono i determinanti più importanti dei picchi ematici della sNfL, anche a causa del concomitante danno della barriera emato-encefalica. Inoltre livelli elevati di sNfL sono stati associati a un aumentato rischio di ricadute negli anni a venire⁽⁶⁾.

Vari studi hanno confermato il valore predittivo di alti livelli della sNfL per la futura atrofia cerebrale mentre i dati relativi alla progressione della disabilità sono stati finora meno convincenti⁽⁶⁾. Una spiegazione plausibile alle discrepanze osservate è legata al fatto che i livelli della sNfL riflettono fortemente il danno neuronale infiammatorio acuto, dovuto a ricadute o lesioni subcliniche alla RM, potenzialmente mascherando quindi processi neurodegenerativi a lenta progressione⁽⁶⁾.

NfL sierico in combinazione con altri marcatori

L'uso combinato della sNfL assieme ad altri biomarca-

tori che riflettono l'attivazione gliale, l'infiammazione intratecale o la patologia della materia grigia sono molto promettenti. La proteina gliale fibrillare acida (GFAP), la principale proteina del citoscheletro degli astrociti, sta suscitando grande interesse come secondo importante biomarcatore ematico in correlazione con la sNfL⁽¹⁴⁾.

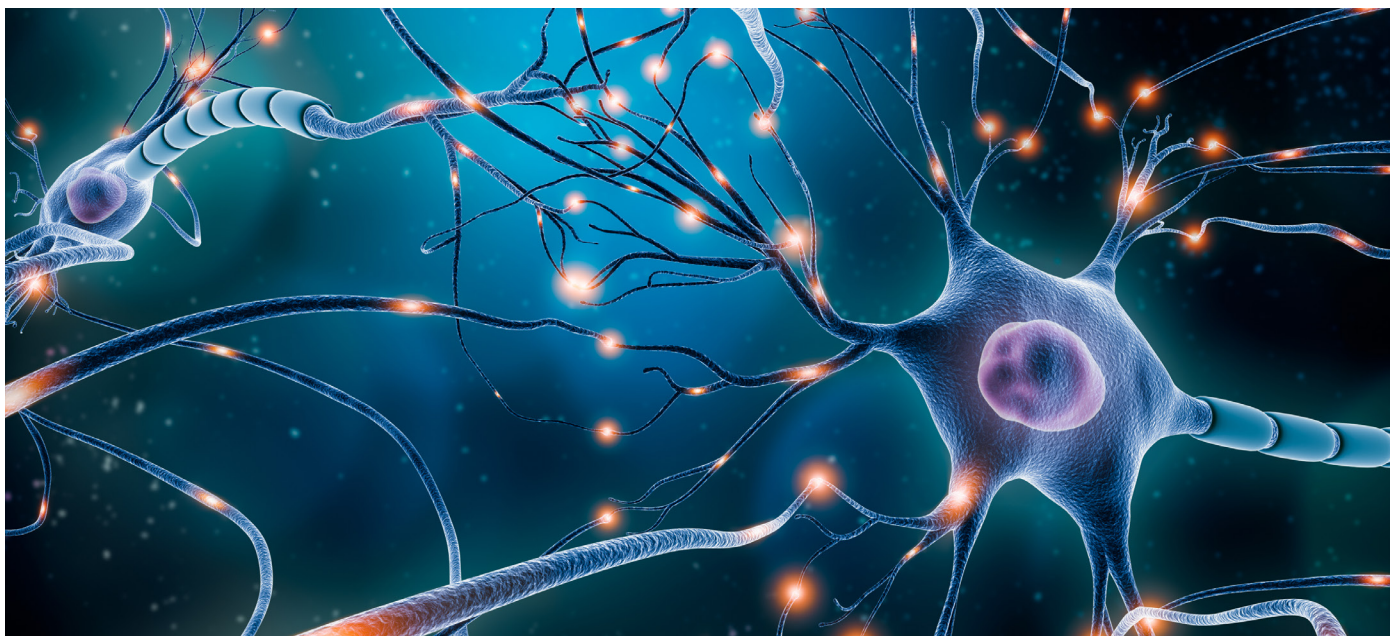
I primi studi nei pazienti con SM hanno suggerito che i livelli di GFAP non aumentano particolarmente in corso di ricadute o infiammazione acuta suggerendo quindi un possibile utilizzo di GFAP nel chiarire la patologia neurodegenerativa gliale in atto.

La valutazione simultanea di sNfL e GFAP potrebbe essere utile per differenziare l'attività della SM nei diversi stadi della malattia⁽⁶⁾.

NfL sierico come biomarcatore della risposta al trattamento

I valori della sNfL nei pazienti con SM in trattamento con farmaci immunomodulanti sono generalmente inferiori rispetto ai pazienti non trattati e l'inizio di qualsiasi trattamento è associato a una diminuzione del livello di sNfL⁽¹⁵⁾. Nello studio ASCLEPIOS (ofatumumab *versus* teriflunomide), la sNfL è stata inclusa per la prima volta in modo prospettico come *endpoint* secondario in uno studio di fase 3 sulla SM⁽¹⁶⁾.

Le misurazioni ripetitive e la valutazione delle variazioni longitudinali della sNfL saranno probabilmente una parte importante del supporto e della gestione delle decisioni terapeutiche⁽⁶⁾.



Il Neurofilamento nelle patologie infiammatorie demielinizzanti associate ad anticorpi anti-gliali (AQP4 e MOG)

I disordini dello spettro della neuromielite ottica (NMOSD) comprendono un gruppo di malattie autoimmuni infiammatorie del sistema nervoso centrale (SNC) con una predilezione per i nervi ottici e il midollo spinale⁽¹⁷⁾. La maggior parte dei pazienti con NMOSD presenta anticorpi contro i canali dell'acqua acquaporina-4 (AQP4-Ac), che si trovano prevalentemente alle estremità dei processi astrocitari. La NMOSD AQP4-Anticorpo-positiva è considerata pertanto un'astrocitopatia autoimmune con demielinizzazione secondaria. Utilizzando saggi cellulari (*cell-based assays*), gli anticorpi della glicoproteina mielinica degli oligodendrociti (MOG-Ac) possono essere rilevati in un sottogruppo di pazienti NMOSD che sono AQP4-Ac negativi. I casi di malattia associata ad anticorpi anti-MOG (MOGAD) mostrano da un punto di vista patologico una demielinizzazione predominante con conservazione degli astrociti⁽¹⁸⁾. I livelli di sNfL sono significativamente elevati nei pazienti con NMOSD, in particolare, e MOGAD^(11, 18-19). A differenza della SM nei pazienti con NMOSD non è stato osservato un cambiamento significativo nei livelli di sNfL tra le fasi di ricaduta e remissione^(10, 18).

I livelli di GFAP sierica sono notevolmente più alti nei pazienti con NMOSD AQP4-ab-positivi e il rapporto sGFAP/sNfL ha mostrato una buona discriminazione tra i tre gruppi di malattie.

Livelli diversi di sNfL e sGFAP sottendono contributi diversi del danno astrocitario e neuronale. I pazienti con NMOSD AQP4-Ac hanno rapporti sGFAP/sNfL più alti, a conferma della natura astrocitopatica dominante di questa patologia. Il rapporto sGFAP/sNfL è più basso nella SMRR, in verosimile relazione ad una compromissione neuro-assonale prevalente sull'astrocitopatia, mentre MOGAD si colloca ad un livello intermedio⁽¹⁸⁾.

I livelli di sNfL sono aumentati in corso di ricadute nei pazienti con MOGAD e SMRR, mentre i livelli di sGFAP sono aumentati in tutti e tre i gruppi di malattie. Infine sia le concentrazioni di sNfL che di sGFAP sembrano correlare ai punteggi EDSS nei pazienti NMOSD e MOGAD^(10, 18).

Il Neurofilamento nelle encefaliti autoimmuni associate ad anticorpi anti-neuronali

I due tipi più comuni di encefaliti autoimmuni (EA) associate ad anticorpi anti-neuronali sono l'encefalite da anticorpi anti-NMDAR receptor (NMDAR-E) e l'encefalite

da anticorpi anti-LGI1 (LGI1-E)⁽²⁰⁾. Le EA possono essere difficili da trattare e buoni biomarcatori che assistano nel processo decisionale sono scarsi.

Livelli elevati di NfL nel liquido cerebrospinale alla diagnosi sembrano associarsi ad un esito di malattia a lungo termine più sfavorevole sia nella NMDAR-E che in LGI1-E⁽²¹⁾. Nel siero i livelli di NfL sono significativamente aumentati nei pazienti con EA mediata da anticorpi, in correlazione con i livelli liquorali, indipendentemente dal profilo infiammatorio liquorale o di risonanza e dal tipo di anticorpi⁽²²⁾. Una sfida importante nella diagnosi di NMDAR-E è la diagnosi differenziale con un primo episodio di psicosi dovuto a malattia psichiatrica, in assenza di altri elementi clinici suggestivi di encefalite. Il test anticorpale a livello liquorale permette la diagnosi differenziale, ma le punture lombari sono difficili da ottenere nelle strutture psichiatriche. Un recente studio ha dimostrato come la sNfL misurato alla diagnosi di NMDAR-E correla con la gravità della malattia ma non con l'esito a lungo termine. In particolare è stato dimostrato che i pazienti giovani con un primo episodio di psicosi ed elevati livelli di sNfL hanno una elevata probabilità di avere NMDAR-E giustificando in tal modo l'esecuzione di test anticorpali nel liquido cerebrospinale nei pazienti con un primo episodio psicotico ad eziologia non chiara⁽²³⁾.

Conclusioni

La misurazione delle proteine del neurofilamento a livello sierico con metodiche ad elevata sensibilità ha dimostrato di poter colmare una lacuna nella valutazione del danno neuro-assonale in vari disturbi neurologici tra i quali la SM e altre malattie autoimmuni del SNC.

Per la prima volta, questo approccio fornisce una valutazione delle conseguenze del danno al tessuto cerebrale con un semplice campione ematico, un progresso importante per aiutare la ricerca e la pratica clinica.

Numerosi studi nella SM studi hanno collegato la sNfL con l'attività della malattia, la progressione della disabilità, la risposta al trattamento e la prognosi nei pazienti con SM, comprovando il ruolo della sNfL come primo biomarcatore ematico di attività di malattia e di risposta al trattamento. Analogamente un ruolo simile sta emergendo anche in altre malattie infiammatorie del SNC, potenzialmente in combinazione con altri biomarcatori.

Data la continua espansione del panorama terapeutico nella SM la sNfL potrà supportare un processo decisionale individualizzato. Ulteriori studi saranno necessari per capire come integrare questi risultati con i dati clinici e radiologici.

Bibliografia

1. Khalil M, Teunissen CE, Otto M, et al. Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders. *Nat. Rev. Neurol.* 2018; 14:577–589. Available at: <http://www.nature.com/articles/s41582-018-0058-z>.
2. Deisenhammer F, Egg R, Giovannoni G, et al. EFNS guidelines on disease-specific CSF investigations. *Eur. J. Neurol.* 2009; 16(6):760–e163.
3. Kuhle J, Barro C, Andreasson U, et al. Comparison of three analytical platforms for quantification of the neurofilament light chain in blood samples: ELISA, electrochemiluminescence immunoassay and Simoa. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2016; 54(10):1655–1661.
4. Disanto G, Barro C, Benkert P, et al. Serum Neurofilament light: A biomarker of neuronal damage in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 2017; 81(6):857–870.
5. Reich DS, Lucchinetti CF, Calabresi PA. *Multiple Sclerosis.* *N. Engl. J. Med.* 2018; 378(2):169–180.
6. Bittner S, Oh J, Havrdová EK, Tintoré M, Zipp F. The potential of serum neurofilament as biomarker for multiple sclerosis. *Brain.* 2021; 144(10):2954–2963.
7. 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.
8. Peng L, Bi C, Xia D, Mao L, Qian H. Increased cerebrospinal fluid neurofilament light chain in central nervous system inflammatory demyelinating disease. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2019; 30(January):123–128. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.msard.2019.02.009>.
9. Kim H, Lee EJ, Kim S, et al. Serum biomarkers in myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody-associated disease. *Neurol. Neuroimmunol. neuroinflammation.* 2020; 7(3):1–6.
10. Watanabe M, Nakamura Y, Michalak Z, et al. Serum GFAP and neurofilament light as biomarkers of disease activity and disability in NMOSD. *Neurology.* 2019; 93(13):E1299–E1311.
11. Mariotto S, Ferrari S, Gastaldi M, et al. Neurofilament light chain serum levels reflect disease severity in MOG-Ab associated disorders. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2019; 90(11).
12. Dalla Costa G, Martinelli V, Moiola L, et al. Serum neurofilaments increase at progressive multifocal leukoencephalopathy onset in natalizumab-treated multiple sclerosis patients. *Ann. Neurol.* 2019; 85(4):606–610.
13. Matute-Blanch C, Villar LM, Álvarez-Cermeño JC, et al. Neurofilament light chain and oligoclonal bands are prognostic biomarkers in radiologically isolated syndrome. *Brain.* 2018; 141(4):1085–1093.
14. Abdelhak A, Foschi M, Abu-Rumeileh S, et al. Blood GFAP as an emerging biomarker in brain and spinal cord disorders. *Nat. Rev. Neurol.* 2022; 0123456789.
15. Preziosa P, Rocca MA, Filippi M. *Current state-of-art of the application of serum neurofilaments in multiple sclerosis diagnosis and monitoring.* Taylor & Francis; 2020. Available at: <https://doi.org/10.1080/14737175.2020.1760846>.
16. Hauser SL, Bar-Or A, Cohen JA, et al. Ofatumumab versus Teriflunomide in Multiple Sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383(6):546–557.
17. Wingerchuk DM, Banwell B, Bennett JL, et al. *International consensus diagnostic criteria for neuromyelitis optica spectrum disorders.* *Neurology.* 2015; 85(2):177–189. Available at: <http://www.neurology.org/content/85/2/177.abstract?etoc>.
18. Chang X, Huang W, Wang L, et al. Serum Neurofilament Light and GFAP Are Associated With Disease Severity in Inflammatory Disorders With Aquaporin-4 or Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Antibodies. *Front. Immunol.* 2021; 12(March).
19. Mariotto S, Farinazzo A, Monaco S, et al. Serum neurofilament light chain in NMOSD and related disorders: Comparison according to aquaporin-4 and Myelin Oligodendrocyte glycoprotein antibodies status. *Mult. Scler. J. - Exp. Transl. Clin.* 2017; 3(4).
20. Zuliani L, Marangoni S, De Gaspari P, et al. Epidemiology of neuronal surface antibody-mediated autoimmune encephalitis and antibody-based diagnostics. *J. Neuroimmunol.* 2021; (April):577598. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2021.577598>.
21. Nissen MS, Ryding M, Nilsson AC, et al. CSF-Neurofilament Light Chain Levels in NMDAR and LGI1 Encephalitis: A National Cohort Study. *Front. Immunol.* 2021; 12(December):1–11.
22. Mariotto S, Gajofatto A, Zuliani L, et al. Serum and CSF neurofilament light chain levels in antibody-mediated encephalitis. *J. Neurol.* 2019; 266:1643–1648.
23. Guasp M, Martín-Aguilar L, Sabater L, et al. Neurofilament Light Chain Levels in Anti-NMDAR Encephalitis and Primary Psychiatric Psychosis. *Neurology.* 2022; Feb 10.