

La progressione silente nella sclerosi multipla: ruolo dei biomarcatori umorali e radiologici

Maria Trotta

UOC Neurologia Azienda Ospedaliera Annunziata di Cosenza

Introduzione

Con la locuzione “progressione silente” s’intende quell’insidioso aumento della disabilità che si manifesta nei pazienti affetti da SMRR indipendentemente dalle ricadute cliniche e/o dalla comparsa di nuove lesioni riscontrabili alla RM cerebro-midollare. Tale fenomeno, espressione di un significativo aumento di perdita di volume cerebrale dovuto a sua volta a processi neurodegenerativi diffusi specialmente nella materia grigia corticale, è presente sin dall’esordio della patologia e si estrinseca soprattutto come progressione indipendente dall’attività della stessa (PIRA)⁽¹⁾. Tuttavia la manifestazione clinica della SMSP è ritardata nel tempo grazie al compenso esercitato dai molteplici meccanismi di plasticità neuronale, riserva cerebrale e cognitiva il cui esaurimento è verosimilmente responsabile della transizione alla forma SMSP clinicamente manifesta^(2,3). Poiché tale passaggio non è netto spesso è difficile stabilire con esattezza l’inizio della forma progressiva, infatti si stima che ci sia un ritardo di circa 3 anni tra l’inizio della fase SP e la sua diagnosi clinica, diagnosi che spesso viene posta in maniera retrospettiva utilizzando le scale cliniche correnti (principalmente EDSS e FSS)⁽⁴⁾.

A tal fine si sta cercando di rendere più sensibile ed esauritiva la valutazione della disabilità clinica applicando una versione modificata dell’EDSS convenzionale implementata con altre misure quali il *Timed 25-Foot Walk* e *9-Hole Peg Test* ossia il cosiddetto EDSS plus⁽⁵⁾ o utilizzando test cognitivi di facile applicabilità e altamente sensibili come il *Symbol Digit Modality Test* (SDMT)⁽⁶⁾ e il PASAT per esplorare i domini cognitivi che più facilmente si deteriorano nella SM vale a dire l’attenzione sostenuta/*working memory* e le funzioni esecutive⁽⁷⁾. Vista la necessità d’identificare anticipatamente una progressione di malattia, al fine di formulare una prognosi precisa e di poter intervenire con terapie adeguate, negli ultimi anni stanno emergen-

do *markers* biologici sempre più precisi; in linea generale sono stati individuati 5 gruppi di marcatori clinici, umorali e radiologici⁽⁸⁾.

Biomarcatori umorali: le catene leggere dei neurofilamenti

Tra i vari biomarcatori umorali proposti, attualmente si pone molta attenzione alla catena leggera del neurofilamento (NfL), ossia ad una sub-unità proteica che è parte integrante del citoscheletro neuronale. Pertanto un danno assonale di qualsiasi natura comporta un rilascio di NfL nel compartimento liquorale e successivamente in quello ematico in maniera più marcata se il danno riguarda gli assoni di maggior calibro, ossia quelli mielinizzati^(9,10). Grazie allo sviluppo in laboratorio di metodiche immunoenzimatiche ultrasensibili in grado di misurare analiti anche a basse concentrazioni sia nel liquor che nel sangue, le catene leggere dei neurofilamenti possono essere dosate nel liquor attraverso una tecnica abbastanza diffusa ossia l’*enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) e nel sangue, dove le concentrazioni sono circa 40 volte inferiori rispetto al liquor, mediante una metodica laboratoristica sviluppata più recentemente ovvero il *Single Molecule Array* (Simoa)⁽⁹⁾. Anche in assenza di patologie neurologiche vi è un fisiologico rilascio di NfL nello spazio interstiziale del sistema nervoso centrale, verosimilmente espressione dei processi d’invecchiamento a carico del cervello⁽¹¹⁾. Altri fattori che influenzano le concentrazioni di neurofilamenti a livello umorale sono il BMI (soprattutto nei giovani)⁽¹⁰⁾, la funzionalità renale, il volume ematico, l’attività fisica, i traumi e le malattie dei piccoli vasi. Vista l’aspecificità delle variazioni dei NfL e la scarsa capacità nel distinguere la SM da altre patologie neurodegenerative, le concentrazioni di tali sub-unità proteiche non hanno valenza diagnostica piuttosto forniscono una stima prognostica a lungo termine monitorando il decorso della patologia e valutando

la risposta alle varie terapie *disease-modifying*. Quindi, più che le concentrazioni assolute dei NfL, si vanno a valutare le fluttuazioni nel tempo di questi analiti quali biomarcatori di danno assonale associato a progressione di disabilità nei pazienti affetti dalle forme PP e SP (è stato visto in questo caso un aumento di tali valori del 20%)⁽¹²⁾.

Uno studio estremamente rilevante pubblicato recentemente dallo *Swiss Multiple Sclerosis Cohort Study Group* pone le basi per un uso del NfL nella pratica clinica⁽¹³⁾.

In questo lavoro è stato elaborato un *database* di riferimento sui dati riportati da un'ampia coorte composta da pazienti e da controlli sani. Gli autori di questo lavoro hanno modellato la distribuzione della concentrazione dei NfL sierici in funzione dell'aumento fisiologico di tali valori correlato all'età e al BMI per trarre i valori di percentile della concentrazione di neurofilamenti e di uno *Z score*, tali dati normativi ci consentono d'identificare in modo individuale le persone con SM a rischio di un decorso progressivo e di una risposta terapeutica sub-ottimale tra le misure cliniche e radiologiche soprattutto nei pazienti con uno stato di malattia *activity-free*⁽¹³⁾.

Biomarcatori radiologici: RM, OCT e PET

Nell'ambito delle neuroimmagini, i marcatori più usati con significato prognostico sulla progressione sono: le misure di atrofia cerebrale globale e regionale, le misure di atrofia midollare, le lesioni ipointense in T1 e le *smoldering lesions*. L'atrofia della sostanza grigia è un noto marcatore di neuro-degenerazione, si valuta con risonanze magnetiche seriate nel tempo e tipicamente viene misurata con immagini 3D standard T1-pesate, usando dei programmi completamente automatizzati, tra i quali: il metodo SIE-NA (*Structural Image Evaluation of Normalized Atrophy*) e il BBSI (*Brain Boundary Shift Integral*)⁽¹⁴⁾. Recentemente è stato stabilito un *cut-off* per distinguere la perdita fisiologica di volume cerebrale da quella patologica (0.40% per anno)⁽¹⁵⁾. L'atrofia della sostanza grigia è presente in tutti i fenotipi di SM ed è associata all'accumulo della disabilità, in particolare essa appare accelerata nella forma SM progressiva rispetto a quella RR (rispettivamente: -0.87% vs -0.48%)⁽¹⁶⁾. Alcune aree cerebrali quali la corteccia cingolata, la materia grigia corticale insulare, temporale e quella profonda (nuclei putamen e caudato) sviluppano atrofia più precocemente rispetto ad altre aree nei pazienti affetti da SM. In particolare l'atrofia corticale, rispetto a quella cerebrale globale, mostra una maggiore associazione con la disfunzione clinica (soprattutto cognitiva)⁽¹⁷⁾.

Il volume talamico è un'altra misura volumetrica radiologica che viene valutata per determinare la presenza di

un'eventuale neurodegenerazione nella Sclerosi Multipla, infatti l'atrofia talamica diffusa è associata ad un maggior rischio, a 5 anni, di un aumento dell'EDSS⁽¹⁸⁾ e, più in dettaglio, l'atrofia del nucleo talamico anteriore è correlata ad una riduzione della velocità di elaborazione cognitiva dei dati⁽¹⁹⁾. Un marcatore d'*imaging* promettente è rappresentato dalle cosiddette lesioni cronicamente attive chiamate anche "*smoldering lesions*" o "SELs" (*slowly expanding/evolving lesions*) che in precedenza potevano essere rilevate solo in ambito neuropatologico. Tali lesioni, oggi riscontrate con le sequenze RM 3T pesate in suscettibilità magnetica (SWI), si mostrano come placche non captanti gadolinio che presentano i cosiddetti "*rims*" o bordi paramagnetici ossia dei bordi scuri, ipointensi e in espansione. Da un punto di vista istopatologico esse sono caratterizzate da un centro inattivo circondato da un bordo contenente microglia/macrofagi carichi di ferro in uno stato di attività infiammatoria cronica di basso livello, da una scarsa rimielinizzazione e da un conseguente danno assonale focale progressivo e irreversibile. In queste lesioni gli infiltrati linfocitari (soprattutto i linfociti T CD8+), giocano un ruolo cruciale creando un danno tissutale, direttamente o indirettamente, in seguito al rilascio di mediatori infiammatori e citotossici responsabili dell'attivazione cronica delle cellule della microglia⁽²⁰⁾. Tale stato infiammatorio può rimanere immutato nel tempo^(21,22,23) o può regredire gradualmente, ritornando, dopo alcuni anni, all'aspetto di lesioni che appaiono come sostanza bianca "*normal-appearing*"⁽²⁴⁾. Le SELs sono associate a forme di SM più aggressive e correlano con misure di disabilità e di progressione di malattia, infatti i pazienti con multiple SEL (≥ 4) presentano un decorso più aggressivo e raggiungono una disabilità motoria e cognitiva più elevata o evolvono ad una forma progressiva ad un'età più giovanile rispetto agli altri pazienti affetti da SM⁽²⁵⁾.



La tomografia ottica computerizzata (OCT, *Optical Coherence Tomography*) è una tecnica di *neuroimaging* basata su un fascio laser privo di radiazioni nocive che viene impiegato per analizzare le strutture oculari mediante sezioni ad alta risoluzione e ad alto grado di riproducibilità.

Tale esame, misurando i diversi strati retinici, è in grado di valutare la presenza di un'eventuale atrofia retinica. Più nello specifico, i dati a disposizione mostrano come nei pazienti affetti da SM gli spessori dello strato delle fibre nervose retiniche peripapillari (pRNFL), delle cellule ganglionari e dello strato plessiforme interno (GCIPL) rappresentino dei marcatori di danno assonale diffuso nella SM⁽²⁶⁾. Tale assottigliamento è stato osservato sia in pazienti che hanno avuto una pregressa neurite ottica, sia in coloro che non ne hanno mai sofferto. In quest'ultimo caso si è visto che i pazienti presentano una perdita di spessore di pRNFL e GCIPL di circa 6-7 µm rispetto ai controlli sani⁽²⁷⁾ per cui sono stati ipotizzati diversi meccanismi; alcuni suggeriscono che il danno assonale sia il risultato di una lieve pregressa neurite ottica subclinica; altri ritengono sia la SM stessa a provocare una degenerazione primitiva dei neuroni del GCIPL; sembrerebbe, inoltre, che alla base del processo vi possa essere una degenerazione trans-sinaptica che derivi da una sofferenza a livello del SNC^(27,28).

Il primo studio, che ha messo in relazione lo spessore del pRNFL con sequenze di risonanza magnetica suggerendo che la retina possa rappresentare un *marker* di atrofia cerebrale, risale al 2007⁽²⁹⁾. Da allora sono stati pubblicati numerosi lavori che hanno dimostrato come i parametri OCT possono essere utilizzati per predire l'evoluzione della malattia nei pazienti con SM.

La tomografia ad emissione di positroni (PET) è basata

sull'iniezione di radiotraccianti diretti contro un *target* molecolare specifico, tale metodica ha il vantaggio di fornire informazioni sulla biochimica delle varie lesioni demielinizzanti per cui ha consentito di comprendere meglio i meccanismi biologici chiave che sottendono la fisiopatologia della SM quali la rimielinizzazione, l'attivazione del sistema immunitario innato e la neurodegenerazione. Studi PET pilota eseguiti a diversi stadi di malattia hanno recentemente dimostrato l'eterogeneità delle placche in un dato paziente affetto da SM riflettendo un profilo individuale di lesioni rimielinizzate e d'infiammazione cronica, ciò sottolinea decorsi singolari nel peggioramento della disabilità. Studi PET futuri consentiranno di analizzare più in dettaglio la relazione tra l'eterogeneità delle lesioni e la neurodegenerazione durante il decorso della malattia e di sviluppare *trial* terapeutici innovativi il cui scopo è il controllo della neuroinfiammazione e la promozione della rimielinizzazione. Collegando il divario tra la patologia e la valutazione clinica, la combinazione di PET e RM rappresenta una grande promessa nel campo dell'*imaging* della sclerosi multipla⁽³⁰⁾.

Conclusioni

In un prossimo futuro, grazie all'identificazione di marcatori di progressione validati sempre più sensibili, specifici e di facile applicabilità, è possibile prevenire il processo neurodegenerativo grazie all'utilizzo precoce delle terapie farmacologiche più efficaci disponibili. Si tratta di imparare a trattare le forme progressive nelle fasi iniziali di malattia, ossia molto tempo prima che s'instauri il processo neurodegenerativo vero e proprio, in quei pazienti che all'esordio rivelano specifiche caratteristiche rispetto ai marcatori di rischio di progressione identificati.

Bibliografia

1. University of California, San Francisco MS-EPIC Team, Cree BAC, Hollenbach JA et al. Silent progression in disease activity-free relapsing multiple sclerosis. *Ann Neurology* 2019 May; 85(5): 653-666.
2. Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, et al. Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology* 83(3):278-286.
3. Inojosa H, Proschmann U, Akgün K, et al. A focus on secondary progressive multiple sclerosis (SPMS): challenges in diagnosis and definition *J Neurol* 2021 Apr; 268(4):1210-1221.
4. Kats Sand I, Krieger S, Farrell C, et al. Diagnostic uncertainty during the transition to secondary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler (Houndmills, Basingstoke, Engl)* 20(12): 1654-1657.
5. Cadavid, Cohen JA, Freedman MS et al. The EDSS-plus, an improved end-point for disability progression in secondary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler (Hounmills, Basingstoke, Engl)* 23(1): 94-105.

6. Van Schependom J, D'Hooghe M B, Haelewyck MC, De Keyser J, et al. The symbol digit modality test as sentinel test for cognitive impairment in multiple sclerosis. *Eur J Neurol* (2014) 21: 1219-25.
7. Oreja-Guevara C, Ayuso Blanco T, Brieva Ruiz I, Hernandez Perez MA, Meca-Lallana V, Ramio-Torrenta L. Cognitive dysfunctions and assessments in multiple sclerosis. *Front. Neurol.* (2019).
8. Filippi M, Preziosa P, Langdon D, Lassmann H, Friedemann P, Rovira A, Schonheim M, Solari A, Stankoff B, Rocca M. Identifying progression in multiple sclerosis: new perspectives. *Ann. Neurol.* 2020 Sep; 88(3): 438-452.
9. Rissin DM, Kan CW, Campbell TG et al. Single-molecule enzyme-linked immunosorbent assay detects serum proteins at subfemtomolar concentrations. *Nat Biotechnol.* 2010; 28 (6): 595-9.
10. Yuan A, Kumar A, Peterhoff C, Duff K, Nixon RA. Neurofilaments and neurofilament proteins in health and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017;9(4). pii: a018309.
11. 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):857-70.
12. 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.
13. Pascal Benkert, Stephanie Meier, Sabine Schaedelin, Ali Manouchehrinia, Özgür Yaldizli, Aleksandra Maceski, Johanna Oechtering, Lutz Achtnichts, David Conen, Tobias Derfuss, Patrice H Lalive, Christian Mueller, Stefanie Müller, Yvonne Naegelin, Jorge R Oksenberg, Caroline Pot, Anke Salmen, Eline Willemse, Ingrid Kockum, Kaj Blennow, Henrik Zetterberg, Claudio Gobbi, Ludwig Kappos, Heinz Wiendl, Klaus Berger, Maria Pia Sormani, Cristina Granziera, Fredrik Piehl, David Leppert, Jens Kuhle. Serum neurofilament light chain for individual prognostication of disease activity in people with multiple sclerosis: a retrospective modelling and validation study. *NFL Reference Database in the Swiss Multiple Sclerosis Cohort Study Group*
14. De Stefano N, Battaglini M, Smith SM. Measuring brain atrophy in multiple sclerosis. *J Neuroimaging* (2007)17 (suppl 1): 10S-5S.
15. De Stefano N, Stromillo ML, Giorgio A, Bartolozzi ML, Battaglini M, Baldini M et al. Establishing pathological cut-offs of brain atrophy rates in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* (2018) 87:93-9.
16. Eijlers AJC, Dekker I, Steenwijk MD, Meijer KA, Hulst HE, Pouwels PJW, et al. Cortical atrophy accelerates as cognitive decline worsens in multiple sclerosis. *Neurology* (2019) 93:e 1348-59.
17. Steenwijk MD, Geurts JJ, Daams M, Tijms BM, Wink AM, Balk LJ et al. Cortical atrophy patterns in multiple sclerosis are non-random and clinically relevant. *Bain* (2016)139(pt. 19): 115-26.
18. Azevedo CJ, Cen SY, Khadka S, Liu S, Kornak J, Shi Y, et al. Thalamic atrophy in multiple sclerosis: a magnetic resonance imaging marker of neurodegeneration throughout disease. *Ann Neurol.* (2018) 83:223-34.
19. Bergsland N, Zivadinov R, Dwyer MG, Weinstock-Guttman B, Benedict RH. Localized atrophy of the thalamus and slowed cognitive processing speed in MS patients. *Mult Scler* (2016) 22: 1327-36.
20. Josa M Frischer, Stephen D Weigand, Yong Guo, Nilufer Kale, Joseph E Parisi, Istvan Pirko, Jay Mandrekar, Stephan Bramow, Imke Metz, Wolfgang Brück, Hans Lassmann, Claudia F Lucchinetti. Clinical and pathological insights into the dynamic nature of the white matter multiple sclerosis plaque. *Ann Neurol* (2015 Nov) 78(5):710-21.
21. Absinta M, Sati P, Masuzzo F, Nair G, Sethi V, Kolb H, et al. Association of chronic active multiple sclerosis lesions with disability in vivo. *JAMA Neurol.* (2019) 76:1474-83.
22. Dal-Bianco A, Grabner G, Kronnerwetter C, Weber M, Kornek B, Kasprian G, et al. Long-term evolution of multiple sclerosis iron rim lesions in 7 T MRI. *Brain.* (2021) 144:833-47.
23. Filippi M, Preziosa P, Banwell BL, Barkhof F, Ciccarelli O, De Stefano N, Geurts JJG, Paul F, Reich DS, Toosy AT, Traboulsee A, Wattjes MP, Yousry TA, Gass A, Lubetzki C, Weinschenker BG, Rocca MA. Assessment of lesions on magnetic resonance imaging in multiple sclerosis: practical guidelines. *Brain* (2019 Jul) 1;142(7):1858-1875.
24. Weiwei Chen, Susan A. Gauthier, Ajay Gupta, Joseph Comunale, Tian Liu, Shuai Wang, Mengchao Pei, David Pitt and Yi Wang. Quantitative Susceptibility Mapping of Multiple Sclerosis Lesions at Various Ages. *Radiology.* April 2014; 271(1): 183-192.
25. Absinta M, Sati P, Masuzzo F, Nair G, Sethi V, Kolb H, et al. Association of chronic active multiple sclerosis lesions with disability in vivo. *JAMA Neurol.*(2019)76:1474-83.
26. Petzold A, Balcer LJ, Calabresi PA, Costello F, Frohman TC, Frohman EM et al. Retinal layer segmentation in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurology* (2017) 16:797-812.
27. Britze J, Frederiksen JL. Optical coherence tomography in multiple sclerosis. *Eye (Lond).* 2018; 32(5):884-8.
28. Balk LJ, Steenwijk MD, Tewarie P, et al. Bidirectional trans-synaptic axonal degeneration in the visual pathway in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2015;86 (4):419-24.
29. Gordon-Lipkin E, Chodkowski B, Reich DS, et al. Retinal nerve fiber layer is associated with brain atrophy in multiple sclerosis. *Neurology.* 2007;69(16):1603-9
30. Bruno Stankoff, Emilie Poirion, Matteo Tonietto and Benedetta Bodini. Exploring the heterogeneity of MS lesions using positron emission tomography: a reappraisal of their contribution to disability. *Brain Pathology* ISSN 1015-6305.