



ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
**ΝΕΥΡΟΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ**  
Διευθυντής ΠΜΣ: Αναπλ. Καθηγητής ΕΥΘΥΜΙΟΣ ΔΑΡΔΙΩΤΗΣ

## Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Επισκόπηση των νευροϊνιδιακών πρωτεϊνών και η χρήση τους ως  
βιοδείκτες γενικής νευροεκφύλισης

Βιργινία Σμιξιώτη

Γνωστική Αποκατάσταση

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των απαιτήσεων για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού  
Διπλώματος Εξειδίκευσης «ΝΕΥΡΟΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ»

Λάρισα, Μάιος 2022

«Βεβαιώνω πως η παρούσα διπλωματική εργασία είναι αποτέλεσμα δικής μου δουλειάς και δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής. Στις δημοσιευμένες ή μη δημοσιευμένες πηγές έχω χρησιμοποιήσει εισαγωγικά και όπου απαιτείται έχω παραθέσει τις πηγές τους στο τμήμα της βιβλιογραφίας»

**ΒΙΡΓΙΝΙΑ ΣΜΙΞΙΩΤΗ**

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής, 2022

**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ  
ΣΠΟΥΔΩΝ**

**ΕΥΘΥΜΙΟΣ Γ. ΔΑΡΔΙΩΤΗΣ**

**ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ:**

**ΧΑΤΖΗΕΥΘΥΜΙΟΥ ΑΠΟΣΤΟΛΙΑ**, Τμήμα Ιατρικής

**Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:**

1. Χατζηευθυμίου Αποστολία
2. Μπόγδανος Δημήτριος
3. Δαρδιώτης Ευθύμιος

**Αναπληρωματικό Μέλος:**

**Τίτλος εργασίας στα αγγλικά:**

Overview of the neurofilament proteins and their use as biomarkers in neurodegeneration

## Πίνακας Περιεχομένων

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Εισαγωγή .....	8
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Νευρονημάτια .....	10
2.1 Ενδιάμεσα νημάτια .....	10
2.2. Δομή των νευρονηματίων .....	12
2.3 Σχηματισμός των νευρονηματίων .....	14
2.4. Μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των νευροϊνιδίων .....	16
2.5. Οργάνωση των νευρονηματίων και ο ρόλος τους στη διατήρηση της δομής του νευράξονα .....	18
2.6. Μεταβολές στην έκφραση των νευροϊνιδίων κατά την ανάπτυξη .....	19
2.7. Διατήρηση της διάμετρου του νευράξονα και ενίσχυση της αγωγιμότητας .....	20
2.8. Διατήρηση της ακεραιότητας των μικροσωληνίσκων .....	21
2.9. Μεταφορά των νευροϊνιδίων στον νευράξονα .....	21
2.10. Οι αλληλεπιδράσεις των νευροϊνιδίων στο επίπεδο της σύναψης .....	24
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Τα νευροϊνίδια ως βιοδείκτες .....	26
3.1. Διαφορές ανάμεσα στην ανίχνευση νευροϊνιδίων στο ΕΝΥ και στο αίμα .....	27
3.2. Εργαστηριακός προσδιορισμός των νευροϊνιδιακών υπομονάδων .....	28
3.3. Παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα των νευροϊνιδίων στο ΕΝΥ/αίμα .....	29
3.4. Τρόποι προσδιορισμού των επιπέδων των νευροϊνιδίων στο αίμα και στο ΕΝΥ .....	30
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Τα νευροϊνίδια σε παθήσεις του ΚΝΣ και του ΠΝΣ .....	33
4.1. Νόσος Αλτσχάιμερ .....	33
4.2. Νόσος Πάρκινσον, άτυπα παρκινσονικά σύνδρομα και νόσος Πάρκινσον με άνοια .....	35
4.3. Αγγειακά Εγκεφαλικά Επεισόδια .....	37
4.4. Κρανιοεγκεφαλική Κάκωση .....	38
4.5. Σκλήρυνση κατά πλάκας .....	38
4.6. Αμυοτροφική Πλάγια Σκλήρυνση .....	40
4.7. Charcot-Marie Tooth .....	41
4.8. Επιληψία .....	42
4.9. Σχιζοφρένεια .....	42
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Συζήτηση .....	44
Βιβλιογραφία .....	46

## Περίληψη

Στην παρούσα εργασία έγινε ανασκόπηση της πρόσφατης βιβλιογραφίας για τη δομή των νευροϊνιδίων/νευρονηματίων, τη φυσιολογική τους λειτουργία, την απελευθέρωση τους στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY)/αίμα, τις τεχνικές προσδιορισμού των επιπέδων τους και τη σημασία που έχει ο προσδιορισμός αυτός ως βιοδείκτης σε παθήσεις του νευρικού συστήματος.

Τα νευρονημάτια ανήκουν στα ενδιάμεσα νημάτια και σχηματίζονται από τις υπομονάδες χαμηλού (NfL) μεσαίου και υψηλού μοριακού βάρους. Μετά την σύνθεσή τους υφίστανται μέτα-μεταφραστικές τροποποιήσεις, κυρίως φωσφορυλίωση, και μεταφέρονται στον νευράξονα με αργή ορθόδρομη μεταφορά. Παίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της σταθερής δομής του νευράξονα και στη λειτουργικότητα της σύναψης. Διαταραχές στην έκφραση των γονιδίων των νευροϊνιδίων ή στην φωσφορυλίωση τους μπορεί να οδηγήσουν σε εμφάνιση νόσου, όπως μορφές της Charcot-Marie Tooth ή της Αμυοτροφικής Πλάγιας Σκλήρυνσης.

Τα επίπεδα των νευροϊνιδίων, ειδικά των NfL, προσδιορίζονται στο ENY/αίμα κυρίως με την μέθοδο Single Molecule Array (SIMOA). Στις ηλικίες <65 ετών, παρουσιάζεται μία αύξηση των επιπέδων τους στον ορό, 2.2% τον χρόνο. Δεν έχουν προσδιοριστεί φυσιολογικές απόλυτες τιμές των επιπέδων τους και ως βιοδείκτες αποτυπώνουν μη ειδικά νευροεκφύλιση.

Τα επίπεδά τους μεταβάλλονται στο αίμα ασθενών με Νόσο Αλτσχάμερ, Εξωπυραμιδικά σύνδρομα, Αγγειακά Εγκεφαλικά Επεισόδια, Κρανιοεγκεφαλικές Κακώσεις, Σκλήρυνση κατά Πλάκας, Αμυοτροφική Πλάγια Σκλήρυνση, Charcot-Marie Tooth, Επιληψία και Σχιζοφρένεια. Στις παθήσεις αυτές ο προσδιορισμός των νευροϊνιδίων στο αίμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη διαφορική διάγνωση της νόσου, ως προγνωστικός δείκτης και ως δείκτης ανταπόκρισης του ασθενή στη θεραπεία.

Συμπερασματικά, ο προσδιορισμός των επιπέδων των νευροϊνιδίων στο αίμα θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως μη ειδικός, αλλά ευαίσθητος βιοδείκτης νευροεκφύλισης. Ως βιοδείκτης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παρακολούθηση κυρίως των ασθενών και την ανταπόκρισή τους στην θεραπεία. Εντούτοις χρειάζονται επιπλέον μελέτες για να καθορισθεί αφενός μεν ο ακριβής τρόπος απελευθέρωσης τους στο αίμα, αφετέρου δε οι απόλυτες φυσιολογικές τους τιμές, μειονεκτήματα που περιορίζουν τη χρησιμότητά τους ως βιοδείκτες.

**Λέξεις-Κλειδιά:** νευροϊνίδια, νευρονημάτια, βιοδείκτης, νευροεκφύλιση, παθήσεις του νευρικού συστήματος

## Abstract

The present thesis is a review of the latest literature on the structure of neurofilaments, their physiological function, their release in the cerebrospinal fluid (CSF)/blood, the methods with which neurofilaments are detected and quantified and their role as biomarkers in nervous system disorders.

Neurofilaments are part of the intermediate filaments and are composed of the proteins neurofilament light (NfL), medium and heavy. Following their assembly, they go through post-translational modifications, mostly phosphorylation, and are transported through the neuronal axon through slow anterograde movement. They have the role of maintaining axonal stability and synaptic functionality. Various disorders affecting their gene expression, or their phosphorylation state, can lead to disorders such as Charcot-Marie Tooth or Amyotrophic Lateral Sclerosis subtypes.

The neurofilament levels, especially NfL, are quantified in CSF/blood mainly with the use of the Single Molecule Array (SIMOA). At ages <65, a physiological steady increase of 2.2% of neurofilaments in serum per year is observed. There has been no standardisation of the neurofilaments absolute values and as biomarkers they reflect non-specific neurodegeneration.

Increases of neurofilament levels can be detected in the blood of patients with Alzheimer's Disease, Extrapyramidal Disorders, Stroke, Traumatic Brain Injury, Multiple Sclerosis, Amyotrophic Later Sclerosis, Charcot-Marie Tooth, Epilepsy and Schizophrenia. Quantification of NfL levels in the above can be used for the purpose of differential diagnosis, prognosis, as well as response to treatment.

In conclusion, the quantification of neurofilament levels in blood could potentially be used as a non-specific, but sensitive biomarker of neurodegeneration. As a biomarker, it can potentially monitor patients' condition and their response to treatment. However, there is pressing need of further studies to ascertain the mechanism behind their arrival in blood, as well as a standardisation of absolute values, both of which present disadvantages in their use as a biomarker.

**Key words:** neurofilaments, biomarkers, neurodegeneration, neurological disorders

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Εισαγωγή

Υπάρχει μία αυξανόμενη ανάγκη για την εύρεση γρήγορων και αξιόπιστων βιοδεικτών με σκοπό την ανίχνευση, τη διαφορική διάγνωση, καθώς και την παρακολούθηση νευρολογικών παθήσεων. Ένας βιοδείκτης που θα μπορούσε να εκπληρώσει τα παραπάνω είναι τα νευροϊνίδια (Yuan et al., 2017; Khalil et al., 2018; Gafson et al., 2020; Yuan and Nixon, 2021). Τα νευροϊνίδια, τα οποία διαχωρίζονται αναλόγως του μοριακού τους βάρους σε ελαφρά, μέτρια και βαριά, είναι πρωτεΐνες που ανήκουν στην κατηγορία των ενδιάμεσων ινιδίων. Τα νευροϊνίδια σχηματίζουν τα νευρονημάτια, ένα από τα βασικά δομικά στοιχεία του κυτταροσκελετού (Herrmann and Aebi et al., 2016) των νευρώνων του Κεντρικού και του Περιφερικού Νευρικού Συστήματος (Cooper, 2000). Έπειτα από μη ειδική νευρωνική εκφύλιση ή αξονικό τραύμα, απελευθερώνονται στο εξωκυττάριο περιβάλλον και τα επίπεδα τους βρίσκονται αυξημένα στο Εγκεφαλονωτιαίο Υγρό (ENY) ή το αίμα (Kuhle et al., 2016; Khalil et al., 2018).

Έχουν γίνει επιτυχείς προσπάθειες να ποσοτικοποιηθούν, ιδιαίτερα με την χρήση των νεότερων, υπερευαίσθητων τεχνικών, όπως η (**Single Molecule Array – SIMOA**), η οποία επιτρέπει την ανίχνευση ελάχιστων ποσοτήτων της τάξης pg/mL (Rissin et al., 2010). Η μέτρηση των επιπέδων των νευροϊνιδίων στο ENY και στο αίμα έχει αναλυθεί σε ασθενείς με διάφορες νευρολογικές (Disanto et al., 2017; Barro et al., 2018; Kuhle et al., 2020; Barro and Zetterberg, 2021) και ψυχιατρικές (Al Shweiki et al., 2019; Bavato et al., 2021) παθήσεις καθώς και στη φυσιολογική γήρανση (Khalil et al., 2020; Rübnsamen et al., 2021; Yuan and Nixon, 2021).

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να παρουσιάσει τα σύγχρονα βιβλιογραφικά δεδομένα για τη δομή, σύνθεση και τον φυσιολογικό ρόλο των νευρονηματίων, τις μεταβολές των επιπέδων των νευροϊνιδίων στο αίμα σε παθήσεις του νευρικού συστήματος και την πιθανή χρησιμότητα του προσδιορισμού των επιπέδων των νευροϊνιδίων ως βιοδείκτες.

Η βιβλιογραφική αυτή ανασκόπηση αρχικά παρουσιάζει τη δομή των νευροϊνιδίων και των νευρονηματίων, όπως και τον ρόλο τους στη διατήρηση της δομής του νευράξονα (Sanchez et al., 2000; Chang et al., 2009; Lobsieger and Cleavaland, 2009; Yuan et al., 2009; Uchida et al., 2016) και στη λειτουργικότητα της σύναψης (Yuan et al., 2015a; Yuan et al., 2018). Στη συνέχεια παρουσιάζεται η χρησιμότητα των νευροϊνιδίων ως βιοδείκτες και οι τρόποι με τον οποίο ανιχνεύονται και ποσοτικοποιούνται. Τέλος, παρουσιάζονται αναλυτικά οι μεταβολές των επιπέδων των νευροϊνιδίων στον ορό σε παθήσεις όπως τη Νόσο Αλτσχάιμερ (Benedet et al.,



2020; deWolf et al., 2020; Clark et al., 2021; Cullen et al., 2021; Darmanthe et al., 2021; Zerr et al., 2021), τη Νόσο Πάρκινσον και των άτυπων παρκινσονικών συνδρόμων (Akhtar and Mano, 2019; Marques et al., 2019; Lin et al., 2019; Sampedro et al., 2020; Pilotto et al., 2021), τα Αγγειακά Εγκεφαλικά Επεισόδια (Gendron et al., 2020; Pekny et al., 2021; Stokowska et al., 2021), τις Κρανιοεγκεφαλικές Κακώσεις (Shahim et al., 2016; Gao et al., 2016; Shahim et al., 2020), τη Σκλήρυνση κατά Πλάκα (Novakova et al., 2017; Bjornevik et al., 2020; Kapoor et al., 2020; Kuhle et al., 2020), την Αμυοτροφική Πλάγια Σκλήρυνση (Gille et al., 2019; Brodovitch et al., 2021), τη Νόσου Charcot-Marie Tooth (Lancaster et al., 2018; Sandelius et al., 2018; Milliere et al., 2021), την Επιληψία (Nass et al., 2021) και τη Σχιζοφρένια (Al Shweiki et al., 2019; Rodrigues-Amorim et al., 2020; Ashton et al., 2021; Bavato et al., 2021).

Οι βιβλιογραφικές αναζητήσεις έγιναν με τη χρήση της βάσης δεδομένων PubMed. Καθώς η ανασκόπηση χωρίζεται σε δύο θεματικές ενότητες, έγιναν δύο διαφορετικές αναζητήσεις. Το πρώτο μέρος της αναζήτησης αφορά τη διερεύνηση των νευρονηματίων, και επακολούθως των νευροϊνιδίων, και τον φυσιολογικό τους ρόλο στη λειτουργία του νευρώνα. Για τον λόγο αυτό η πρώτη αναζήτηση συμπεριλάμβανε τις παρακάτω λέξεις κλειδιά, με περαιτέρω φίλτρα την Αγγλική γλώσσα, ερευνητικές μελέτες, μετά-αναλύσεις και ανασκοπήσεις:

*(Neurofilament) AND (Structure) AND (Function)*

Το πρώτο μέρος της αναζήτησης επέφερε 576 αποτελέσματα εκ των οποίων επιλέχθηκαν μόνο όσα είχαν την λέξη Neurofilament στον τίτλο του άρθρου και όχι σε άλλα σημεία του άρθρου.

Το δεύτερο μέρος της ανασκόπησης διερευνά τον ρόλο των νευροϊνιδίων ως βιοδείκτες σε παθήσεις του νευρικού συστήματος. Η αναζήτηση συμπεριλάμβανε τις παρακάτω λέξεις κλειδιά, με επιπρόσθετα φίλτρα την Αγγλική γλώσσα, το χρονικό διάστημα 2017 – 2022 και ερευνητικές μελέτες, μετά-αναλύσεις και ανασκοπήσεις:

*(((((Neurofilament) AND (Neurofilament Light) OR (Neurofilament Medium) OR (Neurofilament Heavy) AND (Biomarker)) AND (Blood)) OR (Serum)) OR (Plasma))) AND (CSF)*

Η δεύτερη αναζήτηση επέφερε 560 αποτελέσματα εκ των οποίων επιλέχθηκαν μόνο τα άρθρα που είχαν τις λέξεις κλειδιά Neurofilament και Biomarker στον τίτλο του άρθρου και όχι σε άλλα σημεία του.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Νευρονημάτια

### 2.1 Ενδιάμεσα νημάτια

Τα ενδιάμεσα νημάτια αποτελούνται από πρωτεΐνες που συνδέονται μεταξύ τους. Αποτελούν στοιχειώδες μέρος του κυτταροσκελετού και του πυρήνα των ευκαρυωτικών κυττάρων (Herrmann and Aebi, 2016). Χάρη στις ιδιαίτερα δυνατές διασυνδέσεις τους, τα ενδιάμεσα νημάτια αποτελούν το πιο ανθεκτικό τμήμα των δομών που υποστηρίζουν (Liu et al., 2004).

**Πίνακας 1.** Τύπος ενδιάμεσων νηματίων, όνομα πρωτεϊνών, μοριακό βάρος και κύτταρα στα οποία εκφράζεται ο κάθε τύπος ενδιάμεσου ινιδίου (Cooper, 2000).

Τύπος	Πρωτεΐνη	Μέγεθος (kd)	Κυτταρικός τύπος
<b>I</b>	Όξινες κερατίνες (~15 πρωτεΐνες)	40-60	Επιθηλιακά κύτταρα
<b>II</b>	Ουδέτερες ή αλκαλικές κερατίνες (~15 πρωτεΐνες)	50-70	Επιθηλιακά κύτταρα
<b>III</b>	Βιμεντίνη	54	Ινοβλάστες λευκά αιμοσφαίρια, κλπ
	Δεσμίνη	53	Μυϊκά κύτταρα
<b>IV</b>	Όξινη πρωτεΐνη των (ενδιάμεσων) ινιδίων της γλοίας ( <b>G</b> lial <b>f</b> ibrillary <b>a</b> cidic <b>p</b> rotein-GFAP)	51	Κύτταρα της γλοίας
	Περιφερίνη	57	ΠΙΝΣ
	Νευροϊνίδια (Neurofilament) Χαμηλού μοριακού βάρους (Neurofilament <b>L</b> ight Chain - NfL)	67	Νευρώνες
	Μεσαίου μοριακού βάρους (Neurofilament <b>M</b> edium Chain - NfM) Υψηλού μοριακού βάρους (Neurofilament <b>H</b> eavy Chain - NfH)	150 200	
<b>V</b>	α-ιντερνεξίνη	66	Νευρώνες (κυρίως ΚΝΣ)
<b>VI</b>	Πυρηνικές λαμίνες	60-75	Βλαστοκύτταρα (ΚΝΣ)
	Νεστίνη	200	

Στα ενδιάμεσα νημάτια κατατάσσονται γύρω στις 50 πρωτεΐνες που διαχωρίζονται σε έξι διαφορετικούς τύπους (**Πίνακας 1**), ανάλογα με την αλληλουχία των αμινοξέων τους (Cooper, 2000).

Τα ενδιάμεσα νημάτια *τύπου I* και *II* αποτελούνται από τις κερατίνες, 15 διαφορετικές πρωτεΐνες οι οποίες εκφράζονται στα επιθηλιακά κύτταρα. Οι κερατίνες τύπου I είναι όζινες και διασυνδέονται με τις αλκαλικές ή ουδέτερες κερατίνες *τύπου II*, δημιουργώντας ένα πολυμερές ινίδιο κερατίνης (Cooper, 2000).

Τα ενδιάμεσα νημάτια *τύπου III* αποτελούνται από τη βιμεντίνη, τη δεσμίνη και την περιφερίνη (Liu et al., 2004). Η βιμεντίνη συναντάται στους μυοβλάστες, στα λεία μυϊκά κύτταρα καθώς και στα λευκά αιμοσφαίρια, υποστηρίζοντας τη δομική τους σταθερότητα. Η δεσμίνη συναντάται κυρίως στα μυϊκά κύτταρα, έχοντας παρόμοιο ρόλο με τη βιμεντίνη. Η GFAP συναντάται στην γλοία του εγκεφάλου. Η περιφερίνη δρα ως συνδετική πρωτεΐνη των ενδιάμεσων ινιδίων τύπου IV και συναντάται κυρίως στο περιφερικό νευρικό σύστημα.

Στη κατηγορία *τύπου IV*, κατατάσσονται οι τρεις νευροϊνιδιακές υπομονάδες – η ελαφριά (NfL), η μεσαίου βάρους (NfM) και η βαριά (NfH), οι οποίες αποτελούν τον βασικό πληθυσμό των ενδιάμεσων ινιδίων στους ώριμους νευρώνες του Κεντρικού (ΚΝΣ) και του Περιφερικού Νευρικού Συστήματος (ΠΝΣ) καθώς και η α-ιντερνεξίνη η οποία δρα ως συνδετική πρωτεΐνη ανάμεσα τους στο ΚΝΣ. Τα νευροϊνίδια ανευρίσκονται κυρίως στις μακριές εμμύελες ίνες των νευρώνων (Sánchez et al., 2000). Οι νευροϊνιδιακές πρωτεΐνες συνδυάζονται και δημιουργούν τα νευρονημάτια.

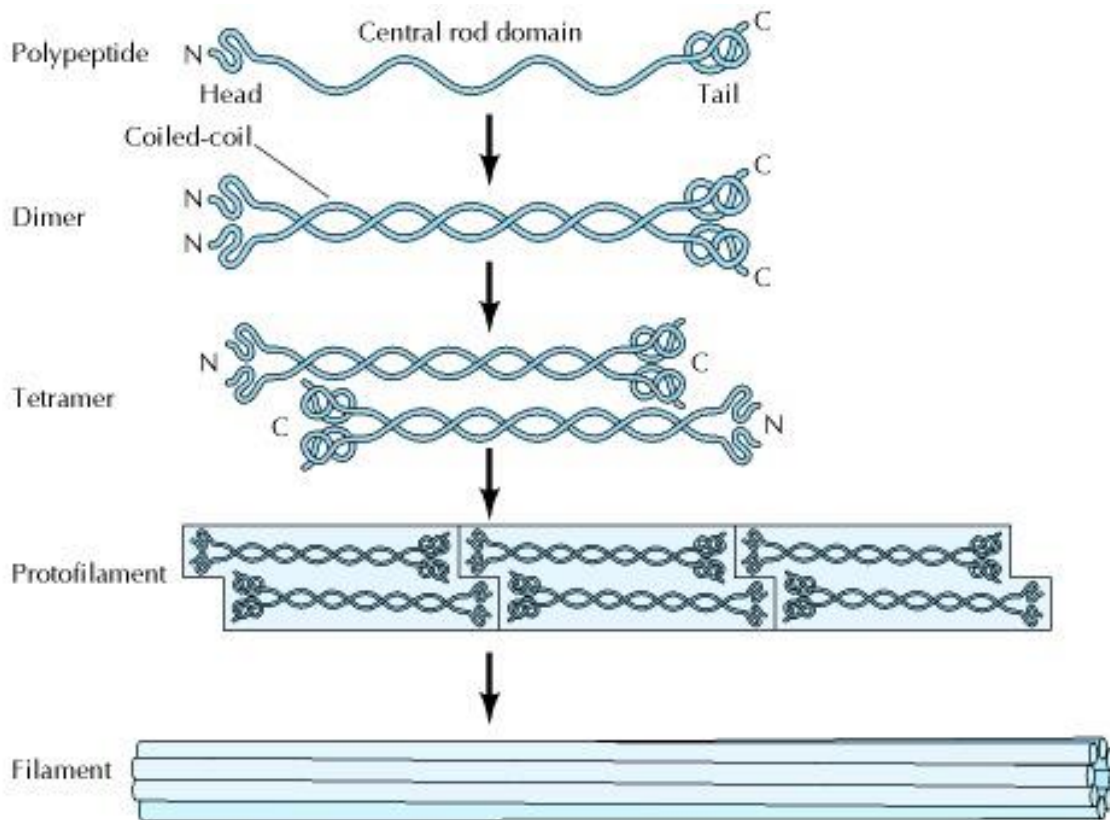
Στη κατηγορία *τύπου V*, κατατάσσεται η λαμίνη, η οποία συναντάται σε όλα τα ευκαρυωτικά κύτταρα. Ο ρόλος της είναι ο διαχωρισμός του πυρήνα από το κυτταρόπλασμα. Σε αντίθεση με τα υπόλοιπα κυτταροπλασματικά ινίδια, οι λαμίνες δεν έχουν ραβδόμορφο σχήμα (Cooper, 2000).

Υπάρχει μόνο μία πρωτεΐνη στη κατηγορία *τύπου VI*, η νεστίνη, η οποία εκφράζεται αποκλειστικά στα βλαστοκύτταρα κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του ΚΝΣ. Καθώς τα κύτταρα ωριμάζουν, η νεστίνη αντικαθίσταται σταδιακά από τα νευροϊνίδια (Nixon and Shea, 1992).

Ανεξαρτήτως από τις διαφορές που παρουσιάζουν στο μήκος τους, τα κυτταροπλασματικά ενδιάμεσα νημάτια έχουν παρόμοια ραβδόμορφη δομή (Liu et al., 2004). Όλες οι πρωτεΐνες των ενδιάμεσων ινιδίων σχηματίζουν σταθερά διμερή. Δύο διμερή συνδέονται μεταξύ τους με μη ομοιοπολικούς δεσμούς και αντίθετο προσανατολισμό για να σχηματίσουν

ένα τετραμερές. Τα τετραμερή τέλος συνδέονται μεταξύ τους για να σχηματίσουν το πρωτονημάτιο και τέλος το νηματίο (**Εικόνα 1**).

Η διάμετρος ενός ενδιάμεσου νηματίου είναι 10 nm. Τα μικρότερα δομικά στοιχεία του κυτταροσκελετού είναι τα νηματία ακτίνης, με διάμετρο 6 nm, και τα μεγαλύτερα, οι μικροσωληνίσκοι με διάμετρο 25 nm (Cooper, 2000; Liu et al., 2004; Herrmann and Aebi, 2016). Τα νηματία με διάμετρο 10 nm κατατάσσονται στα «ενδιάμεσα νηματία» (Herrmann and Aebi, 2016).



**Εικόνα 1.** Οι κεντρικές ραβδόμορφες περιοχές δύο πολυπεπτιδικών αλυσίδων τυλίγονται σχηματίζοντας μία ελικοειδή δομή, το διμερές. Τα διμερή με τη σειρά τους συνδέονται μεταξύ τους σε αντιπαράλληλες τετράδες (αμινοτελικό προς καρβλυτελικό άκρο), και σχηματίζουν τετραμερή. Τα τετραμερή δημιουργούν ένα πρωτοϊνίδιο. Οκτώ πρωτοϊνίδια με τη σειρά τους συνδέονται μεταξύ τους και σχηματίζουν μία δομή παρόμοια με ένα σχοινί, το νηματίο. (Ανατύπωση από: Liu et al., 2004).

## 2.2. Δομή των νευρονηματίων

Τα νευρονημάτια είναι πρωτεϊνικές δομές που ανήκουν στην τάξη VI των ενδιάμεσων νηματίων, με διάμετρο 10 nm και αποτελούν ένα σημαντικό μέρος του κυτταροσκελετού, σε συνεργασία με τα μικροϊνίδια ακτίνης και τους μικροσωληνίσκους (Liu et al., 2004; Yuan et al., 2009).

Εκφράζονται κυρίως στους άξονες των εμμύελων νευρικών ινών του ΚΝΣ και του ΠΝΣ (Sánchez et al., 2000).

Ως πρωτεϊνικές δομές, τα νευρονημάτια είναι ετερομερή, αποτελούμενα από τις νευροϊνδιακές πρωτεΐνες (Sánchez et al., 2000; Lobsieger and Cleavaland, 2009; Yuan et al., 2009), οι οποίες κατατάσσονται αναλόγως το μοριακό τους βάρος σε: ελαφρές (NfL), μεσαίου μοριακού βάρους (NfM) και βαριές (NfH) (**Πίνακας 2**).

**Πίνακας 2.** Υπομονάδες των νευρονηματίων στο Κεντρικό (ΚΝΣ) και Περιφερικό (ΠΝΣ) Νευρικό Σύστημα (Lobsieger & Cleavaland, 2009; Yuan et al., 2015).

Υπομονάδα νευρονηματίου (πρωτεΐνη)	MB (kDa)	Εντόπιση
<b>α-ιντερνεξίνη</b>	66	ΚΝΣ
<b>Περιφερίνη</b>	57	ΠΝΣ
<b>Νευροϊνδια χαμηλού μοριακού βάρους (Neurofilament Light Chain - NfL)</b>	68	ΚΝΣ, ΠΝΣ
<b>Νευροϊνδια μεσαίου μοριακού βάρους (Neurofilament Medium Chain - NfM)</b>	160	ΚΝΣ, ΠΝΣ
<b>Νευροϊνδια υψηλού μοριακού βάρους (Neurofilament Heavy Chain - NfH)</b>	200	ΚΝΣ, ΠΝΣ

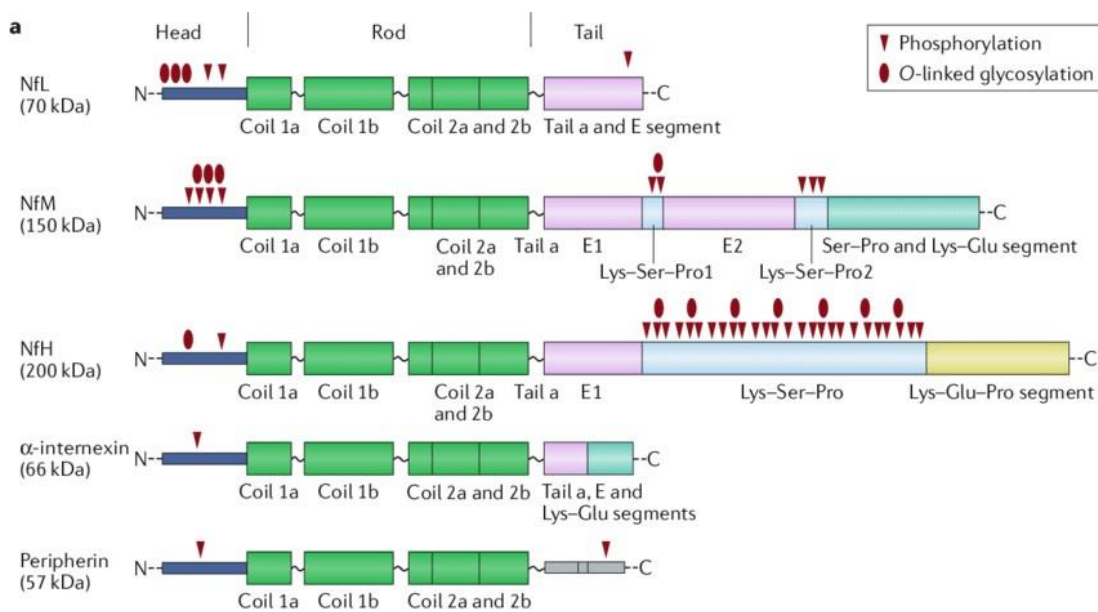
Οι τρεις υπομονάδες των νευρονηματίων έχουν παρόμοια δομή (**Εικόνα 2**). Αποτελούνται από:

i. Την κεφαλή (*head*) στο αμινοξυτελικό άκρο, που αποτελείται από ~98 αμινοξέα. Είναι πλούσια σε σερίνη και θρεονίνη, αμινοξέα που επιτρέπουν την οξυγονο-εξαρτώμενη γλυκοζυλίωση και τη φωσφορυλίωση τους (Sanchez et al., 2000).

ii. Το α-ελικοειδές κεντρικό τμήμα (*rod*), αποτελούμενο από 310 αμινοξέα και του οποίου η μορφή είναι ίδια σε όλα τα νευροϊνδια.

iii. Την ουρά (*tail*), στο καρβοξυτελικό άκρο της υπομονάδας αποτελούμενη από 63 έως και 618 αμινοξέα. Αυτή η μεγάλη διακύμανση στο μήκος της οφείλεται, κυρίως, στις διαφορετικές ποσότητες γλουταμινικού, λυσίνης, σερίνης και προλίνης που μπορεί να περιέχει (Lobsieger and Cleavaland, 2009; Yuan et al., 2009; Yuan and Nixon, 2016). Για παράδειγμα, η ουρά του καρβοξυτελικού άκρου των NfL, έχει μικρό σχετικά μήκος καθώς περιέχει ελάχιστα αμινοξέα (κυρίως γλουταμινικό). Αντίθετα, οι ουρές των NfM και NfH, από την άλλη, περιέχουν πολλά μόρια γλουταμινικού, καθώς και πολλές επαναλήψεις ομάδων λυσίνης, σερίνης,

προλίνης, αποκαλούμενες KSP (lysine-serine-proline) επαναλήψεις. Η διαφορά μήκους ανάμεσα στη NfM και τη NfH οφείλεται στον διαφορετικό αριθμό των KSP επαναλήψεων που περιέχουν. Οι περισσότερες από τις σερίνες στις KSP επαναλήψεις είναι φωσφορυλιωμένες και είναι πιθανό η φωσφορυλίωση τους να αποτρέπει την αποικοδόμηση των νευροϊνιδίων από πρωτεάσες κατά τη μεγάλης διάρκειας ζωή τους (Veeranna et al., 1998). Στην ουρά των NfH και NfM βρίσκονται επίσης και συντομότερα επαναλαμβανόμενα μοτίβα αμινοξέων αποτελούμενα μόνο από σερίνη και προλίνη (serine-proline - SP) που αυξάνουν επιπλέον το μήκος τους.



**Εικόνα 2.** Δομή των νευροϊνιδίων χαμηλού (*NfL*) μεσαίου (*NfM*), υψηλού (*NfH*) μοριακού βάρους και των συνδετικών πρωτεϊνών,  $\alpha$ -ιντερνεξίνης και περιφερίνης. (Ανατύπωση από: Yuan et al., 2017).

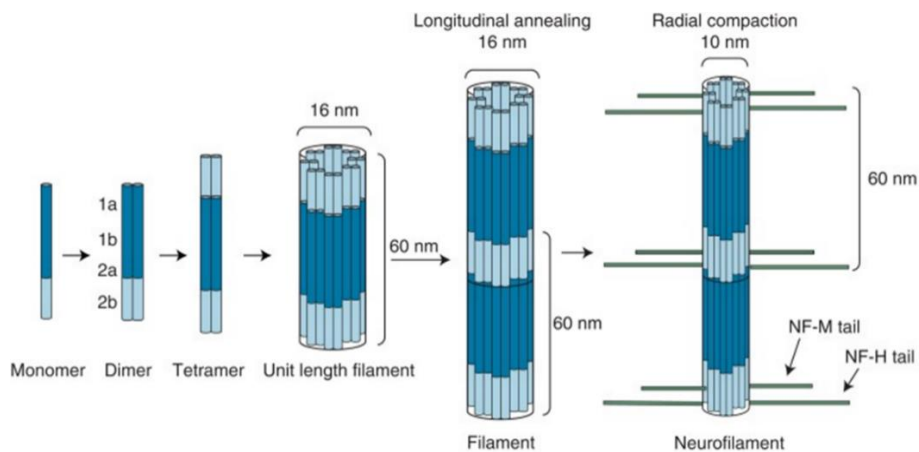
Οι «συνδετικές» πρωτεΐνες,  $\alpha$ -ιντερνεξίνη και περιφερίνη, αποτελούνται από παρόμοια τμήματα (κεφαλή-κεντρικό τμήμα-ουρά) με αυτά των άλλων υπομονάδων των νευροϊνιδίων (Yuan et al., 2017). Η περιφερίνη, έχει το μικρότερο μήκος ουράς από όλες τις υπομονάδες των νευροϊνιδίων, καθώς περιέχει μόνο ένα υπόλειμμα φωσφο-τυροσίνης (Angelastro et al., 1998).

### 2.3 Σχηματισμός των νευρονηματίων

Το πρώτο βήμα του σχηματισμού των νευρονηματίων είναι ο σχηματισμός διμερούς με διάταξη κεφαλής-ουράς (head-to-tail coiled coil dimers) μεταξύ των νευροϊνιδίων NfL με NfM ή με NfH

μήκους ~50 nm (Yuan et al., 2015; Yuan et al., 2017). Δύο διμερή σχηματίζουν στη συνέχεια αντιπαράλληλα τετραμερή, τα πρωτονημάτια (protofilaments), διαμέτρου 2-3 nm. Η δομή αυτή οδηγεί τα νευρονημάτια να έχουν ουδέτερο ηλεκτρικό φορτίο σε αντίθεση με τις άλλες δομές του κυτταροσκελετού. Όταν τα νευροϊνίδια στη συνέχεια φωσφοριωθούν, τα νευρονημάτια αποκτούν αρνητικό φορτίο (Chang et al., 2009).

Τα τετραμερή, με τη σειρά τους, δημιουργούν οκταμερή (protofibril) διαμέτρου 4-5 nm και τελικά μία πολυμερή δομή αποτελούμενη από 32 μονομερή, τοποθετημένα κυλινδρικός, με διάμετρο 16 nm και μήκος 60 nm, που αποτελεί την μονάδα του νευρονηματίου (unit-length filament -ULF) (Liu et al., 2004; Yuan et al., 2012; Yuan et al., 2015; Yuan et al., 2017; Khalil et al., 2018). Οι ULF επιμηκύνονται δημιουργώντας ένα μακρύ δίκτυο. Όταν ο νευρώνας δημιουργήσει σύναψη με έναν γειτονικό νευρώνα, η διάμετρος της ULF μειώνεται στα 10 nm και το νηματίο παίρνει την τελική του μορφή (Yuan et al., 2009; Herrmann and Aebi, 2016) (*Εικόνα 3*).

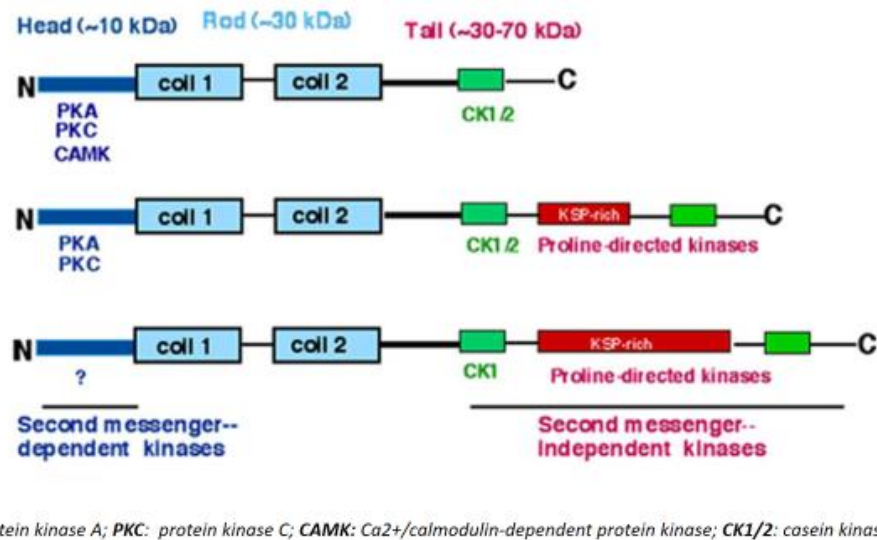


**Εικόνα 3.** Σχηματισμός των νευρονηματίων (Ανατύπωση από: Yuan et al., 2017).

Το καρβοξυτελικό άκρο των υπομονάδων NfM και NfH σχηματίζουν τους πλευρικούς βραχίονες των νευρονηματίων. Η NfL μπορεί να σχηματίζει ομομερή ενώ οι NfM και NfH σχηματίζουν μόνο ετερομερή με την NfL σε αναλογία 4 (NfL):2 (NfM):1 (NfH) (Liu et al., 2004; Yuan et al., 2017). Σε αντίθεση με τις υπομονάδες NfM και NfH, η α-ιντερνεξίνη και η περιφερίνη μπορούν να σχηματίσουν ομομερή καθώς και πολυμερή με οποιαδήποτε από τις νευροϊνίδιακές υπομονάδες (Yuan et al., 2009).

## 2.4. Μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των νευροϊνιδίων

i. *Φωσφορυλίωση.* Τα νευροϊνίδια είναι πρωτεΐνες με την μεγαλύτερη δυνατότητα φωσφορυλίωσης στον εγκεφαλικό ιστό και η φωσφορυλίωση τους αποτελεί τη πιο συχνή μετα-μεταφραστική τροποποίηση τους (Yuan et al., 2017). Η φωσφορυλίωση ενός νευροϊνιδίου βασίζεται σε μία περίπλοκη ρύθμιση της δράσης των κινασών και των φωσφατασών των νευροϊνιδίων (Nixon and Sihag 1991). Όλα τα νευροϊνίδια έχουν τη δυνατότητα φωσφορυλίωσης στο αμινοτελικό τους άκρο, ενώ οι υπομονάδες NfM και NfH έχουν τη δυνατότητα να φωσφορυλιώνονται και στα καρβοξυτελικά τους άκρα (**Εικόνα 4**) (Nixon & Sihag, 1991).



**Εικόνα 4.** Περιοχές φωσφορυλίωσης στην κεφαλή (αμινοτελικό άκρο) και στην ουρά (καρβοξυτελικό άκρο) των νευροϊνιδίων από διάφορες πρωτεϊνικές κινάσες. (Ανατύπωση από: Sihag et al. 2007, τροποποιημένο).

Τα νευροϊνίδια αρχικά φωσφορυλιώνονται στο κυτταρικό σώμα (περικάρυο) αμέσως μετά τη σύνθεσή τους, όμως η πιο εκτεταμένη φωσφορυλίωση τους γίνεται μετά τον πολυμερισμό τους. Οι περισσότερες από τις φωσφορικές ομάδες που προστίθενται μετά την είσοδο των νευροϊνιδίων στον άξονα, ενσωματώνονται στην καρβοξυλική περιοχή της ουράς. Η αρχική εμφάνιση και η προοδευτική φωσφορυλίωση των NfM και του NfH στους νευράξονες είναι ειδική για την περιοχή του νευρικού συστήματος και φαίνεται να σχετίζεται με τη συναπτογένεση και τη μυελίνωση, καθώς αρχίζει να δημιουργείται ο ώριμος κυτταροσκελετός



του νευράξονα. Είναι ενδιαφέρον ότι η εκτεταμένη φωσφορυλίωση των νευροϊνιδίων δεν παρατηρείται στους δενδρίτες (εμβρύου ή ενήλικα) παρόλο που υπάρχουν νευροϊνίδια. Αυτό μπορεί να οφείλεται είτε στην έλλειψη ειδικών κυτταρικών σημάτων που απαιτούνται για την ενεργοποίηση των κινασών που είναι υπεύθυνες για τη φωσφορυλίωση των νευροϊνιδίων ή τα νευροϊνίδια είναι οργανωμένα με διαφορετικό τρόπο από ό,τι στους άξονες και οι θέσεις φωσφορυλίωσης δεν είναι προσβάσιμες στις κινάσες (Sihag et al., 2007).

Οι περισσότερες θέσεις φωσφορυλίωσης των νευροϊνιδίων βρίσκονται στο καρβοξυτελικό άκρο των υπομονάδων NfM και του NfH, στα επαναλαμβανόμενα μοτίβα αμινοξέων KSP (Geisler et al., 1987; Xu et al., 1992) αν και άλλα υπολείμματα σερίνης/θρεονίνης μπορούν να φωσφορυλιωθούν. Οι **cyclin dependent kinase 5 (Cdk5)** και **mitogen-activated protein kinase (MAPK)** είναι οι κύριες κινάσες που φωσφορυλιώνουν τα υπολείμματα σερίνης στις επαναλήψεις KSP (Sun et al., 1996; Jaffe et al., 1998), ενώ τα υπολείμματα σερίνης/θρεονίνης της ουράς φωσφορυλιώνονται από κινάσες καζεΐνης (Sihag and Nixon, 1989; Hollander et al., 1996; Nakamura et al., 1999).

Η φωσφορυλίωση των θέσεων της περιοχής κεφαλής των νευροϊνιδίων ρυθμίζει την σύνθεση/διάσπαση των νευροϊνιδίων. Επίσης ρυθμίζει τον ρυθμό αξονικής μεταφοράς τους, ιδιαίτερα η φωσφορυλίωση των NfH (Ackerley et al., 2003) και κατά συνέπεια τη σταθερότητα της δομής των αξόνων των ώριμων νευρώνων. Οι καρβοξυτελικές περιοχές των NfH και NfM προβάλλουν πλευρικά από τον κύριο κορμό του νευρονημάτιου και όταν φωσφορυλιωθούν σχηματίζουν πλευρικούς βραχίονες. Η φωσφορυλίωση αυτών των καρβοξυλικών πλευρικών βραχιόνων ρυθμίζει τις αλληλεπιδράσεις των νευροϊνιδίων μεταξύ τους και με άλλες δομές του κυτταροσκελετού, και με αυτόν τον τρόπο, μεσολαβεί στο σχηματισμό ενός πλέγματος που υποστηρίζει τον ώριμο άξονα (Hirokawa et al., 1984; Nixon and Sihag, 1991; Nixon, 1993; Kesavapany et al., 2006).

Δεν υπάρχει καμία θέση φωσφορυλίωσης στην περιφερίνης. Η φωσφορυλίωση της περιοχής της κεφαλής της α-ιντερνεξίνης από τη πρωτεϊνική κινάση A επηρεάζει τον σχηματισμό του νευρονηματίου καθώς επηρεάζει τη δημιουργία των δεσμών μεταξύ των υπομονάδων του (Giasson and Mushynski 1998).

Η υπερφωσφορυλίωση των καρβοξυτελικών άκρων των NfH σχετίζεται με την εμφάνιση της Αμυοτροφικής Πλάγιας Σκλήρυνσης (Guillaud et al., 2020).

ii. Ο-συνδεδεμένη γλυκοζυλίωση β-N-ακετυλογλυκοζαμίνης (O-linked N-acetylglucosamine -O-GlcNAc), προσθήκη δηλαδή του μονοσακχαρίτη N-ακετυλογλυκοζαμίνης (GlcNAc) σε υπολείμματα σερίνης ή θρεονίνης.

## **2.5. Οργάνωση των νευρονηματίων και ο ρόλος τους στη διατήρηση της δομής του νευράξονα**

Τα νευρονημάτια αποτελούν ένα από τα βασικά δομικά στοιχεία του κυτταροσκελετού των αξόνων και δενδριτών ενός ώριμου νευρώνα (Yuan et al., 2009). Σε συνεργασία με τους μικροσωληνίσκους και τα νημάτια ακτίνης, σχηματίζουν μία σταθερή, αλλά εύελικτη δομή με σκοπό τη βέλτιστη λειτουργία του νευρώνα (Lobsieger and Cleavaland 2009; Yuan et al., 2012). Ο κυτταροσκελετός σχηματίζεται από τον συνδυασμό των μικροσωληνίσκων και των νευρονηματίων ο οποίος δημιουργεί μια δομή παρόμοια με ένα επίμηκες καλώδιο κατά μήκος του άξονα, καθώς και από έναν λεπτό μικροϊνιακό ιστό ο οποίος γεμίζει τον χώρο ανάμεσα στις υπόλοιπες δομές του νευρώνα και το κυτταρικό τοίχωμα (Lobsieger and Cleavaland, 2009). Εντός του κυτταροσκελετού, το σχήμα των νευρονηματίων είναι ευθύ, χωρίς διακλαδώσεις, και μήκος περίπου 118 μm (Burton and Wentz, 1992). Τα νευρονημάτια οργανώνονται παράλληλα, διατηρώντας μικρή απόσταση μεταξύ τους (Hsieh et al., 1994; Sanchez et al., 2000).

Η διάμετρος του νευράξονα έχει βρεθεί πως δεν είναι ίδια κατά μήκος του (Nixon and Logvinenko, 1986; Schlaepfer and Bruce, 1990; Hsieh et al., 1994), αλλά υπάρχουν διακυμάνσεις στη διάμετρο ανάλογα με το είδος του, καθώς και την απόσταση του σημείου από το περικάρυο (Nixon and Logvinenko, 1986; Schlaepfer and Bruce, 1990). Για παράδειγμα, στην περίπτωση των περιφερικών κινητικών νευρώνων, όσο πιο μακριά βρίσκεται ένα τμήμα του άξονα από το περικάρυο, τόσο πιο λεπτό είναι. Το αντίθετο παρατηρείται στα οπτικά νεύρα, όπου όσο πιο απομακρυσμένο είναι ένα τμήμα του άξονα μπορεί να παρουσιάζει αύξηση στη διάμετρο έως και τρεις φορές (Nixon and Logvinenko, 1986). Όλες οι παραπάνω παρατηρήσεις σχετίζονται με τον πληθυσμό των νευρονηματίων που περιέχονται στις συγκεκριμένες περιοχές (Nixon and Logvinenko, 1986; Schlaepfer and Bruce, 1990; Sanchez et al., 2000).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η δομή του κυτταροσκελετού στους κόμβους του Ranvier (Walker et al., 2019), τα μέρη όπου ο άξονας δεν περιβάλλεται από μυελίνη επιτρέποντας την μετακίνηση ιόντων και την ταχεία αγωγή του δυναμικού ενεργείας (Arancibia-

Carcamo and Attwell, 2014). Αυτά τα σημεία χαρακτηρίζονται από σημαντική μείωση της διαμέτρου τους, έως δέκα φορές σε σχέση με τον υπόλοιπο εμμύελο άξονα (Walker et al., 2019) που πιθανότατα οφείλεται τόσο στη μειωμένη, κατά 76% (Walker et al., 2019), ποσότητα των νευρονηματίων όσο και στις πιο κοντινές διασυνδέσεις των μονάδων των νευροϊνιδίων από ότι παρατηρείται στον υπόλοιπο άξονα (Hsieh et al., 1994). Τα υπόλοιπα στοιχεία του κυτταροσκελετού (πχ τα νημάτια ακτίνης και οι μικροσωληνίσκοι) δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερη διαφορά στους κόμβους του Ranvier σε σύγκριση με τον υπόλοιπο άξονα (Hsieh et al., 1994), υποδεικνύοντας πως η ποσότητα των νευρονηματίων είναι πιθανότατα καθοριστική στη διάμετρο του νευράξονα.

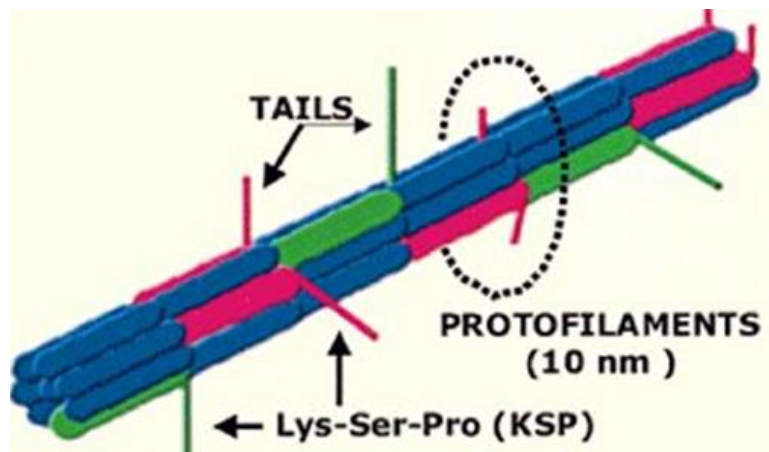
## **2.6. Μεταβολές στην έκφραση των νευροϊνιδίων κατά την ανάπτυξη**

Τα νευρονημάτια δεν είναι παρόντα από την αρχή της ανάπτυξης του νευρικού συστήματος (Nixon and Shea, 1992). Στο εμβρυϊκό στάδιο η ανάπτυξη των νευραξόνων καθορίζεται αποκλειστικά από τα ενδιάμεσα νημάτια βιμεντίνη και νεστίνη, *τύπου III* και *τύπου IV*, αντιστοίχως (Nixon and Shea, 1992; Cooper, 2000; Herrmann and Aebi, 2016). Η συμβολή τους σταματά με την παύση της κυτταρικής διαίρεσης των πρόδρομων νευρωνικών κυττάρων και αντικαθίστανται σταδιακά από τα νευροϊνίδια (Cochard and Paulin, 1984; Lendahl et al., 1990). Αυτό το στάδιο συμπίπτει με την δημιουργία των συνάψεων στα πρώτα στάδια ωρίμανσης του νευρώνα κατά την ανάπτυξη (Nixon and Shea, 1992; Sanchez et al., 2000). Μετά από τον επιτυχή σχηματισμό μιας σύναψης, τα κοντινά ολιγοδενδροκύτταρα στο ΚΝΣ και τα κύτταρα Schwann στο ΠΝΣ λαμβάνουν έναν καταρράκτη χημικών μηνυμάτων που τα ωθεί να ξεκινήσουν τη διαδικασία μυελίνωσης του συγκεκριμένου νευρώνα (Sanchez et al., 2000). Μόλις επιτευχθεί αυτό το στάδιο, υπάρχει μία σταδιακή αντικατάσταση των εύπλαστων και δυναμικών ενδιάμεσων νηματίων, νεστίνης και βιμεντίνης, από τα πιο ανθεκτικά και σταθερά ετεροπολυμερή νευροϊνίδια (Nixon and Shea, 1992). Καθώς ο νευρώνας συνεχίζει και ωριμάζει, υπάρχει μία αύξηση των υπομονάδων NfH εντός των καινούριων νευρονηματίων που σχηματίζονται στον νευρώνα, και με την συνεργασία της NfM δημιουργούν μια ιδιαίτερα σταθερή δομή (Nixon and Shea, 1992). Με τη δημιουργία επιτυχούς συναπτικής διασύνδεσης μεταξύ των νευρώνων, τα ολιγοδενδροκύτταρα ή τα κύτταρα Schwann ξεκινούν τη διαδικασία της μυελίνωσης, και παρατηρείται μία εκρηκτική αύξηση στο ποσό των νευρονηματίων εντός

του νευράξονα που οδηγεί σε αύξηση της διαμέτρου έως και δέκα φορές από την αρχική (Sanchez et al., 2000).

## 2.7. Διατήρηση της διαμέτρου του νευράξονα και ενίσχυση της αγωγιμότητας

Τα νευρονημάτια, όπως έχει παρουσιαστεί παραπάνω, έχουν σημαντικό ρόλο στην αύξηση της διαμέτρου του νευράξονα, καθώς και στη διατήρησή της (Sanchez et al., 2000). Όλα τα νευροϊνίδια έχουν ρόλο στη διατήρηση της διαμέτρου του νευράξονα, ωστόσο καθοριστικός είναι ο ρόλος των φωσφορυλιωμένων καρβοξυτελικών τμημάτων της ουράς της NfM και NfH (**Εικόνα 5**). Οι προεκτάσεις και το αρνητικό φορτίο που φέρουν τα φωσφορυλιωμένα τμήματα των NfM και NfH δημιουργούν και διατηρούν τις αποστάσεις από γειτονικά νευρονημάτια και άλλες δομές του κυτταροσκελετού (Sanchez et al., 2000; Chang et al., 2009; Uchida et al., 2016). Ο αριθμός των προεκτάσεων και το ποσό φωσφορυλίωσης διαφέρουν ελάχιστα ανάμεσα στις δύο νευροϊνιδιακές υπομονάδες (Sanchez et al., 2000). Ανεξαρτήτως των μικρών διαφορών τους, και οι δύο υπομονάδες κρατούν τις γειτονικές δομές σε απόσταση, διατηρώντας με αυτό τον τρόπο τη διάμετρο του νευράξονα (Rao et al., 2003; Chang et al., 2009).



**Εικόνα 5.** Δομή και οργάνωση των νευρονηματίων. Τα νευρονημάτια σχηματίζονται ως ραβδόμορφα πολυμερή αποτελούμενα από NfL (μπλε), NfM (ροζ) και NfH (πράσινο) υπομονάδες με προεκτάσεις αποτελούμενες από τις καρβοξυτελικές περιοχές της ουράς των NfM και NfH. Οι περιοχές αυτές περιέχουν πολλές επαναλήψεις ομάδων λυσίνης, σερίνης, προλίνης, αποκαλούμενες KSP επαναλήψεις, οι οποίες είναι το πιο φωσφορυλιωμένο τμήμα των πρωτεϊνών. Οι κάθετες προεκτάσεις εξέχουν από τον «πυρήνα» του νευρονηματίου και δημιουργούν διασυνδέσεις ανάμεσα στα νευρονημάτια με σκοπό την εν παραλλήλω οργάνωση τους κατά μήκος του νευράξονα. Οκτώ πρωτοϊνίδια συγκροτούν ένα νευρονημάτιο με διάμετρο 10 nm. (Ανατύπωση από: Perrone et al., 2001).

Η ταχύτητα αγωγής (αγωγιμότητα) των δυναμικών ενεργείας κατά μήκος του νευράξονα επηρεάζεται από τη διάμετρο του (Rao et al., 2003; Chang et al., 2009). Ως δομικό στοιχείο, τα

νευρονημάτια επηρεάζουν τη σταθερότητα της δομής του άξονα καθώς και τη διάμετρο του, και για τον λόγο αυτό παίζουν καθοριστικό ρόλο στη νευρωνική αγωγιμότητα (Lobsieger and Cleavaland, 2009; Walker et al., 2019).

## **2.8. Διατήρηση της ακεραιότητας των μικροσωληνίσκων**

Τα νευροϊνίδια εμπλέκονται στη ρύθμιση του πληθυσμού των μικροσωληνίσκων, στο σύνολο τους, καθώς μπορούν να αναστείλουν τον πολυμερισμό τους (Bocquet et al., 2009; Yuan et al., 2012). Συγκεκριμένα έχουν την ιδιότητα να συνδέονται με την ελεύθερη τουμπουλίνη, το κύριο δομικό υλικό των μικροσωληνίσκων. Η σύνδεση τους αυτή με την τουμπουλίνη γίνεται με τη κεφαλή των νευροϊνιδίων (Bocquet et al., 2009). Αυτή η ιδιότητα έχει παρατηρηθεί σε όλες τις υπομονάδες των νευροϊνιδίων (Bocquet et al., 2009; Yuan et al., 2012) και επηρεάζει τον πολυμερισμό της τουμπουλίνης (Hisanaga and Hirokawa, 1990).

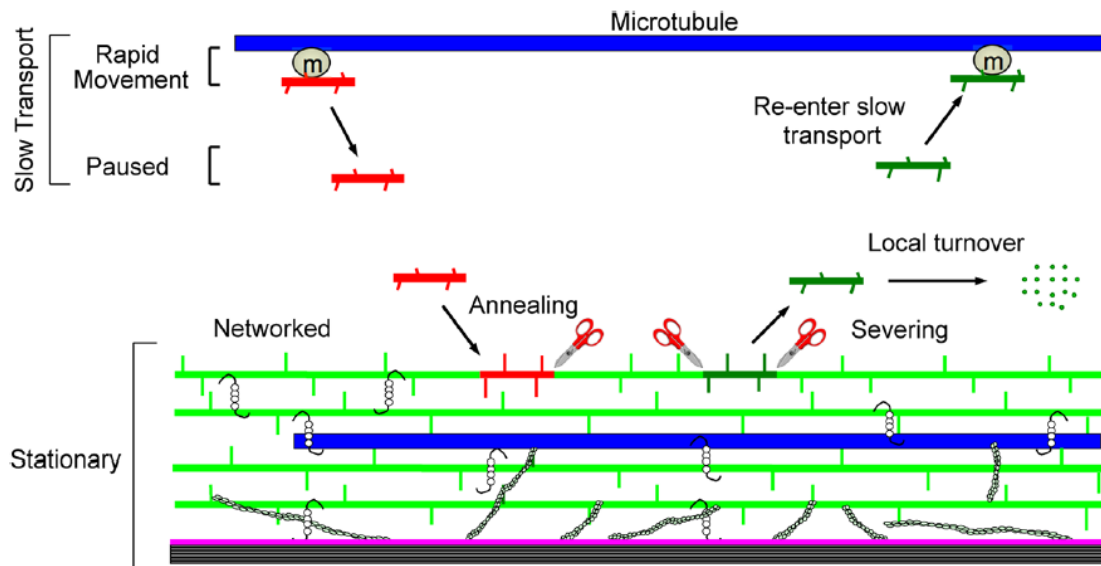
Η αποσφωρυλίωση της NfH τροποποιεί την αναλογία (ψυχρό) διαλυτών προς αδιάλυτων μικροσωληνίσκων, επηρεάζοντας έτσι την σταθερότητα τους (Tashiro et al., 1994). Σε διαγονιδιακό μοντέλο ποντικών στο οποίο τα νευρονημάτια δεν μπορούν να φτάσουν στον νευράξονα, ενώ η ποσότητα της τουμπουλίνης στον νευράξονα παραμένει η ίδια με την ομάδα ελέγχου, υπήρχε υπερβολική δημιουργία μικροσωληνίσκων στον άξονα, ωστόσο η διάμετρος του άξονα μειώθηκε σημαντικά (Bocquet et al., 2009).

## **2.9. Μεταφορά των νευροϊνιδίων στον νευράξονα**

Για πολλά χρόνια είχε θεωρηθεί πως όλα τα νευρονημάτια βρίσκονται, από τη στιγμή της συναρμολόγησης τους έως τη στιγμή της αποδόμησης τους, σε συνεχόμενη κίνηση (Roots, 1983). Ωστόσο, νεότερα δεδομένα υποστηρίζουν πως η πλειονότητα των νευρονηματίων παραμένει στάσιμη, ως δομικό μέρος του κυτταροσκελετού, με έναν μικρότερο πληθυσμό τους να βρίσκεται σε κίνηση (Yuan et al., 2009).

Τα νευρονημάτια έχουν μεγάλο χρόνο ημιζωής, διατηρώντας με αυτόν τον τρόπο μία ιδιαίτερα σταθερή δομή των νευρώνων, με πολύ αργούς ρυθμούς αντικατάστασης τους (Millecamps et al., 2007). Μόλις η διαδικασία της αντικατάστασης θέτεται σε ισχύ, ένας μικρός πληθυσμός προδρομικών νευροϊνιδιακών υπομονάδων ή πολυμερών, μεταφέρεται στο σημείο

της αντικατάστασης των παλαιών νευρονηματίων για να προστεθεί στον κυτταροσκελετό (Yuan et al., 2015β) (*Εικόνα 6*).



*Εικόνα 6.* Η διαδικασία αντικατάστασης των παλαιών νευρονηματίων από καινούργια πολυμερή ή προδρομικές νευροϊνδιακές υπομόναδες. (Ανατύπωση από: Yuan et al., 2015β).

Η μεταφορά οποιουδήποτε μορίου κατά μήκος του νευράξονα γίνεται με τη βοήθεια των μικροσωληνίσκων, οι οποίοι δρουν ως ‘ράγες’, και των κινητήριων πρωτεϊνών, κινεσινών και δυνεΐνης (Maday et al., 2014; Walker et al., 2019). Οι κινητήριες πρωτεΐνες δεσμεύουν τα νευρονημάτια και τα μεταφέρουν στον προορισμό του. Στη περίπτωση του νευρονηματίου ο προορισμός του συνήθως είναι το σημείο όπου θα ενισχύσει τον κυτταροσκελετό (Yuan et al., 2012; Yuan et al., 2015β). Η μεταφορά των νευρονηματίων γίνεται κατά 60% ορθοδρομικά, δηλαδή από το σώμα του νευρώνα, όπου συντίθενται, προς τη σύναψη (Yuan et al., 2009; Guillaud et al., 2020). Η ορθοδρομική μεταφορά επιτυγχάνεται κυρίως από τη δέσμευσή τους με τη κινεσίνη 5A (**Kinesin Family Member 5A - KIF5A**) (Brady, 1985). Το υπόλοιπο 40% κινείται ανάδρομα, μέσω της δυνεΐνης, προς το περικάρυο για ανακύκλωση ή καταστροφή του (Uchida and Brown, 2004; Guillaud et al., 2020).

Έχει βρεθεί πως η απαλοιφή του γονιδίου που εκφράζει τη KIF5A, οδηγεί στη συσσώρευση των νευρονηματίων στο περικάρυο καθώς παρεμποδίζεται η είσοδος τους στον άξονα (Guillaud et al., 2020) οδηγώντας στην εκφύλιση του άξονα (Xiao et al., 2016). Μελέτες νευροαπεικόνισης και διαγραφής συγκεκριμένων γονιδίων δείχνουν ότι οι ελάχιστες

προϋποθέσεις για τη νευροϊνιδιακή μεταφορά είναι το διμερές, οποιασδήποτε υπομονάδας εφόσον είναι συνδεδεμένη με α-ιντερνεξίνη ή με NfM (Yuan et al., 2003). Η διαδικασία της μεταφοράς ρυθμίζεται ανάλογα με το ποσό των νευρονηματίων που «κυκλοφορούν» στον νευράξονα και οποιαδήποτε διαταραχή στη διαδικασία αυτή σχετίζεται με την εμφάνιση νόσου (Maday et al., 2014; Guillaud et al., 2020).

Η υπερέκφραση οποιουδήποτε γονιδίου που κωδικοποιεί οποιαδήποτε νευροϊνίδιο μπορεί να προκαλέσει τη συσσώρευση τους, και πολύ συχνά τις συσσωματώσεις τους κατά μήκος του άξονα (Walker et al., 2019). Μεταλλάξεις της NfM σχετίζονται με ενδοκυττάριας εναποθέσεις στην Charcot-Marie Tooth (CMT) (Rebello et al., 2016). Ο τύπος E της νόσου CMT σχετίζεται με την μετάλλαξη και επακόλουθη συσσώρευση της NfL (Lancaster et al., 2018).

Η μεταφορά των νευροϊνιδίων χαρακτηρίζεται από διαστήματα μεγάλων παύσεων και σύντομα διαστήματα κίνησης τους (Brown, 2000). Για παράδειγμα, τα νευροϊνίδια που ανευρίσκονται στο άκρο ενός νευράξονα μήκους ενός μέτρου, μπορεί να έχουν διανύσει την απόσταση από το περικάρυο προς το συναπτικό άκρο μέσα σε ένα διάστημα 4-12 μηνών και μπορεί να παραμείνουν εκεί για άλλες 100 μέρες περίπου (Maday et al., 2014). *In vitro*, η ταχύτητα μεταφοράς ενός νευροϊνιδίου κατά μήκος του νευράξονα είναι ~0.5  $\mu\text{m/s}$  (Brown, 2000). Η μέση ταχύτητα μεταφοράς των νευροϊνιδίων συχνά μειώνεται περαιτέρω εξαιτίας των πολλών, συχνών και μεγάλης διάρκειας διακοπών της μετακίνησης τους (Li et al., 2012). Ο λόγος για τον οποίο συμβαίνουν οι διακοπές αυτές δεν έχει εξακριβωθεί. Είναι πιθανό να οφείλονται σε παράγοντες που παρεμποδίζουν τη δέσμευση των μικροσωληνίσκων με τη κινητήρια πρωτεΐνη ή την αποδέσμευση της κινητήριας πρωτεΐνης από τα νευροϊνίδια (Syed and Lee, 2019). Η ιδιαίτερα ελαττωμένη ταχύτητα μεταφοράς των νευροϊνιδίων οφείλεται επίσης στο μικρό τους μέγεθος το οποίο μειώνει, πιθανότατα, τον αριθμό των κινητήριων πρωτεϊνών που μπορούν να δεσμευθούν και κατ' επέκταση μειώνει τη συνολική ταχύτητα μεταφοράς τους (Syed and Lee, 2019). Αν και η αργή μετακίνηση μορίων φαίνεται ως αναποτελεσματική, το ποσό πρωτεϊνών που μεταφέρεται στο προ-συναπτικό σημείο του νευράξονα με αργή σε σχέση με αυτό που μεταφέρεται με την γρήγορη μεταφορά είναι σε σχέση 3:1 (Roy, 2014). Η αργή μεταφορά προσφέρει ουσιαστικά μία συνεχή ανανέωση των συστατικών στη νευρική απόληξη απαραίτητων για την επιβίωση της σύναψης (Yuan et al., 2018).

Ένα ιδιαίτερο σημείο κατά μήκος του άξονα είναι οι κόμβοι του Ranvier, όπου εξαιτίας της μικρότερης διαμέτρου τους, η αργή μεταφορά των νευροϊνιδίων θα έπρεπε να προκαλεί

συσσωρεύσεις νευροϊνιδίων και νευρονηματίων (Walker et al. 2019). Ωστόσο, αυτό παρατηρείται μόνο σε παθολογικές καταστάσεις υπερέκφρασης των γονιδίων των νευροϊνιδίων (Liu et al., 2004). Η αποφυγή δημιουργίας συσσωματώσεων στους κόμβους του Ranvier οφείλεται πιθανότατα στην τοπική επιτάχυνση της μεταφοράς τους (Walker et al., 2019). Η επιτάχυνση έχει θεωρηθεί πως είναι το αποτέλεσμα της μειωμένης ποσότητας των νευρονηματίων του κυτταροσκελετού στον κόμβο του Ranvier, που οδηγεί στην αποτελεσματική δέσμευση των νευροϊνιδίων που μεταφέρονται με τη κινητήρια πρωτεΐνη τους και τους μικροσωληνίσκους (Walker et al., 2019).

Η ταχύτητα μεταφοράς των νευροϊνιδίων εξαρτάται από τη φωσφορυλίωση των καρβοξυτελικών άκρων τους (Walker et al., 2019). Η υπερφωσφορυλίωση των καρβοξυτελικών άκρων της NfH προκαλεί παύσεις στην μεταφορά των νευροϊνιδίων μεγαλύτερης διάρκειας από το φυσιολογικό, διαταράσσοντας με αυτό τον τρόπο τη διαδικασία της αξονικής μεταφοράς (Ackerley et al., 2003) και οδηγώντας τελικά στην συσσώρευσή τους. Η συσσώρευση των νευροϊνιδίων πιθανόν εμπλέκεται σε κάποιες μορφές της Αμυοτροφικής Πλάγιας Σκλήρυνσης (Guillaud et al., 2020). Θεωρείται επίσης πως οι ενδοκυττάρειες συσσωρεύσεις των νευρονηματίων σχετίζονται με νευροεκφυλιστικές νόσους όπως η Νόσος Αλτσχάιμερ ή η Νόσος Πάρκινσον, ωστόσο δεν έχουν υπάρξει αρκετές μελέτες για να τεκμηριώσουν την άποψη αυτή (Khalil et al., 2018).

Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν επίσης την ταχύτητα μεταφοράς ενός νευρονηματίου είναι το είδος του νευρώνα και η πρωτεΐνη-όχημα, που χρησιμοποιείται στην μεταφορά του. Για παράδειγμα οι κινεσίνες δείχνουν να είναι «πιο γρήγορες» από τη δυνεΐνη (Maday et al., 2014; Syed and Lee, 2019).

## ***2.10. Οι αλληλεπιδράσεις των νευροϊνιδίων στο επίπεδο της σύναψης***

Για μεγάλο χρονικό διάστημα, η σύναψη θεωρούνταν ως το μέρος όπου τα νευρονημάτια μεταφέρονταν για να καταστραφούν, ωστόσο έχει παρατηρηθεί το αντίθετο (Yuan et al., 2018). Στη σύναψη, τα νευρονημάτια είναι μορφολογικά και λειτουργικά, διαφορετικά (Yuan et al., 2015a; Yuan et al., 2018). Εμφανίζουν πολλά κοινά χαρακτηριστικά με τα ανώριμα στάδια δημιουργίας τους καθώς υπάρχουν ως ξεχωριστές υπομονάδες ή μονομερή (Yuan et al., 2018). Οι NfM και NfH στη σύναψη εμφανίζουν επίσης σημαντική διαφορά στα μοτίβα φωσφορυλίωσης των καρβοξυτελικών ουρών τους σε σχέση με τις αντίστοιχες υπομονάδες του



νευράξονα (όπου η NfM είχε σημαντικά μειωμένα επίπεδα φωσφορυλίωσης ενώ η NfH το αντίθετο) (Yuan et al., 2018). Ελάχιστα από τα νευρονημάτια στη σύναψη είναι πλήρη πολυμερή και από αυτά, τα περισσότερα θεωρούνται πως είναι «ρύποι» από τον άξονα και όχι λειτουργικές μονάδες οι οποίες εκτελούν κάποιο λειτουργία σε αυτό το σημείο (Yuan et al., 2015β). Τα πολυμερή που δεν είναι ρύποι αναγνωρίζονται από την μεγάλη ποσότητα της α-ιντερνεξίνης που έχουν.

Η «ανώριμη» κατάστασή τους επιτρέπει τον κυτταροσκελετό στην περιοχή της σύναψης να είναι πιο δυναμικός, εύπλαστος, αλλά και πιο ευάλωτος στην αποδόμηση του (Nixon and Shea, 1992). Τα ανώριμα νευρονημάτια αποδομούνται ευκολότερα κατά τη διάρκεια της μεταφοράς τους, με τα μονομερή των NfL και NfM να θεωρούνται ως τα πιο ευπαθή, ιδιαίτερα με την αργή μέθοδο μεταφοράς η οποία είναι κοινή για όλα τα νευροϊνίδια (Yuan et al., 2009). Αξίζει να σημειωθεί πως δεν έχει παρατηρηθεί σε καμία μελέτη πως οι νευροϊνιδιακές υπομονάδες μεταφέρονται ως μονομερή κατά μήκος του νευράξονα. Το γεγονός αυτό έχει ωθήσει ορισμένους ερευνητές να υποθέσουν πως η δόμηση των νευρονηματίων στη σύναψη γίνεται τοπικά από μονομερή που συντίθεται *in situ*. Η υπόθεση αυτή υποστηρίζεται από ευρήματα μελετών που δείχνουν ότι στους μετασυναπτικούς δενδρίτες εκφράζεται mRNA των NfL, α-ιντερνεξίνης και τουμπουλίνης, αν και το ίδιο δεν έχει βρεθεί να ισχύει σε προσυναπτικό επίπεδο (Yuan et al., 2018).

Όλες οι νευροϊνιδιακές υπομονάδες έχουν σημαντικό ρόλο στις συνάψεις, αφού η διαγραφή οποιασδήποτε από τις τέσσερις, οδηγεί σε μείωση της συναπτικής πλαστικότητας καθώς και διαταραχές της συμπεριφοράς και της μνήμης των πειραματόζωων, χωρίς να παρατηρούνται δομικές μεταβολές της σύναψης (Yuan et al., 2015α).

Η διαγραφή του γονιδίου της NfM οδηγεί σε αυξημένη κατά 107% έκφραση των NfH και NfL στη σύναψη. Αυτή η αύξηση των NfL και NfH θεωρείται πως είναι αντισταθμιστική στην έλλειψη της NfM. Παράλληλα με την αύξηση στην έκφραση των γονιδίων των NfL και NfH παρατηρήθηκε και αύξηση στην έκφραση της α-ιντερνεξίνης, χωρίς όμως να είναι στατιστικά σημαντική (Yuan et al., 2015α).

Η διαγραφή του γονιδίου της NfL επηρεάζει τη λειτουργία των υποδοχέων του γλουταμινικού. Για το λόγο αυτό επηρεάζει τη διατήρηση της μακροχρόνιας συναπτικής ενδυνάμωσης (**Long Term Potentiation – LTP**) η οποία γίνεται ατελής. Η υπομονάδα NfL αλληλοεπιδρά με την υπομονάδα GluN1 του υποδοχέα του N-μέθυλο-D-ασπαρτικού οξέος (N-

**Methyl-D-Aspartate Receptor - NMDAR**) που οδηγεί στην ενσωμάτωση περισσότερων NMDAR μετασυναπτικά στους δενδρίτες, ενισχύοντας έτσι τη λειτουργικότητα του νευρώνα (Yuan et al., 2018). Αντίθετα η μειωμένη έκφραση της υπομονάδας NfL μειώνει τα επίπεδα της GluN1 και επηρεάζει τη διάμετρο και το μήκος των δενδρίτων, την LTP στον υπόκαμπο, καθώς και την εμφάνιση ψυχιατρικών και γνωσιακών δυσλειτουργιών στα πειραματόζωα (Yuan et al., 2018). Έχει επίσης παρατηρηθεί σε ποντίκια ότι η πλήρης διαγραφή της NfL έχει ως αποτέλεσμα την αντισταθμιστική αύξηση των επιπέδων του γλουταμινικού οξέος στον υπόκαμπο (Gafson et al., 2020).

Οποιαδήποτε τροποποίηση της υπομονάδας NfM φαίνεται να ενισχύει την ενεργοποίηση του υποδοχέα της ντοπαμίνης D1 (**Dopamine Receptor 1 - D1R**) έπειτα από χρήση κοκαΐνης, καθώς και την μετακίνηση των D1R στη μεμβράνη των μετασυναπτικών νευρώνων. Όταν ο D1R συνδέεται με την NfM μειώνεται η ευαισθησία του στους D1R αγωνιστές καθώς και ο αριθμός των D1R που εκφράζονται στην επιφάνεια των νευρώνων (Yuan et al., 2018). Οι D1R είναι οι κύριοι στόχοι της αμφεταμίνης και κοκαΐνης. Η κατάχρηση οποιασδήποτε από αυτές τις ουσίες οδηγεί σε μείωση των νευροϊνιδίων καθώς και σε αλλαγές στα μοτίβα φωσφορυλίωσης τους. Ωστόσο δεν έχουν παρατηρηθεί περαιτέρω μορφολογικές τροποποιήσεις στη σύναψη. Η διαγραφή της υπομονάδας NfM οδηγεί σε υπερβολική απάντηση των D1R στην χρήση κοκαΐνης (Yuan et al., 2015α) και κινητικές δυσλειτουργίες σε ποντικούς (Yuan et al., 2018).

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Τα νευροϊνίδια ως βιοδείκτες

Η χρήση βιοδεικτών οι οποίοι μπορούν να αποτυπώνουν την έκταση νευροεκφύλισης είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για την έγκαιρη ανίχνευση και αντιμετώπιση των νευροεκφυλιστικών παθήσεων (Barro et al., 2021). Τα νευροϊνίδια έχουν τύχει ιδιαίτερης προσοχής τα τελευταία χρόνια ως πιθανοί βιοδείκτες μη ειδικής αξονικής βλάβης των νευρώνων (Khalil et al., 2018).

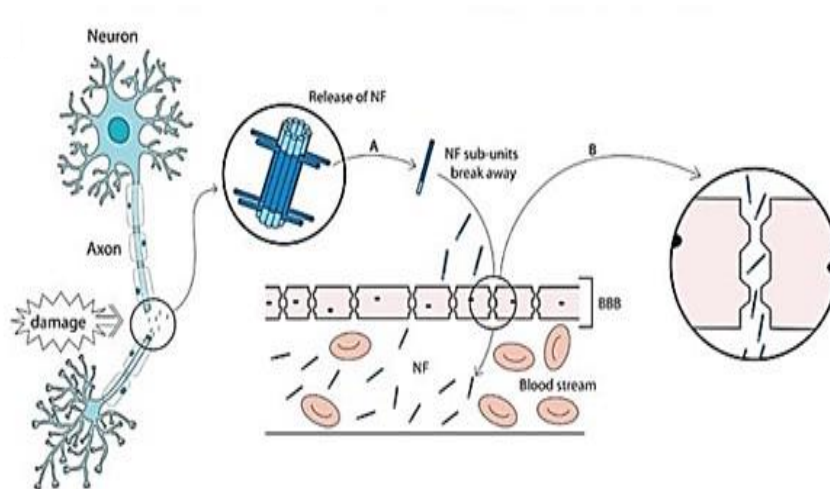
Η απελευθέρωση τους στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) και εν συνέχεια στο αίμα, έχει σχετιστεί με νευροεκφυλιστικές νόσους (Benedet et al., 2020), με εγκεφαλική βλάβη μετά από κάκωση (Shahim et al., 2020) ή αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (Pekny et al., 2021) και με τη γήρανση (Yuan and Nixon, 2021; Rübbsamen et al., 2021).

Τα νευροϊνίδια έχουν αποδειχθεί πως είναι ένας βιοδείκτης με μεγάλη σταθερότητα στις διαδικασίες μέτρησης τους. Συγκεκριμένα, τα επίπεδα των NfL παραμένουν σταθερά ακόμη και

έπειτα από μακροχρόνια έκθεση σε θερμοκρασία δωματίου και έπειτα από πολλούς κύκλους παγώματος-ξεπαγώματος του δείγματος (Kuhle et al., 2013).

### 3.1. Διαφορές ανάμεσα στην ανίχνευση νευροϊνιδίων στο ENY και στο αίμα

Τα νευροϊνίδια, όπως προαναφέρθηκε, ανιχνεύονται στο ENY και στο αίμα (Kuhle et al., 2016). Ο μηχανισμός εισόδου των νευροϊνιδίων στο αίμα δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως (Clark et al., 2021). Θεωρείται πως ύστερα από αξονική βλάβη, τα νευροϊνίδια απελευθερώνονται εξαιτίας της βλάβης της κυτταρικής μεμβράνης του νευρώνα (**Εικόνα 7**) (Barro et al., 2021).



**Εικόνα 7.** Σχήμα που αντιπροσωπεύει νευροαξονική εκφύλιση η οποία οδηγεί στην απελευθέρωση των νευροϊνιδίων στο εξωκυτταρικό περιβάλλον (A) και στη συνέχεια στο ENY και στο αίμα (B) όπου και ανιχνεύονται έπειτα από νευροαξονική βλάβη. Συντομώσεις: BBB, Blood Brain Barrier; NF, neurofilament. (Ανατύπωση από: Lambertsen et al., 2020)

Μετά την απελευθέρωση των νευροϊνιδίων στο ENY, εισέρχονται στο αίμα, λόγω πιθανής βλάβης του αιματοεγκεφαλικού φραγμού ή μέσω της παροχέτευσης του ENY (Kuhle et al., 2016; Engelhardt et al., 2017). Εντούτοις, στην μελέτη των Kalm και συν. (2017), δεν υπήρχε αντιστοιχία μεταξύ των επιπέδων των NfL στον ορό με αυτά που διαπέρασαν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό.

Ανεξάρτητα του τρόπου με τον οποίο τα νευροϊνίδια εισέρχονται τελικά στο αίμα, πολλές μελέτες δείχνουν πως υπάρχει στατιστικά ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των νευροϊνιδίων στο ENY και στο αίμα (Disanto et al., 2017; Benedict et al., 2020; Barro and Zetterberg, 2021; Yuan and Nixon, 2021). Παρομοίως, τα επίπεδα των NfL στον ορό εμφανίζουν

ισχυρή συσχέτιση με τα επίπεδα τους στο πλάσμα (Hviid et al., 2020). Τα επίπεδα των NfL στο αίμα, μπορούν να είναι 40-50 φορές χαμηλότερα από τα επίπεδα τους στο ENY, ανάλογα με τον αν η μέτρηση τους γίνεται σε πλάσμα ή ορό (Disanto et al., 2017; Barro and Zetterberg, 2021; Yuan and Nixon, 2021). Σε γενικές γραμμές, τα επίπεδα NfL ελέγχονται στον ορό και όχι στο πλάσμα, καθώς οι ποσότητες τους στον ορό είναι συνήθως μεγαλύτερες από αυτές του πλάσματος (Hviid et al., 2020; Barro and Zetterberg, 2021). Επίσης τα επίπεδα των NfL στο πλάσμα παρουσιάζουν διακυμάνσεις αναλόγως με την ώρα της αιμοληψίας (Benedict et al., 2020).

Αν και οι μετρήσεις των νευροϊνιδίων στο αίμα έχουν βρεθεί πως αντικατοπτρίζουν τις τιμές τους στο ENY, όσο αφορά παθήσεις του ΚΝΣ οι μετρήσεις στο ENY παραμένουν η πιο ακριβής μέθοδος προσδιορισμού τους (Barro and Zetterberg, 2021). Παραδείγματος χάρη, σε μετρήσεις που έχουν γίνει σε ασθενείς με Σκλήρυνση Κατά Πλάκα, έχει παρατηρηθεί πως μία αύξηση της τάξης του 10% στα επίπεδα των NfL στο ENY οδηγεί σε μία μεταβολή των επιπέδων τους στον ορό 5.8% έως 7.4% (Disanto et al., 2017; Clark et al., 2021). Η οσφουονωτιαία παρακέντηση που απαιτείται για τη λήψη του ENY είναι χρονοβόρα και επεμβατική. Αυτό το γεγονός καθιστά τον προσδιορισμό των επιπέδων των NfL στο ENY ως πρακτική ρουτίνας δύσκολη (Disanto et al., 2017). Αυτό το ζήτημα επιλύεται με τη χρήση αιματολογικών εξετάσεων (Clark et al., 2021), που είναι γρηγορότερο και ευκολότερο μέσο παρακολούθησης των ασθενών ενώ διατηρεί την ευαισθησία του ως μέθοδος.

### ***3.2. Εργαστηριακός προσδιορισμός των νευροϊνδιακών υπομονάδων***

Η NfL είναι η υπομονάδα των νευροϊνιδίων στην οποία έχουν εστιάσει οι περισσότερες μελέτες καθώς, εκτός από περιπτώσεις όπου αλλάζει η φυσιολογική στοιχειομετρία τους, οι NfL υπερτερούν κατά 3:1 σε σχέση με τις υπόλοιπες υπομονάδες των νευροϊνιδίων (Yuan et al., 2009). Αυτό κάνει την ανίχνευσή τους πιο εύκολη ακόμη και εάν μεταβάλλονται δομικά μετά από την απελευθέρωση τους (Yuan and Nixon, 2021).

Εκτός από την NfL, έχουν αναλυθεί και οι υπόλοιπες νευροϊνδιακές υπομονάδες ως βιοδείκτες (Khalil et al., 2018). Ιδιαίτερα οι NfM και NfH, παραμένουν δομικά σταθερές μετά από την απελευθέρωση τους λόγω της υπερφωσφορυλιωμένης τους κατάσταση (Gafson et al., 2020). Εντούτοις η χρήση τους ως βιοδείκτες δεν είναι το ίδιο ευρεία όπως η χρήση των NfL.

Έχουν γίνει προσπάθειες για την χρήση των υπομονάδων α-ιντερνεξίνης και περιφερίνης ως βιοδείκτες. Συγκεκριμένα, η περιφερίνη έχει χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης νευροεκφύλισης στην Αμυοτροφική Πλάγια Σκλήρυνση (Findhalter, 2010; Liu et al., 2014). Ωστόσο οι μελέτες είχαν περιορισμένη επιτυχία μέχρι στιγμής καθώς η μικρής διάρκειας ζωής τους μετά από την απελευθέρωση τους στο ENY ή στο αίμα δεν έχει επιτρέψει την ανάλυσή τους (Yuan and Nixon, 2021). Η ποσοτικοποίηση της α-ιντερνεξίνης θα μπορούσε να είναι ιδιαίτερα χρήσιμη, καθώς θα ο προσδιορισμός των επιπέδων της θα επέτρεπε να αποκλειστούν οι πιθανές επιδράσεις στις μετρήσεις από τις περιφερικές νευροϊνδιακές υποομάδες (Yuan et al., 2021).

### ***3.3. Παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα των νευροϊνιδίων στο ENY/αίμα***

**Ηλικία.** Οι τιμές των νευροϊνιδίων επηρεάζονται ιδιαίτερα από την ηλικία του ατόμου, ακόμη και στην απουσία κάποιας υποκείμενης παθολογίας (Ashton et al., 2021; RübSamen et al., 2021). Σε υγιείς ενήλικες, παρατηρείται 2.2% αύξηση της ποσότητας NfL στον ορό τον χρόνο (Barro et al., 2018). Στα παιδιά, στις μικρές ηλικίες μετρούνται αρχικά υψηλά επίπεδα NfL τα οποία σταδιακά μειώνονται μέχρι την ηλικία των 10 με 15 ετών και στη συνέχεια παρουσιάζουν μία σταδιακή, γραμμική αύξηση, η οποία συνεχίζεται ως τα 60 έτη οπότε οι αυξήσεις παύουν συχνά να ακολουθούν τη γραμμική τους πορεία (Khalil et al., 2020).

Έχουν υπάρξει διάφορες θεωρίες για την μεταβολή των επιπέδων των νευροϊνιδίων με την ηλικία, χωρίς ωστόσο να υπάρξει κάποια επαρκή ερμηνεία. Στις προχωρημένες ηλικίες, η μεταβολή αυτή πιθανότατα αποδίδεται στην ευαλωτότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, ιδιαίτερα στις νευροεκφυλιστικές νόσους (Sweeney et al., 2018) και στα πιθανώς αυξημένα επίπεδα νευρωνικής απόπτωσης (Khalil et al., 2020). Τα παραπάνω ωστόσο δεν μπορούν να ερμηνεύσουν τις σταδιακές αυξήσεις των επιπέδων των νευροϊνιδίων που παρουσιάζονται στις νεαρότερες ηλικίες (Khalil et al., 2020).

Ανεξάρτητα από την αιτία, η ηλικία ως μεταβλητή στις εργαστηριακές αναλύσεις των νευροϊνιδίων έχει βρεθεί πως είναι σημαντική. Στις ηλικίες κάτω των 65 ετών, τα επίπεδα νευροϊνιδίων στον ορό διαφέρουν σημαντικά μεταξύ υγιών και ασθενών. Στις ηλικίες άνω των 65 ετών παρατηρείται μία παρόμοια τάση, που εξαρτάται κυρίως από την πάθηση (Ashton et al., 2021). Η παρουσία διαφόρων παθήσεων στις προχωρημένες ηλικίες μπορεί να επηρεάσει τα επίπεδα των NfL που ανιχνεύονται στο ENY/αίμα (Barro et al., 2021). Για τον λόγο αυτό, μερικοί ερευνητές προτείνουν πως ο έλεγχος των επιπέδων NfL στους ηλικιωμένους πρέπει να

γίνεται μακροχρόνια και να παρακολουθούνται περισσότερο οι μεταβολές των επιπέδων τους και όχι τόσο οι απόλυτες τιμές τους που επηρεάζονται από άλλους παράγοντες πλην της νόσου (Barro et al., 2021).

**Δείκτης μάζας σώματος.** Ένας άλλος παράγοντας ο οποίος θεωρείται πως επηρεάζει τα επίπεδα των NfL είναι ο δείκτης μάζας σώματος (**Body mass index - BMI**) (Manouchehrinia et al., 2020). Έχει παρατηρηθεί μία τάση μείωσης των επιπέδων των NfL στο αίμα όσο αυξάνεται ο BMI (Manouchehrinia et al., 2020). Ωστόσο, σε αντίθεση με την ηλικία, ο ρόλος του BMI αν και έχει παρατηρηθεί, δεν έχει επιβεβαιωθεί ακόμη και συχνά δεν λαμβάνεται υπόψη στην ανάλυση των τιμών των NfL (Barro et al., 2021).

**Φύλο.** Το φύλο του εξεταζόμενου μπορεί να επηρεάζει τις τιμές των NfL στο αίμα. Οι Hansson και συν. (2017) αναφέρουν πως οι γυναίκες παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές NfL, αντίθετα άλλες μελέτες αναφέρουν πως το αντρικό φύλο συσχετίζεται με υψηλότερες τιμές NfL (Lin et al., 2018) ενώ άλλες μελέτες δεν βρίσκουν καμία διαφορά στις τιμές των νευροϊνιδίων στα δύο φύλα (Mattsson et al., 2017). Οι Bavato και συν. (2021), ανέφεραν αυξημένα επίπεδα NfL στις γυναίκες σε σύγκριση με τους άνδρες, ωστόσο αυτή η διαφορά εξαλείφθηκε όταν συνυπολογίστηκαν ο BMI και η ηλικία.

Η εξακρίβωση του ρόλου που έχουν οι παραπάνω παράμετροι στα επίπεδα των NfL θα βοηθούσε ιδιαίτερα τις μέλλουσες αναλύσεις στους ασθενείς και θα αύξανε σημαντικά την ευαισθησία των NfL ως βιοδείκτη.

### ***3.4. Τρόποι προσδιορισμού των επιπέδων των νευροϊνιδίων στο αίμα και στο ENY***

Μέχρι σήμερα ο προσδιορισμός των επιπέδων των νευροϊνιδίων έχει γίνει με τέσσερις γενιές τεχνικών. Οι δύο πρώτες γενιές περιλαμβάνουν την τεχνική της ανοσοανατύπωσης (western blot) και της ενζυμο-συζευγμένης ανοσοπροσρόφησης (**Enzyme- Linked Immunosorbent Assay - ELISA**), που βασίζονται στον συνδυασμό δύο αντισωμάτων που περικλείουν τη νευροϊνιδιακή υπομονάδα. Η μέθοδος της ανοσοαποτύπωσης δεν ήταν ικανή να ανιχνεύσει όλες τις ισομορφές των νευροϊνιδίων. Αυτό το εμπόδιο ξεπεράστηκε με την ανάπτυξη του τρόπου προσδιορισμού των νευροϊνιδίων με την μέθοδο ELISA από τους Rosengren και συν. (1996), η οποία πλέον επέτρεπε τη ποσοτικοποίηση όλων των νευροϊνιδιακών υποομάδων στο ENY. Με την μέθοδο

αυτή αναδείχθηκαν τα υψηλότερα επίπεδα NfL στο ENY σε ασθενείς με Αμυοτροφική Πλάγια Σκλήρυνση ή Νόσο Αλτσχάιμερ σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Το βασικό μειονέκτημα των δύο παραπάνω τεχνικών είναι η χαμηλή τους ευαισθησία (O'Connell et al., 2019), γεγονός που τις καθιστά δόκιμες ως τεχνικές μόνο στις αναλύσεις ορού/ENY ασθενών με σοβαρό βαθμό νευροεκφύλισης (Khalil et al., 2018; Yuan and Nixon, 2021). Η νεότερη τεχνική της digital ELISA εμφανίζει μεγαλύτερη ευαισθησία στον προσδιορισμό των επιπέδων των νευροϊνιδίων (O'Connell et al., 2019).

Η τρίτη γενιά, η μέθοδος electrochemiluminescence (ECL) και η τέταρτη γενιά, η δοκιμασία ενός-μορίου (Single Molecule Array - SIMOA) έχουν εξαιρετική ευαισθησία στον προσδιορισμό των επιπέδων των νευροϊνιδίων. Με την εξελιγμένη τεχνολογία τους, οι δύο νεότερες τεχνικές επιτυγχάνουν αξιόπιστες μετρήσεις στο ENY, καθώς και στο αίμα, έχοντας ξεπεράσει τα εμπόδια χαμηλής της ευαισθησίας και των πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων στο αίμα (Khalil et al., 2018).

Η ECL ακολουθεί την μέθοδο «σάντουιτς» της ELISA (Khalil et al., 2018) βασίζεται δε στην χορήγηση ηλεκτρικού φορτίου που ενεργοποιεί τα μόρια-σήμανσης που εκπέμπουν ένα ηλεκτρικό σήμα το οποίο ανιχνεύεται και με τον τρόπο αυτό ποσοτικοποιούνται τα NfL στα δείγματα (Kuhle et al., 2016).

Η μέθοδος SIMOA βασίζεται στην απομόνωση μεμονωμένων ανοσοσυμπλεγμάτων σε παραμαγνητικά σφαιρίδια με τη χρήση τυπικών αντιδραστηρίων της μεθόδου ELISA. Η κύρια διαφορά μεταξύ της μεθόδου SIMOA και των συμβατικών τεχνικών ανοσοαποτύπωσης έγκειται στην ικανότητα παγίδευσης μεμονωμένων μορίων σε φρεάτια μεγέθους fL ( $10^{-15}$  L), που επιτρέπει την «ψηφιακή» ανάγνωση κάθε μεμονωμένου σφαιριδίου προκειμένου να προσδιοριστεί εάν είναι συνδεδεμένο με την πρωτεΐνη-στόχο ή όχι.

Η μέθοδος SIMOA εφαρμόστηκε για πρώτη φορά από τους Rissin και συν. (2010) στο ENY. Αργότερα οι Gisslén και συν. (2016) την χρησιμοποίησαν σε δείγματα αίματος με τη χρήση των anti-NfL μονοκλωνικών αντισωμάτων mAb47:3 (Yuan and Nixon, 2021). Έχουν αναπτυχθεί νεότερες τεχνικές που ανήκουν στην τέταρτη γενιά (Gafson et al., 2020). Η νεότερη μέθοδος της τέταρτης γενιάς, η Ella, είναι ικανή να ανιχνεύει ακόμη και τις πιο χαμηλές τιμές NfL στο αίμα (Gauthier et al., 2021), ωστόσο, η χρήση της δεν είναι ακόμη ευρεία.

Οι τεχνικές των τελευταίων γενεών που έχουν αναπτυχθεί επιτρέπουν την ανίχνευση της NfL στο αίμα σε νεαρά, υγιή άτομα, καθώς και την παρακολούθηση ακόμη και των μικρότερων

διακυμάνσεων των επιπέδων NfL σε έναν ασθενή (Gafson et al., 2020). Έχουν γίνει αρκετές μελέτες με σκοπό να προσδιορίσουν τα επίπεδα NfL στο αίμα σε υγιείς πληθυσμούς ώστε να μπορέσει να καθοριστεί ένα εύρος φυσιολογικών τιμών των επιπέδων NfL σε διάφορες πληθυσμιακές ομάδες (Gafson et al., 2020). Ωστόσο, συχνά χρησιμοποιούνται διαφορετικές τεχνικές και τα αποτελέσματα διαφέρουν ακόμη και μεταξύ εργαστηρίων που χρησιμοποιούν τις ίδιες τεχνικές (Hviid et al., 2020; Karoor et al., 2020; Khalil et al., 2020), κάνοντας τη γενίκευση των αποτελεσμάτων μέτρησης των επιπέδων NfL δύσκολη. Ενδεικτικά, μελέτες που έγιναν σε ασθενείς, παρουσίαζαν διαφορές στα επίπεδα των NfL ακόμη και μεταξύ εργαστηρίων που συνεργάζονται και χρησιμοποιούν τις ίδιες πλατφόρμες SIMOA (Karoor et al., 2020; Ashton et al., 2021). Στην μελέτη των Karoor και συν. (2020) όπου χρησιμοποιήθηκαν ακριβώς οι ίδιες πλατφόρμες, μέθοδοι και υλικά, υπήρχαν διαφορές ως και 10% ανάμεσα στις τιμές των NfL στον ορό. Η απόκλιση των τιμών στο επίπεδο <10% είναι συχνά ένα αποδεκτό επίπεδο ακρίβειας (Karoor et al., 2020), ωστόσο η ανάγκη να μειωθεί παραπάνω αυτό το ποσοστό παραμένει, ιδιαίτερα αν η ανάλυση πρέπει να γίνει για την παρακολούθηση της έκβασης της ασθένειας ή της θεραπείας, όπου και οι μικρότερες διακυμάνσεις είναι σημαντικές (Yuan and Nixon, 2021). Αυτές οι διαφορές γίνονται ακόμη μεγαλύτερες όταν υπάρχουν αλλαγές στις αναλύσεις. Στην μελέτη των Ashton και συν. (2021) αναλύθηκαν 2269 δείγματα ασθενών που έπασχαν από διάφορες νευροεκφυλιστικές παθήσεις καθώς και υγιών ατόμων σε δύο διαφορετικά εργαστήρια. Τα δύο εργαστήρια χρησιμοποίησαν την ίδια τεχνική ανάλυσης SIMOA, καθώς και τα ίδια υλικά, αλλά το κάθε εργαστήριο επέλεξε διαφορετικά αντισώματα ανίχνευσης των NfL. Οι διακυμάνσεις των τιμών των NfL μεταξύ των ασθενών ήταν παρόμοιες, ωστόσο οι απόλυτες τιμές NfL παρουσίασαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα δύο εργαστήρια (Ashton et al., 2021).

Συμπερασματικά, ανεξαρτήτως από τα προαναφερόμενα εμπόδια, ο προσδιορισμός των επιπέδων των NfL ως βιοδείκτης, είναι ένας μη-χρονοβόρος, μη-επεμβατικός και λιγότερο ακριβός τρόπος για την παρακολούθηση μίας νευροεκφυλιστικής νόσου (Ashton et al., 2021; Clark et al., 2021), καθώς και την πρόβλεψη θνησιμότητας σε προχωρημένες ηλικίες απουσία νόσου (Rübsamen et al., 2021). Με τον σωστό συνδυασμό μακροχρόνιας λήψης δειγμάτων και των κλινικών συμπτωμάτων που παρατηρούνται, τα NfL μπορούν να είναι ένα ιδιαίτερα χρήσιμο εργαλείο για τη διαφορική διάγνωση (Barro et al., 2021), την πρόγνωση νόσου ακόμη και πριν την εμφάνιση συμπτώματος (Khali et al., 2018; deWolf et al., 2020; Zerr et al., 2021)



και τη διευκρίνιση της αποτελεσματικότητας μίας θεραπείας. Έχει παρατηρηθεί πως η μείωση των επιπέδων των NfL μετά από θεραπεία σε ασθενείς με διάφορες νευρολογικές ή ψυχιατρικές παθήσεις σχετίζονται με τη βελτίωση των συμπτωμάτων τους (Bjornevik et al., 2020; Rodrigues-Amorim et al., 2020).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Τα νευροϊνίδια σε παθήσεις του ΚΝΣ και του ΠΝΣ

Τα αυξημένα επίπεδα NfL στο ΕΝΥ ή το αίμα αντικατοπτρίζουν τη μη ειδική βλάβη των εμύελων νευρώνων, η οποία μπορεί να προέρχεται από οποιαδήποτε πάθηση, σε οποιοδήποτε σημείο όπου υπάρχουν εμύελοι νευρώνες (Kuhle et al., 2016). Ωστόσο, όπως προαναφέρθηκε, με τον σωστό συνδυασμό εκτίμησης των συμπτωμάτων και μακροχρόνιας παρακολούθησης, η μέτρηση των επιπέδων των NfL μπορούν να αποδειχθούν ένα χρήσιμο εργαλείο στην παρακολούθηση ασθενών, στη διαφορική διάγνωση καθώς και στην ανταπόκριση των ασθενών στην θεραπεία. Παρακάτω, αναφέρονται ορισμένες από τις νευρολογικές και ψυχιατρικές παθήσεις όπου τα επίπεδα NfL χρησιμοποιήθηκαν ως βιοδείκτης.

### **4.1. Νόσος Αλτσχάιμερ**

Η Νόσος Αλτσχάιμερ είναι μια χρόνια νευροεκφυλιστική νόσος που χαρακτηρίζεται από εξωκυττάρια γεροντικές πλάκες αποτελούμενες από Αβ αμυλοειδές και ενδοκυττάρια εναποθέσεις υπερφωσφορυλιωμένης πρωτεΐνης ταυ (Caselli and Reiman, 2013; Benedet et al., 2020; Aloizou et al., 2020a; Dardiotis et al., 2017). Χαρακτηρίζεται από έκπτωση των γνωστικών λειτουργιών των ασθενών, την εμφάνιση άνοιας καθώς και συμπεριφορικών και συναισθηματικών διαταραχών (Benedet et al., 2020; Kosmidis et al., 2018; Nousia et al., 2018; Siokas et al., 2020; Siokas et al., 2022). Διαχωρίζεται, με βάση τον χρόνο της έναρξής της, σε πρόωμη και όψιμη μορφή (Bekris et al., 2010; Tsapanou et al., 2017; Tsapanou et al., 2019). Η πρόωμη μορφή της νόσου ξεκινά πριν τα 65 έτη και έχει ισχυρό γενετικό υπόβαθρο, συχνά την ύπαρξη κάποιας μετάλλαξης στα γονίδια APP (Amyloid Precursor Protein), PSEN (Presenilin) 1 και PSEN2 (Bekris et al., 2010). Η όψιμη μορφή της Νόσου Αλτσχάιμερ συχνά ξεκινά μετά τα 65 έτη και οι πιθανότητες εμφάνισης της αυξάνονται σημαντικά με την ηλικία (Bekris et al., 2010). Σε αντίθεση με την πρόωμη μορφή της Νόσου Αλτσχάιμερ, η εμφάνιση της όψιμης νόσου σχετίζεται μόνο με την μετάλλαξη του γονιδίου APOE (Apolipoprotein E) 4 (Caselli and

Reiman, 2013). Η έναρξη της νόσου συχνά ξεκινά πολλά χρόνια πριν την εμφάνιση κάποιου συμπτώματος (Caselli and Reiman, 2013). Αφού ο ασθενής αρχίζει και παρουσιάζει συμπτώματα, συχνά λαμβάνει τη διάγνωση Ήπιας Γνωστικής Διαταραχής (Darmanthe et al., 2021). Ένα μέρος των ασθενών παραμένει στην βαθμίδα της Ήπιας Γνωστικής Διαταραχής, ωστόσο το μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών εμφανίζει επιδείνωση των συμπτωμάτων τους και εξέλιξη σε Νόσο Αλτσχάιμερ (Gauthier et al., 2006).

Τα νευροϊνίδια έχουν προταθεί ως ένα πιθανό χρήσιμο εργαλείο για τη διαφοροδιάγνωση και την πρόγνωση των ασθενών με Νόσο Ατσχάιμερ (deWolf et al., 2020; Clark et al., 2021; Cullen et al., 2021; Darmanthe et al., 2021). Έχει βρεθεί πως τα επίπεδα των NfL στο αίμα, ορό (Yuan and Nixon, 2021) ή πλάσμα (Benedet et al., 2020; Clark et al., 2021; Zerr et al., 2021) αντικατοπτρίζουν την έκταση της εκφύλισης των νευρώνων του ΚΝΣ. Αυτό το εύρημα δεν είναι ειδικό για την Νόσο Αλτσχάιμερ, ωστόσο η ποσότητα των NfL που ανιχνεύεται στο αίμα μπορεί πιθανόν να συμβάλλει στη διαφορική διάγνωση της Νόσου Αλτσχάιμερ από άλλες παθήσεις με παρόμοια συμπτωματολογία, όπως την Ήπια Γνωστική Διαταραχή και την άνοια με σωματία Lewis (Lin et al., 2018; Ashton et al., 2021; Darmanthe et al., 2021).

**Πίνακας 3.** Ενδεικτικές τιμές NfL στο αίμα (πλάσμα) ασθενών με Ήπια Γνωστική Έκπτωση, Νόσο Αλτσχάιμερ και αντίστοιχες ομάδες ελέγχου. Η ανάλυση έγινε με τη μέθοδο SIMOA.

Πάθηση	Ηλικία (MO σε έτη)	Επίπεδα NfL (pg/mL±SD)	Αίμα	Μελέτη
Ομάδα ελέγχου	77	17,8 ± 6,4		
Ήπια Γνωστική Διαταραχή	76	20 ± 7,3	Πλάσμα	Lin et al., 2018
Αλτσχάιμερ	77,3	32,9 ± 25,5		

Οι ασθενείς που πάσχουν από Νόσο Αλτσχάιμερ παρουσιάζουν υψηλότερα επίπεδα NfL (Lin et al., 2018; Ashton et al., 2021; Darmanthe et al., 2021) σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (Πίνακας 3). Τα υψηλά επίπεδα NfL στο αίμα έχουν συσχετιστεί θετικά με χαμηλότερες βαθμολογίες στο MMSE (Mini-Mental State Examination), ένα νευροψυχολογικό εργαλείο εκτίμησης της γνωστικής λειτουργίας του ασθενή (Lin et al., 2018). Από την μελέτη των Darmanthe και συν. (2021) φαίνεται ότι με βάση τα επίπεδα των NfL στο πλάσμα μπορεί να προβλεφθεί η εξέλιξη της Ήπιας Γνωστικής Διαταραχής σε Νόσο Αλτσχάιμερ τουλάχιστον σε δύο έτη και η πρόβλεψη επεκτείνεται στα 5 έτη όταν οι ερευνητές συμπεριέλαβαν και τη χρήση του MMSE. Ένα ενδιαφέρον εύρημα είναι πως τα επίπεδα των NfL στο αίμα ήταν σημαντικά

υψηλότερα στους ασθενείς με την μετάλλαξη APOE4 (Mattsson et al., 2017) ακόμη και όταν δεν παρουσίαζαν κάποια γνωστική έκπτωση (Benedet et al., 2020).

## ***4.2. Νόσος Πάρκινσον, άτυπα παρκινσονικά σύνδρομα και νόσος Πάρκινσον με άνοια***

Η Νόσος Πάρκινσον είναι μία πάθηση των βασικών γαγγλίων που χαρακτηρίζεται από την εκφύλιση των ντοπαμινεργικών νευρώνων (Sampedro et al., 2020; Aloizou et al., 2020b; Dardiotis et al., 2020). Συχνά εμφανίζεται σε ηλικίες άνω των 65 ετών (Hughes et al., 2002). Η νευροεκφύλιση θεωρείται πως προκαλείται από την εναπόθεση της  $\alpha$ -συνουκλεΐνης (Sampedro et al., 2020). Η νόσος χαρακτηρίζεται κυρίως από κινητικές διαταραχές, αλλά συχνά παρουσιάζονται παράλληλες γνωστικές διαταραχές οι οποίες μπορούν να εξελιχθούν σε άνοια με σωματία Lewis (ή διαφορετικά αποκαλούμενη, Νόσο Πάρκινσον με άνοια) (Sampedro et al., 2020).

Στα αρχικά στάδια της νόσου, τα συμπτώματά της είναι συχνά παρόμοια με αυτά άλλων νευροεκφυλιστικών ή εξωπυραμιδικών παθήσεων, ιδιαίτερα με αυτά της ατροφίας πολλαπλών συστημάτων (Multiple System Atrophy - MSA) και της προϊούσας υπερπυρηνικής παράλυσης (Progressive Supranuclear Palsy - PSP) (Akhtar and Mano, 2019; Marques et al., 2019; Lin et al., 2019). Η MSA και η PSP ανήκουν στη κατηγορία των άτυπων παρκινσονικών συνδρόμων και ενώ στην αρχή παρουσιάζουν μία παρόμοια κλινική εικόνα με τη Νόσο Πάρκινσον, η έκβασή τους είναι πολύ πιο επιθετική (Hughes et al., 2002; Akhtar and Mano, 2019; Marques et al., 2019). Η επιθετικότητα των MSA και PSP κάνει κρίσιμη την έναρξη της σωστής θεραπείας όσο το δυνατόν νωρίτερα για την αποφυγή της επιδείνωσης των συμπτωμάτων (Akhtar and Mano, 2019), ωστόσο η σωστή διάγνωση συχνά καθυστερεί (Hughes et al., 2002). Η αντίδραση των ασθενών στη φαρμακευτική αγωγή με λεβοντόπα, που βελτιώνει τα συμπτώματα της νόσου Πάρκινσον, χρησιμοποιείται πολλές φορές στη διαφορική διάγνωση των εξωπυραμιδικών συνδρόμων, όμως ο χρόνος που απαιτείται στην περίπτωση αυτή είναι συχνά κρίσιμος (Hughes et al., 2002).

Η μέτρηση των επιπέδων NfL θα μπορούσε να είναι ένα γρήγορο και αποτελεσματικό εργαλείο στη διάκριση ανάμεσα στη νόσο Πάρκινσον και των δύο άτυπων παρκινσονικών συνδρόμων. Σε αντίθεση με τις PSP και MSA, οι ασθενείς με Νόσο Πάρκινσον δεν

παρουσιάζουν ιδιαίτερα υψηλές τιμές των NfL (Marques et al., 2019; Ashton et al., 2021), οι οποίες συχνά είναι συγκρίσιμες με τις τιμές της ομάδας ελέγχου ίδιας ηλικίας (Marques et al., 2019). Σε αντίθεση, οι τιμές των NfL σε ασθενείς με MSA και PSP είναι σημαντικά αυξημένες ακόμη και στα αρχικά στάδια των νόσων (Marques et al., 2019; Barro et al., 2020; Ashton et al., 2021) (**Πίνακας 4**).

**Πίνακας 4.** Ενδεικτικές τιμές των NfL στο αίμα ασθενών με Νόσο Πάρκινσον, άτυπα παρκινσονικά σύνδρομα και Νόσο Πάρκινσον με άνοια και τις ομάδες ελέγχου για σύγκριση. Η ανίχνευση έγινε με την τεχνική SIMOA.

Πάθηση	Ηλικία (MO±SD σε έτη)	Επίπεδα NfL (pg/mL±SD)	Αίμα	Μελέτη
Ομάδα ελέγχου Πάρκινσον με άνοια	64.7 ± 5.1 69.8 ± 8.3	9.2 ± 3.4 46.8 ± 37.1	Πλάσμα	Zerr et al., 2021
Ομάδα ελέγχου Πάρκινσον MSA PSP	57,5 ± 3,8 57 ± 10 60,7 ± 7,1 68.9 ± 4.1	11,5 ± 6,5 10,4 ± 4,9 22.2 ± 11 25.6 ± 8.4	Ορός	Marques et al., 2019
Ομάδα ελέγχου Πάρκινσον Πάρκινσον με άνοια	77 69,6 76,3	17,8 ± 6,4 15,4 ± 9,9 23,3 ± 10,8	Πλάσμα	Lin et al., 2018
Ομάδα ελέγχου Πάρκινσον με άνοια (πριν την εμφάνιση συμπτωμάτων άνοιας) Πάρκινσον με άνοια	73,3 ± 7,6 77,2 ± 4,8 77,7 ± 5,8	25,7 ± 10, 5 46,9 ± 23,2 55,3 ± 20,9	Πλάσμα	Pilotto et al., 2021

Εκτός από την χρήση τους για τη διάκριση ανάμεσα της Νόσου Πάρκινσον και των άτυπων παρκινσονικών συνδρόμων, τα επίπεδα των NfL έχουν βρεθεί πως μπορούν να συμβάλλουν στη διαφορική διάγνωση της Νόσου Πάρκινσον από άλλες παθήσεις με παρόμοια κλινική εικόνα, όπως την άνοια με σωματία Lewis. Η άνοια με σωματία Lewis χαρακτηρίζεται από την επιπρόσθετη παρουσία γνωστικών, συμπεριφορικών και ψυχιατρικών διαταραχών (McKeith et al., 2020; Sampedro et al., 2020; Pilotto et al., 2021). Η άνοια με σωματία Lewis συχνά εμφανίζει παρόμοια κλινική εικόνα με τη Νόσο Πάρκινσον ως και 15 έτη πριν την εμφάνιση των άλλων συμπτωμάτων (McKeith et al., 2020). Τα επίπεδα των NfL στο αίμα είναι σημαντικά αυξημένα στους ασθενείς που παρουσιάζουν άνοια, συγκριτικά με τους υπόλοιπους ασθενείς (Lin et al., 2018; Sampedro et al., 2020). Περαιτέρω, μπορούν να προβλέψουν την επιδείνωση της γνωστικής κατάστασης των ασθενών ως και δύο χρόνια πριν την εμφάνιση της

(Pilotto et al., 2021). Μέχρι στιγμής, δεν υπάρχει κάποια μελέτη η οποία να συγκρίνει ευθέως τα επίπεδα των NfL στους ασθενείς με άτυπα παρκινσονικά σύνδρομα και άνοια με σωματία Lewis ωστόσο από τα επίπεδα που καταγράφονται στον Πίνακα 4, θεωρητικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην διάκριση μεταξύ αυτών των συνδρόμων.

### **4.3. Αγγειακά Εγκεφαλικά Επεισόδια**

Τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια (ΑΕΕ) διακρίνονται σε αιμορραγικά και ισχαιμικά, αναλόγως του είδους της βλάβης (Pekny et al., 2021). Πολλοί από τους ασθενείς μπορούν να υποστούν δευτερεύουσες νευροεκφυλιστικές αλλοιώσεις και στην περίπτωση αυτή παρουσιάζουν χειρότερη πρόγνωση (Pekny et al., 2021).

Η μέτρηση των NfL έχει προταθεί ως εργαλείο παρακολούθησης των ασθενών με ΑΕΕ (Pekny et al., 2021; Stokowska et al., 2021). Οι ημέρες μετά από ένα ισχαιμικό ή αιμορραγικό εγκεφαλικό επεισόδιο χαρακτηρίζονται από μία σταδιακή αύξηση των επιπέδων των NfL στο αίμα (Pekny et al., 2021; Stokowska et al., 2021). Τα επίπεδα που παρατηρούνται τις πρώτες 48 ώρες, δηλαδή στην οξεία φάση, συχνά αντικατοπτρίζουν μία φτωχότερη λειτουργικότητα του ασθενή καθώς τα επίπεδα των NfL έχουν βρεθεί να σχετίζονται με τον βαθμό της βλάβης (Gendron et al., 2020). Συγκεκριμένα, τα επίπεδα των NfL στο αίμα συσχετίζονται με την έκταση της ισχαιμικής βλάβης σε ασθενείς με ισχαιμικό ΑΕΕ (Tiedt et al., 2018) όπως και με την σοβαρότητα και τον όγκο της αιμορραγίας στους ασθενείς με αιμορραγικό ΑΕΕ (Gendron et al., 2020). Τα επίπεδα των NfL στο αίμα είχαν επίσης ισχυρή συσχέτιση με αυξημένο κίνδυνο θανάτου μετά από ΑΕΕ (Gendron et al., 2020).

Μία ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα μελέτη ωστόσο έδειξε πως όταν ο ασθενής περάσει στην χρόνια φάση του ΑΕΕ, τα υψηλότερα επίπεδα NfL στο αίμα αντικατοπτρίζουν την καλύτερη λειτουργική έκβαση του ασθενή (Stokowska et al., 2021) και όχι περαιτέρω βλάβη. Αυτή η τάση έχει προταθεί πως μπορεί να αντικατοπτρίζει μία διαδικασία νευροπλαστικότητας και όχι νευροεκφύλισης (Gafson et al., 2020; Pekny et al., 2021; Stokowska et al., 2021), ωστόσο αυτή η σχέση δεν έχει αποδειχθεί πειραματικά.

#### **4.4. Κρανιοεγκεφαλική Κάκωση**

Η Κρανιοεγκεφαλική Κάκωση (ΚΕΚ) είναι συχνά αποτέλεσμα τροχαίου ατυχήματος ή αθλήματος επαφής, όπου οι συγκρούσεις είναι συνηθισμένο φαινόμενο. Αναλόγως της βαθμολογίας, με βάση την Κλίμακα Κώματος Γλασκόβης, μπορεί να κατηγοριοποιηθεί ως σοβαρή, μέτρια ή ελαφρά (Shahim et al., 2020). Κάθε περιστατικό ΚΕΚ μπορεί να αυξήσει σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης κάποιας νευροεκφυλιστικής νόσου στο μέλλον, όπως Νόσο Αλχάιμερ (Ramos-Cejudo et al., 2018) ή Νόσο Πάρκινσον (Joyce et al., 2019) καθώς και Χρόνια Τραυματική Εγκεφαλοπάθεια (Chronic Traumatic Encephalopathy – CTE) (Goldstein et al., 2012).

Τα επίπεδα των NfL έχουν συσχετιστεί με την έκταση της βλάβης της λευκής ουσίας και μπορούν να διαφοροποιήσουν τις ελαφρές από τις μέτριες και σοβαρές τραυματικές εγκεφαλικές βλάβες (Shahim et al., 20). Παρόμοια με τα ΑΕΕ, τα επίπεδα των NfL σε περιπτώσεις ΚΕΚ, παρουσιάζουν χρονοκαθυστέρηση στην αύξησή τους και εν συνέχεια αυξάνονται σταδιακά, φτάνοντας σε μία μέγιστη τιμή έως και 10 ημέρες μετά από την βλάβη (Gao et al., 2020). Ωστόσο, έχει βρεθεί πως τα επίπεδα των NfL που παρατηρούνται στις πρώτες 24 ώρες μετά το τραύμα μπορούν να προβλέψουν με μεγάλη ακρίβεια τον βαθμό δυσλειτουργίας που θα παρουσιάσει ο ασθενής ως και ένα έτος μετά (Shahim et al., 2016). Περαιτέρω, τα επίπεδα των NfL στον ορό παραμένουν υψηλότερα από ότι τα επίπεδα της ομάδας ελέγχου ως και 5 έτη μετά την κάκωση (Shahim et al., 2020). Η χρήση τους θα μπορούσε να είναι χρήσιμη ως ένας γρήγορος και αξιόπιστος δείκτης για την ανίχνευση νευροεκφύλισης στους ασθενείς έπειτα από ΚΕΚ καθώς και την πρόβλεψη της μακροχρόνιας εξέλιξης της κατάστασης τους (Shahim et al., 2020).

#### **4.5. Σκλήρυνση κατά πλάκας**

Η Σκλήρυνση κατά Πλάκας (ΣΠ) είναι μία χρόνια νόσος όπου το ανοσοποιητικό σύστημα επιτίθεται στα ολιγοδενδροκύτταρα του ΚΝΣ οδηγώντας στην απομυελίνωση των αξόνων και την μετέπειτα εκφύλιση τους (Bjornevik et al., 2020; Gafson et al., 2020). Η κλινική εικόνα της ΣΠ κυμαίνεται από σύντομα επεισόδια μεταξύ των οποίων ο ασθενής παραμένει σταθερός (υποτροπιάζουσα μορφή της ΣΠ) ως και μία ταχύτατη, μη-αναστρέψιμη προοδευτική εκφύλιση

των νευρώνων εντός μερικών μηνών μετά την έναρξη της (προοδευτική μορφή της ΣΠ) (Disanto et al., 2017; Barro et al., 2018; Kuhle et al., 2020).

Η μέτρηση των επιπέδων των NfL έχει προταθεί ως εργαλείο για την πρόγνωση της νόσου (Barro et al., 2018; Bjornevik et al., 2020) και την παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας (Novakova et al., 2017). Τα επίπεδα των NfL στο αίμα έχει βρεθεί πως συσχετίζονται με το μέγεθος της βλάβης, όπως απεικονίζεται στην μαγνητική τομογραφία (Karoor et al., 2020). Αυτό το εύρημα είναι ιδιαίτερα σημαντικό καθώς το μέγεθος της βλάβης τείνει να είναι πολύ μεγαλύτερο από ότι δείχνει η κλινική εικόνα του ασθενή (Karoor et al., 2020) και η νευροαπεικόνιση είναι μια χρονοβόρα και ακριβή διαδικασία (Karoor et al., 2020). Τα επίπεδα των NfL στο αίμα έχουν επίσης βρεθεί να είναι ανεβασμένα ως και έξι έτη πριν την εμφάνιση κάποιου κλινικού συμπτώματος (**Πίνακας 5**) γεγονός που κάνει πιθανή την παρακολούθηση ασθενών από το προκλινικό στάδιο της νόσου (Barro et al., 2021).

**Πίνακας 5.** Ενδεικτικές τιμές των επιπέδων των NfL στο αίμα σε διάφορα στάδια και τύπους της Σκλήρυνσης κατά Πλάκας. Η ανίχνευση έγινε με τη μέθοδο SIMOA.

Πάθηση	Ηλικία (MO±SD σε έτη)	Επίπεδα NfL (pg/mL±SD)	Αίμα	Μελέτη
Ομάδα ελέγχου	27, 1 ± 4,4	10,3 ± 19,99		
Σκλήρυνση κατά πλάκας (προκλινικό στάδιο)	33,5 ± 5	25 ± 6	Ορός	Bjornevik et al., 2020
Σκλήρυνση κατά πλάκας (έναρξη)	34, 5 ± 5	45,1 ± 18,9		
Ομάδα ελέγχου	44, 3 ± 8,1	23,6 ± 7,7		
Σκλήρυνση κατά πλάκας (υποτροπιάζουσα)	32,9 ± 31,7	29,7 ± 13,2	Ορός	Barro et al., 2018
Σκλήρυνση κατά πλάκας (προοδευτική)	32,9 ± 31,7	41,9 ± 11,3		
Ομάδα ελέγχου	28	10,5		
Σκλήρυνση κατά πλάκας (υποτροπιάζουσα)	35	16,9		
Σκλήρυνση κατά πλάκας (υποτροπιάζουσα - θεραπεία)	36	12,1	Ορός	Novakova et al., 2017
Σκλήρυνση κατά πλάκας (προοδευτική)	48	23,6		
Σκλήρυνση κατά πλάκας	49	22,7		

Πιθανότατα το πιο σημαντικό εύρημα να είναι η συσχέτιση των επιπέδων των NfL με την ανταπόκριση του ασθενή στην λήψη ανοσοκατασταλτικής θεραπείας (Bjornevik et al., 2020; Karoor et al., 2020; Kuhle et al., 2020). Έχουν αναπτυχθεί πολλές θεραπείες για την ΣΠ και η επιλογή της κατάλληλης αγωγής για τον κάθε ασθενή αποτελεί συχνά πρόκληση (Delcoigne et al., 2020). Τα επίπεδα των NfL, σύμφωνα με την μελέτη των Novakova και συν. (2017), ήταν χαμηλότερα στους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν θετικά στην θεραπεία που έλαβαν συγκριτικά με τους ασθενείς που δεν είχαν θετική ανταπόκριση (**Πίνακας 5**). Παρόμοια, άλλες μελέτες αναφέρουν επίσης πως όταν ο ασθενής ανταποκρίνεται θετικά στην θεραπεία που λαμβάνει, τα επίπεδα των NfL μειώνονται και σταθεροποιούνται τρεις ως δώδεκα μήνες μετά την έναρξη της αγωγής (Bjornevik et al., 2020; Karoor et al., 2020).

#### **4.6. Αμυοτροφική Πλάγια Σκλήρυνση**

Η Αμυοτροφική Πλάγια Σκλήρυνση (Amyotrophic Lateral Sclerosis – ALS), γνωστή και ως νόσος Lou Gehrig, χαρακτηρίζεται από την εκφύλιση των ανώτερων και κατώτερων κινητικών νευρώνων που οδηγεί σε μυϊκή ατροφία και αργότερα θάνατο (Liu et al., 2004; Hardiman et al., 2017; Gille et al., 2019). Η διάγνωση της νόσου συχνά μπορεί να καθυστερήσει ως και 12 μήνες από την έναρξη των συμπτωμάτων λόγω της ομοιότητας των αρχικών συμπτωμάτων της νόσου με άλλες παθήσεις (Hardiman et al., 2017). Για να εμφανιστεί η χαρακτηριστική κλινική εικόνα της ALS, η νευροεκφύλιση πρέπει να έχει φτάσει σε προχωρημένο βαθμό (Gille et al., 2019). Ο έλεγχος των επιπέδων των NfL θα μπορούσε να είναι ένα εύχρηστο εργαλείο προς τη διαφοροδιάγνωση της νόσου από άλλες παθήσεις του κινητικού νευρώνα (Gille et al., 2019).

Τα επίπεδα των NfL στον ορό των ασθενών έχουν βρεθεί να είναι ως και 6 φορές υψηλότερα στους ασθενείς με ALS σε σχέση με άλλες νευροπάθειες (Gille et al., 2019) (**Πίνακας 6**).

**Πίνακας 6.** Ενδεικτικές τιμές των επιπέδων των NfL στο αίμα σε μορφές της Αμυοτροφικής Πλάγιας Σκλήρυνσης και σε υγιείς ενήλικες αντίστοιχης ηλικίας. Οι μετρήσεις έγιναν με τη μέθοδο SIMOA.

<b>Πάθηση</b>	<b>Ηλικία (MO±SD σε έτη)</b>	<b>Επίπεδα NfL (pg/mL±SD)</b>	<b>Αίμα</b>	<b>Μελέτη</b>
---------------	----------------------------------	-----------------------------------	-------------	---------------

---



Αμυοτροφική Πλάγια Σκλήρυνση (αργή έκβαση νόσου)	62 ± 15,4	112 ± 81,4	Ορός	Gille et al., 2019
Αμυοτροφική Πλάγια Σκλήρυνση (γρήγορη έκβαση νόσου)	62 ± 15,4	255 ± 215		
Ομάδα ελέγχου	66 ± 11	30,2 ± 23,41	Ορός	Brodovitch et al., 2021
Αμυοτροφική Πλάγια Σκλήρυνση	66 ± 12	512,4 ± 417,4		

Έχει βρεθεί επίσης πως τα επίπεδα των NfL και της φωσφορυλιωμένης NfH στον ορό συσχετίζονται με τον βαθμό εκφύλισης του ανώτερου και κατώτερου κινητικού νευρώνα, χωρίς ωστόσο να συσχετίζονται με την κλινική εικόνα της νόσου (Gille et al., 2019). Σε αντίθεση, τα επίπεδα των NfL που ανιχνεύονται στην έναρξη των συμπτωμάτων έχουν φανεί να είναι προγνωστικά ως προς την έκβαση του ασθενή, καθώς και τη θνησιμότητα του στο άμεσο μέλλον (Gille et al., 2019; Brodovitch et al., 2021).

#### **4.7. Charcot-Marie Tooth**

Η νόσος CMT είναι μία χρόνια πάθηση με αργή έκβαση, η οποία χαρακτηρίζεται από κινητική και αισθητική πολυνευροπάθεια. Εμφανίζεται σε άτομα συχνά κάτω των 20 ετών (Yuan et al., 2017) ωστόσο μπορεί να παρουσιαστεί και σε μεγαλύτερες ηλικίες (Rudnik-Schöneborn et al., 2015). Η CMT είναι η πιο συχνή κληρονομική νευροπάθεια και η πιο συχνή νευρομυϊκή πάθηση (Züchner and Vance, 2006). Υπάρχουν πολλές παραλλαγές της νόσου, αναλόγως του είδους της μετάλλαξης, το γονίδιο και τη θέση που φέρει την μετάλλαξη (Timmerman et al., 2014).

Η μετάλλαξη του γονιδίου NEFL οδηγεί είτε στην CMT τύπου 2E είτε τύπου 1F (Yang et al., 2016). Οι CMT τύπου 1 χαρακτηρίζονται από απομυελίνωση ενώ οι CMT τύπου 2 χαρακτηρίζονται από την ενδοκυτταρική συσσώρευση νευροϊνιδίων εντός των κινητικών και αισθητικών νευρών, στο επίπεδο του άξονα (Lancaster et al., 2018). Τα προαναφερόμενα χαρακτηριστικά επιφέρουν την αργή, αλλά προοδευτική εκφύλιση των περιφερικών νευρώνων (Sandelius et al., 2018), χωρίς ωστόσο να επηρεάζεται το ΚΝΣ (Millere et al., 2021). Μέχρι στιγμής δεν υπάρχει κάποια ειδική θεραπεία, παρά μόνο φαρμακευτική υποστήριξη για ορισμένα συμπτώματα, καθώς και ορισμένες πειραματικές γονιδιακές θεραπείες ή θεραπείες σιώπησης ή αντικατάστασης γονιδίων (Stavrou et al., 2021).

Η μέτρηση των NfL στην περίπτωση της CMT μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη διαφορική διάγνωση της CMT από άλλες περιφερικές νευροπάθειες, ιδιαίτερα όταν η έναρξη της νόσου εμφανίζεται σε μεγάλες ηλικίες (Chung et al., 2006). Η αργή πρόοδος της νόσου κρατά τα επίπεδα των NfL σταθερά ακόμη και σε διάστημα ενός έτους (Sandelius et al., 2018). Τα επίπεδα NfL συσχετίζονται με τη βαρύτητα της νόσου (Sandelius et al., 2018).

#### **4.8. Επιληψία**

Η επιληψία χαρακτηρίζεται από την υπερδιεγερσιμότητα των νευρώνων και την εμφάνιση επιληπτικής κρίσης (Seinfeld et al., 2016). Μία επιληπτική κρίση δεν φαίνεται να προκαλεί κάποια βλάβη στον ασθενή (Dingledine et al., 2014) ενώ η επιληπτική κατάσταση (status epilepticus) έχει διάρκεια πάνω από 30 λεπτά και προκαλεί βλάβες στους νευρώνες (Dingledine et al., 2014; Seinfeld et al., 2016).

Η μέτρηση των NfL μπορεί να διαφοροποιήσει μία απλή κρίση από την επιληπτική κατάσταση, καθώς έχει παρατηρηθεί πως τα επίπεδα των NfL στο αίμα αυξάνουν μόνο έπειτα από μία παρατεταμένη επιληπτική κρίση (Nass et al., 2021). Στην περίπτωση ενός επεισοδίου σπασμών, τα επίπεδα NfL, σε συνδυασμό με άλλα κλινικά στοιχεία, όπως ένα αφασικό επεισόδιο, μπορούν να βοηθήσουν τον ιατρό στην εκτίμηση του αν ο ασθενής του χρειάζεται ηλεκτοεγκεφαλογράφημα ώστε να αποκλείσει την επιληπτική κατάσταση (Barro and Zetterberg, 2021).

#### **4.9. Σχιζοφρένεια**

Η Σχιζοφρένεια είναι ψυχιατρική νόσος η οποία όμως χαρακτηρίζεται και από εκφυλίσεις της λευκής ουσίας του εγκεφάλου (Kochunov and Hong, 2014; Rodrigues-Amorim et al., 2020). Παρουσιάζεται σε νεαρές ηλικίες, συχνά κάτω των 30 ετών, ωστόσο υπάρχουν και αναφορές για εμφάνιση της νόσου σε μεγαλύτερες ηλικίες (Maglione et al., 2014). Έχει παρατηρηθεί πως ένας μεγάλος παράγοντας στη Σχιζοφρένεια είναι η φλεγμονή, χωρίς ωστόσο να έχει βρεθεί αν αποτελεί τμήμα της παθοφυσιολογίας της νόσου ή είναι απλά αποτέλεσμα της (Bavato et al., 2021). Ανεξαρτήτως του ρόλου της φλεγμονής στη πάθηση, με τεχνικές νευροαπεικόνισης, παρατηρείται νευροεκφύλιση πολλά χρόνια πριν την έναρξη της νόσου (πρόδρομο στάδιο) (Bavato et al., 2021). Η διάγνωση της νόσου συνήθως γίνεται μετά την εμφάνιση ψυχωσικού

επεισοδίου (Rodrigues-Amorim et al., 2020). Μετά την έναρξη θεραπείας, εφόσον ο ασθενής έχει καλή ανταπόκριση στη θεραπεία με αντιψυχωσικό, παρατηρείται μία δομική σταθερότητα στον εγκέφαλο (Zipursky et al., 2013).

Η μέτρηση των NfL έχει προταθεί ως εργαλείο διαφοροδιάγνωσης και παρακολούθησης της έκβασης της νόσου (Rodrigues-Amorim et al., 2020; Ashton et al., 2021; Bavato et al., 2021). Ακόμη και σε κλινικά σταθερούς ασθενείς, τα επίπεδα των NfL ήταν υψηλότερα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου της μελέτης, αλλά όχι σε σημαντικό βαθμό (Bavato et al., 2021) ενώ άλλες μελέτες δεν αναφέρουν διαφορά στα επίπεδα των NfL ανάμεσα στην ομάδα ελέγχου και τους ασθενείς με σχιζοφρένια (Al Shweiki et al., 2019) (**Πίνακας 7**). Μία μελέτη έδειξε ότι οι ασθενείς που λαμβάνουν θεραπεία με κλοζαπίνη έχουν υψηλότερα επίπεδα NfL σε σύγκριση με τους ασθενείς που λαμβάνουν άλλη αντιψυχωσική αγωγή (Rodrigues-Amorim et al., 2020). Ωστόσο, η μελέτη των Bavato και συν. (2021) δεν έδειξε παρόμοια αποτελέσματα. Η κλοζαπίνη συχνά χορηγείται σε ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται στις υπόλοιπες θεραπείες και συχνά παρουσιάζουν χειρότερη κλινική εικόνα (Rodrigues-Amorim et al., 2020).

Όσο αφορά τη διαφοροδιάγνωση της νόσου, τα επίπεδα των NfL στο αίμα έχουν βρεθεί πως μπορούν να βοηθήσουν στη διαφορική διάγνωση της σχιζοφρένειας από την μετωποκροταφική άνοια (Al Shweiki et al., 2019) (**Πίνακας 7**). Η μετωποκροταφική άνοια χαρακτηρίζεται από την παρουσία συμπεριφορικών και ψυχιατρικών διαταραχών και αργότερα από σοβαρή γνωστική έκπτωση η οποία εξελίσσεται σε άνοια (Cipriani et al., 2020). Η νόσος συχνά εμφανίζεται σε ενήλικες άνω των 45 ετών (Cipriani et al., 2020). Αν και η παθολογία των δύο νόσων διαφέρει σημαντικά, η διαφοροδιάγνωση συχνά είναι δύσκολη στα αρχικά στάδια της νόσου (Cipriani et al., 2020). Όπως παρουσίασαν οι Al Shweiki και συν. (2019), υπήρχε σημαντική διαφορά στα επίπεδα των NfL των ασθενών με σχιζοφρένια και των ασθενών με μετωποκροταφική άνοια αν και υπήρχαν υπήρχαν διαφορές ανάμεσα στις ηλικίες των ασθενών.

**Πίνακας 7.** Ενδεικτικές τιμές των επιπέδων των NfL στο αίμα στη Σχιζοφρένια και τη Μετωποκροταφική Άνοια. Οι αναλύσεις έχουν γίνει με τη μέθοδο SIMOA.

Πάθηση	Ηλικία (MO±SD σε έτη)	Επίπεδα NfL (pg/mL±SD)	Αίμα	Μελέτη
Ομάδα ελέγχου	46,8 ± 10	15,2		
Σχιζοφρένια	41,1 ± 8	11,6	Ορός	Al Shweiki et al., 2021
Μετωποκροταφική άνοια	50,6 ± 4	72,7		

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Συζήτηση

Τα νευροϊνίδια έχουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη, διατήρηση καθώς και τη λειτουργικότητα των νευρώνων του ΚΝΣ και του ΠΝΣ. Η μέτρηση των επιπέδων των NfL στο αίμα μπορεί να φανεί χρήσιμη σε ένα εύρος νευρολογικών και ψυχιατρικών παθήσεων όπου σημειώνεται νευραξονική εκφύλιση. Η διαγνωστική αξία της μέτρησης των επιπέδων των NfL είναι περιορισμένη (Kuhle et al., 2016; Khalil et al., 2018) καθώς η αύξησή τους παρατηρείται μη ειδικά σε περίπτωση νευροεκφύλισης. Ωστόσο, τα επίπεδα των NfL μπορούν να είναι ιδιαίτερα χρήσιμα στη διαφορική διάγνωση ασθενειών που παρουσιάζουν παρόμοια κλινική εικόνα (Pilotto et al., 2021). Επιπρόσθετα, τα επίπεδα των NfL μπορούν να προσδιορίσουν την έκταση και τον βαθμό της νευραξονικής εκφύλισης (Disanto et al., 2017; Gendron et al., 2020; Shahim et al., 2020). Επειδή τα NfL αντικατοπτρίζουν ενεργές εκφυλίσεις νευραξόνων, θα μπορούσε η μέτρηση των επιπέδων τους να ανιχνεύσει ασθενείς που βρίσκονται σε προκλινικό στάδιο μίας νευροεκφυλιστικής νόσου (Shahim et al., 2016; Sandelius et al., 2018; Bjornevik et al., 2020; Brodovitch et al., 2021; Darmanthe et al., 2021; Pekny et al., 2021; Pilotto et al., 2021). Σημαντικό εργαλείο στην κλινική πράξη θα μπορούσε να αποτελέσει ο προσδιορισμός των επιπέδων των NfL για την εκτίμηση της ανταπόκρισης του ασθενή στην θεραπεία (Novakova et al., 2017; Bjornevik et al., 2020; Kapoor et al., 2020; Rodrigues-Amorim et al., 2020). Ο έλεγχος των επιπέδων των NfL θα μπορούσε επίσης να χρησιμοποιηθεί στην ανίχνευση των ασθενών που χρειάζονται στενότερη παρακολούθηση με βάση τον βαθμό νευροεκφύλισης (Li et al., 2018; Akhtar and Mano, 2019; Gendron et al., 2020; Pilotto et al., 2021), περαιτέρω διερεύνησης (Barro and Zetterberg, 2021) ή αλλαγή θεραπείας (Novakova et al., 2017).

Αν και ο προσδιορισμός των επιπέδων των NfL φαίνεται να είναι ένας υποσχόμενος βιοδείκτης νευροεκφύλισης, η εισαγωγή του στην κλινική πράξη απέχει ακόμη, καθώς παρουσιάζει σημαντικά μειονεκτήματα. Ένα είναι η αδυναμία μέχρι στιγμής καθορισμού εύρους φυσιολογικών τιμών, καθώς παρουσιάζονται διακυμάνσεις στις απόλυτες τιμές των επιπέδων των NfL σε διάφορες μετρήσεις, ακόμη και σε εργαστήρια που συνεργάζονται μεταξύ τους και χρησιμοποιούν τις ίδιες τεχνικές μέτρησης (Ashton et al., 2021). Μία πιθανή λύση στο παραπάνω πρόβλημα θα μπορούσε να είναι ο προσδιορισμός των επιπέδων τους σε βάθος χρόνου και η εκτίμηση των μεταβολών στα επίπεδά τους και όχι η χρήση απόλυτων τιμών (Barro et al., 2021).

Ένα δεύτερο σημαντικό πρόβλημα είναι η έλλειψη πλήρους γνώσης για τον τρόπο με τον οποίο τα νευροϊνίδια φτάνουν από τον εγκέφαλο στο αίμα (Einghelhart et al., 2017; Gafson et al., 2020). Επιπρόσθετες μελέτες στο μέλλον θα μπορούσαν ίσως να διαλευκάνουν πλήρως τον τρόπο μετακίνησης των νευροϊνιδίων στο ENY και στο αίμα έτσι ώστε να μπορέσει να αντιστοιχηθεί ο βαθμός της νευροεκφύλισης που παρατηρείται σε νόσο του νευρικού συστήματος με τα επίπεδα των νευροϊνιδίων στο αίμα.

Είναι εξίσου σημαντική επίσης θα είναι η διευκρίνιση του κατά πόσο οι αυξήσεις των επιπέδων των NfL οφείλονται μονάχα σε νευροεκφύλιση ή μπορεί να αντικατοπτρίζουν και άλλες καταστάσεις, όπως για παράδειγμα συναπτική πλαστικότητα (Gafson et al., 2020; Stokowska et al., 2020).

Με τον σωστό συνδυασμό μακροχρόνιας λήψης δειγμάτων και των κλινικών συμπτωμάτων που παρατηρούνται, τα NfL μπορούν να είναι ένα ιδιαίτερα χρήσιμο εργαλείο προς τη διαφορική διάγνωση (Barro et al., 2021), την πρόγνωση νόσου ακόμη και πριν την εμφάνιση συμπτώματος (Khali et al., 2018; deWolf et al., 2020; Zerr et al., 2021) και τη διευκρίνιση της αποτελεσματικότητας μίας θεραπείας (**Πίνακας 8**).

**Πίνακας 8.** Πιθανές χρήσεις της μέτρησης των επιπέδων NfL στο αίμα σε νευρολογικές και ψυχιατρικές παθήσεις.

Πάθηση	Χρήσιμότητα μέτρησης των επιπέδων NfL στο αίμα	Μελέτες
Νόσος Αλτσχάιμερ	Διαφορική Διάγνωση	Benedet et al., 2020 Clark et al., 2021 Zerr et al., 2021
	Πρόγνωση	Darmanthe et al., 2021
Νόσος Πάρκινσον	Διαφορική Διάγνωση	Lin et al., 2018 Marques et al., 2019 Sampedro et al., 2020
	Πρόγνωση	Pilotto et al., 2021
Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο	Πρόγνωση	Pekny et al., 2021 Stokowska et al., 2021
Κρανιοεγκεφαλική Κάκωση	Πρόγνωση	Shahim et al., 2016 Shahim et al., 2020
Σκλήρυνση Κατά Πλάκας	Πρόγνωση	Barro et al., 2018 Bjornevik et al., 2020

	Ανταπόκριση στη Θεραπεία	Novakova et al., 2017 Bjornevik et al., 2020
Αμυοτροφική Πλάγια Σκλήρυνση	Διαφορική Διάγνωση Πρόγνωση	Gille et al., 2019 Gille et al., 2019 Brodovitch et al., 2021
Charcot-Marie Tooth	Διαφορική Διάγνωση	Sandelius et al., 2018
Επιληψία	Διαφορική Διάγνωση (Επεισοδίου)	Barro and Zetterberg, 2021
Σχιζοφρένεια	Διαφορική Διάγνωση	Al Shweiki et al., 2019

Συμπερασματικά, ο προσδιορισμός των επιπέδων των NfL ως βιοδείκτης είναι μη ειδικός, αλλά ευαίσθητος δείκτης νευροεκφύλισης. Ως μη-χρονοβόρος, μη-επεμβατικός και λιγότερο ακριβός τρόπος θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στη διαφορική διάγνωση και στην παρακολούθηση ασθενών με νευρολογικές και ψυχιατρικές παθήσεις. Η καθιέρωση του όμως στην κλινική πράξη απαιτεί περισσότερες μελέτες.

## Βιβλιογραφία

- Ackerley S, Thornhill P, Grierson AJ, Brownlees J, Anderton BH, Leigh PN, Shaw CE, Miller CJ. Neurofilament heavy chain side-arm phosphorylation regulates axonal transport of neurofilaments. *J Cell Biol.* 2003;161:489–495
- Al Shweiki MR, Steinacker P, Oeckl P, Hengerer B, Danek A, Fassbender K, Diehl-Schmid J, Jahn H, Anderl-Straub S, Ludolph AC, Schönfeldt-Lecuona C. Neurofilament light chain as a blood biomarker to differentiate psychiatric disorders from behavioural variant frontotemporal dementia. *Journal of psychiatric research.* 2019 Jun 1;113:137-40.
- Akhtar RS, Mano T. High serum neurofilament light chain predicts a worse fate in early parkinsonism. *Neurology.* 2019 Mar 26;92(13):595-6.
- Aloizou AM, Siokas V, Vogiatzi C, Peristeri E, Docea AO, Petrakis D, Provas A, Folia V, Chalkia C, Vinceti M, Wilks M, Izotov BN, Tsatsakis A, Bogdanos DP, Dardiotis E. Pesticides, cognitive functions and dementia: A review. *Toxicol Lett.* 2020;326:31-51.
- Aloizou AM, Siokas V, Sapouni EM, Sita N, Liampas I, Brotis AG, Rakitskii VN, Burykina TI, Aschner M, Bogdanos DP, Tsatsakis A, Hadjigeorgiou GM, Dardiotis E.

- Parkinson's disease and pesticides: Are microRNAs the missing link? *Sci Total Environ.* 2020;744:140591.
- Angelastro JM, Ho CL, Frappier T, Liem RK, Greene LA. Peripherin is tyrosine-phosphorylated at its carboxyl-terminal tyrosine. *Journal of neurochemistry.* 1998 Feb;70(2):540-9.
- Arancibia-Carcamo IL, Attwell D. The node of Ranvier in CNS pathology. *Acta neuropathologica.* 2014 Aug;128(2):161-75.
- Ashton NJ, Janelidze S, Al Khleifat A, Leuzy A, van der Ende EL, Karikari TK, Benedet AL, Pascoal TA, Lleó A, Parnetti L, Galimberti D. A multicentre validation study of the diagnostic value of plasma neurofilament light. *Nature communications.* 2021 Jun 7;12(1):1-2.
- Barro C, Benkert P, Disanto G, Tsagkas C, Amann M, Naegelin Y, Leppert D, Gobbi C, Granziera C, Yaldizli Ö, Michalak Z. Serum neurofilament as a predictor of disease worsening and brain and spinal cord atrophy in multiple sclerosis. *Brain.* 2018 Aug 1;141(8):2382-91.
- Barro C, Chitnis T, Weiner HL. Blood neurofilament light: a critical review of its application to neurologic disease. *Annals of clinical and translational neurology.* 2020 Dec;7(12):2508-23.
- Barro C, Zetterberg H. Neurological symptoms and blood neurofilament light levels. *Acta Neurologica Scandinavica.* 2021 Jul;144(1):13-20.
- Bavato F, Cathomas F, Klaus F, Gütter K, Barro C, Maceski A, Seifritz E, Kuhle J, Kaiser S, Quednow BB. Altered neuroaxonal integrity in schizophrenia and major depressive disorder assessed with neurofilament light chain in serum. *Journal of psychiatric research.* 2021 Aug 1;140:141-8.
- Bekris LM, Galloway NM, Montine TJ, Schellenberg GD, Yu CE. APOE mRNA and protein expression in postmortem brain are modulated by an extended haplotype structure. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics.* 2010 Mar;153(2):409-17.
- Benedet AL, Leuzy A, Pascoal TA, Ashton NJ, Mathotaarachchi S, Savard M, Therriault J, Kang MS, Chamoun M, Schöll M, Zimmer ER. Stage-specific links between plasma

- neurofilament light and imaging biomarkers of Alzheimer's disease. *Brain*. 2020 Dec;143(12):3793-804.
- Benedict C, Blennow K, Zetterberg H, Cedernaes J. Effects of acute sleep loss on diurnal plasma dynamics of CNS health biomarkers in young men. *Neurology*. 2020 Mar 17;94(11):e1181-9.
- Bjornevik K, Munger KL, Cortese M, Barro C, Healy BC, Niebuhr DW, Scher AI, Kuhle J, Ascherio A. Serum neurofilament light chain levels in patients with presymptomatic multiple sclerosis. *JAMA neurology*. 2020 Jan 1;77(1):58-64.
- Brady ST. A novel brain ATPase with properties expected for the fast axonal transport motor. *Nature* 1985; 317: 73–75.
- Bocquet A, Berges R, Frank R, Robert P, Peterson AC, Eyer J. Neurofilaments bind tubulin and modulate its polymerization. *Journal of Neuroscience*. 2009 Sep 2;29(35):11043-54.
- Brodovitch A, Boucraut J, Delmont E, Parlanti A, Grapperon AM, Attarian S, Verschueren A. Combination of serum and CSF neurofilament-light and neuroinflammatory biomarkers to evaluate ALS. *Scientific reports*. 2021 Jan 12;11(1):1-9.
- Brown A (2000) Slow axonal transport: stop and go traffic in the axon. *Nat Rev Mol Cell Biol* 1: 153-156.
- Burton PR, Wentz MA. Neurofilaments are prominent in bullfrog olfactory axons but are rarely seen in those of the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Journal of Comparative Neurology*. 1992 Mar 22;317(4):396-406.
- Campos-Melo D, Droppelmann CA, He Z, Volkening K, Strong MJ. Altered microRNA expression profile in amyotrophic lateral sclerosis: a role in the regulation of NFL mRNA levels. *Molecular brain*. 2013 Dec;6(1):1-3.
- Caselli RJ, Reiman EM. Characterizing the preclinical stages of Alzheimer's disease and the prospect of presymptomatic intervention. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2013 Jan 1;33(s1):S405-16.
- Chang R, Kwak Y, Gebremichael Y. Structural properties of neurofilament sidearms: sequence-based modeling of neurofilament architecture. *Journal of molecular biology*. 2009 Aug 21;391(3):648-60.



- Chung KW, Kim SB, Park KD, Choi KG, Lee JH, Eun HW, Suh JS, Hwang JH, Kim WK, Seo BC, Kim SH. Early onset severe and late-onset mild Charcot–Marie–Tooth disease with mitofusin 2 (MFN2) mutations. *Brain*. 2006 Aug 1;129(8):2103-18.
- Clark C, Lewczuk P, Kornhuber J, Richiardi J, Maréchal B, Karikari TK, Blennow K, Zetterberg H, Popp J. Plasma neurofilament light and phosphorylated tau 181 as biomarkers of Alzheimer's disease pathology and clinical disease progression. *Alzheimer's Research & Therapy*. 2021 Dec;13(1):1-1.
- Cipriani G, Danti S, Nuti A, Di Fiorino M, Cammisuli DM. Is that schizophrenia or frontotemporal dementia? Supporting clinicians in making the right diagnosis. *Acta Neurologica Belgica*. 2020 Aug;120(4):799-804.
- Cochard P, Paulin D. Initial expression of neurofilaments and vimentin in the central and peripheral nervous system of the mouse embryo in vivo. *Journal of Neuroscience*. 1984 Aug 1;4(8):2080-94.
- Cooper GM. Intermediate Filaments. *The Cell: A Molecular Approach*. 2000.
- Dardiotis E, Aloizou AM, Sakalakis E, Siokas V, Koureas M, Xiromerisiou G, Petinaki E, Wilks M, Tsatsakis A, Hadjichristodoulou C, Stefanis L, Hadjigeorgiou GM. Organochlorine pesticide levels in Greek patients with Parkinson's disease. *Toxicol Rep*. 2020;7:596-601.
- Dardiotis E, Siokas V, Pantazi E, Dardioti M, Rikos D, Xiromerisiou G, Markou A, Papadimitriou D, Speletas M, Hadjigeorgiou GM. A novel mutation in TREM2 gene causing Nasu-Hakola disease and review of the literature. *Neurobiol Aging*. 2017;53:194.e13-.e22.
- de Wolf F, Ghanbari M, Licher S, McRae-McKee K, Gras L, Weverling GJ, Wermeling P, Sedaghat S, Ikram MK, Waziry R, Koudstaal W. Plasma tau, neurofilament light chain and amyloid- $\beta$  levels and risk of dementia; a population-based cohort study. *Brain*. 2020 Apr 1;143(4):1220-32.
- Delcoigne B, Manouchehrinia A, Barro C, Benkert P, Michalak Z, Kappos L, Leppert D, Tsai JA, Plavina T, Kieseier BC, Lycke J. Blood neurofilament light levels segregate treatment effects in multiple sclerosis. *Neurology*. 2020 Mar 17;94(11):e1201-12.

- Disanto G, Barro C, Benkert P, Naegelin Y, Schädelin S, Giardiello A, Zecca C, Blennow K, Zetterberg H, Leppert D, Kappos L. Serum neurofilament light: a biomarker of neuronal damage in multiple sclerosis. *Annals of neurology*. 2017 Jun;81(6):857-70.**
- Dingledine R, Varvel NH, Dudek FE. When and how do seizures kill neurons, and is cell death relevant to epileptogenesis?. *Issues in clinical epileptology: a view from the bench*. 2014:109-22.**
- Engelhardt B, Vajkoczy P, Weller RO. The movers and shapers in immune privilege of the CNS. *Nature immunology*. 2017 Feb;18(2):123-31.**
- Findlater J. Peripherin-28 as a biomarker of ALS: A methodological study. University of Toronto (Canada); 2010.**
- Gafson AR, Barthélemy NR, Bomont P, Carare RO, Durham HD, Julien JP, Kuhle J, Leppert D, Nixon RA, Weller RO, Zetterberg H. Neurofilaments: neurobiological foundations for biomarker applications. *Brain*. 2020 Jul 1;143(7):1975-98.**
- Gao W, Zhang Z, Lv X, Wu Q, Yan J, Mao G, Xing W. Neurofilament light chain level in traumatic brain injury: a system review and meta-analysis. *Medicine*. 2020 Sep 18;99(38).**
- Gauthier S, Reisberg B, Zaudig M, Petersen RC, Ritchie K, Broich K, Belleville S, Brodaty H, Bennett D, Chertkow H, Cummings JL. Mild cognitive impairment. *The lancet*. 2006 Apr 15;367(9518):1262-70.**
- Gendron TF, Badi MK, Heckman MG, Jansen-West KR, Vilanilam GK, Johnson PW, Burch AR, Walton RL, Ross OA, Brott TG, Miller TM. Plasma neurofilament light predicts mortality in patients with stroke. *Science translational medicine*. 2020 Nov 11;12(569):eaay1913.**
- Giasson BI, Mushynski WE. Intermediate filament disassembly in cultured dorsal root ganglion neurons is associated with amino-terminal head domain phosphorylation of specific subunits. *Journal of neurochemistry*. 1998 May;70(5):1869-75.**
- Gille B, De Schaepdryver M, Goossens J, Dedeene L, De Vocht J, Oldoni E, Goris A, Van Den Bosch L, Depreitere B, Claeys KG, Tournoy J. Serum neurofilament light chain levels as a marker of upper motor neuron degeneration in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neuropathology and applied neurobiology*. 2019 Apr;45(3):291-304.**

- Geisler N, Vandekerckhove J, Weber K. Location and sequence characterization of the major phosphorylation sites of the high molecular mass neurofilament proteins M and H. *FEBS Lett.* 1987;221:403–407.
- Gisslén M, Price RW, Andreasson U, Norgren N, Nilsson S, Hagberg L, Fuchs D, Spudich S, Blennow K, Zetterberg H. Plasma concentration of the neurofilament light protein (NFL) is a biomarker of CNS injury in HIV infection: a cross-sectional study. *EBioMedicine.* 2016 Jan 1;3:135-40.
- Graham NS, Zimmerman KA, Moro F, Heslegrave A, Maillard SA, Bernini A, Miroz JP, Donat CK, Lopez MY, Bourke N, Jolly AE. Axonal marker neurofilament light predicts long-term outcomes and progressive neurodegeneration after traumatic brain injury. *Science translational medicine.* 2021 Sep 29;13(613):eabg9922.
- Guillaud L, El-Agamy SE, Otsuki M, Terenzio M. Anterograde axonal transport in neuronal homeostasis and disease. *Frontiers in Molecular Neuroscience.* 2020:179.
- Hansson O, Janelidze S, Hall S, Magdalinou N, Lees AJ, Andreasson U, Norgren N, Linder J, Forsgren L, Constantinescu R, Zetterberg H. Blood-based NfL: a biomarker for differential diagnosis of parkinsonian disorder. *Neurology.* 2017 Mar 7;88(10):930-7.
- Herrmann H, Aebi U. Intermediate filaments: structure and assembly. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology.* 2016 Nov 1;8(11):a018242.
- Hirokawa N, Glicksman MA, Willard MB. Organization of mammalian neurofilament polypeptides within the neuronal cytoskeleton. *J Cell Biol.* 1984;98:1523–1536.
- Hisanaga SI, Hirokawa N. Molecular architecture of the neurofilament: II. Reassembly process of neurofilament L protein in vitro. *Journal of molecular biology.* 1990 Feb 20;211(4):871-82.
- Hollander BA, Bennett GS, Shaw G. Localization of sites in the tail domain of the middle molecular mass neurofilament subunit phosphorylated by a neurofilament-associated kinase and by casein kinase I. *J Neurochem.* 1996;66:412–420.
- Horga A, Laurà M, Jaunmuktane Z, Jerath NU, Gonzalez MA, Polke JM, Poh R, Blake JC, Liu YT, Wiethoff S, Bettencourt C. Genetic and clinical characteristics of NEFL-related Charcot-Marie-Tooth disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry.* 2017 Jul 1;88(7):575-85.

- Hsieh ST, Kidd GJ, Crawford TO, Xu Z, Lin WM, Trapp BD, Cleveland DW, Griffin JW. Regional modulation of neurofilament organization by myelination in normal axons. Journal of Neuroscience. 1994 Nov 1;14(11):6392-401.**
- Hughes AJ, Daniel SE, Ben-Shlomo Y, Lees AJ. The accuracy of diagnosis of parkinsonian syndromes in a specialist movement disorder service. Brain. 2002 Apr 1;125(4):861-70.**
- Hviid CV, Knudsen CS, Parkner T. Reference interval and preanalytical properties of serum neurofilament light chain in Scandinavian adults. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. 2020 Jul 1;80(4):291-5.**
- Jacquier A, Delorme C, Belotti E, Juntas-Morales R, Solé G, Dubourg O, Giroux M, Maurage CA, Castellani V, Rebelo A, Abrams A. Cryptic amyloidogenic elements in mutant NEFH causing Charcot-Marie-Tooth 2 trigger aggresome formation and neuronal death. Acta neuropathologica communications. 2017 Dec;5(1):1-5.**
- Jaffe H, Veeranna, Shetty KT, Pant HC. Characterization of the phosphorylation sites of human high molecular weight neurofilament protein by electrospray ionization tandem mass spectrometry and database searching. Biochemistry. 1998;37:3931–3940.**
- Kalm M, Boström M, Sandelius Å, Eriksson Y, Ek CJ, Blennow K, Björk-Eriksson T, Zetterberg H. Serum concentrations of the axonal injury marker neurofilament light protein are not influenced by blood-brain barrier permeability. Brain research. 2017 Aug 1;1668:12-9.**
- Kapoor R, Smith KE, Allegretta M, Arnold DL, Carroll W, Comabella M, Furlan R, Harp C, Kuhle J, Leppert D, Plavina T. Serum neurofilament light as a biomarker in progressive multiple sclerosis. Neurology. 2020 Sep 8;95(10):436-44.**
- Kesavpanny S, Quarles RH, Pant HC. Intermediate filaments: phosphorylation and signal transduction. In: Paramio J, editor. Intermediate Filaments 2006, Landes Bioscience and Springer Science. 2006. pp. 52–73.**
- Khalil M, Teunissen CE, Otto M, Piehl F, Sormani MP, Gattringer T, Barro C, Kappos L, Comabella M, Fazekas F, Petzold A. Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders. Nature Reviews Neurology. 2018 Oct;14(10):577-89.**

- Khalil M, Pirpamer L, Hofer E, Voortman MM, Barro C, Leppert D, Benkert P, Ropele S, Enzinger C, Fazekas F, Schmidt R. Serum neurofilament light levels in normal aging and their association with morphologic brain changes. Nature communications. 2020 Feb 10;11(1):1-9.**
- Kosmidis MH, Vlachos GS, Anastasiou CA, Yannakoulia M, Dardiotis E, Hadjigeorgiou G, Sakka P, Ntanasi E, Scarmeas N. Dementia Prevalence in Greece: The Hellenic Longitudinal Investigation of Aging and Diet (HELIAD). Alzheimer Dis Assoc Disord. 2018;32(3):232-9.**
- Kuhle J, Plattner K, Bestwick JP, Lindberg RL, Ramagopalan SV, Norgren N, Nissim A, Malaspina A, Leppert D, Giovannoni G, Kappos L. A comparative study of CSF neurofilament light and heavy chain protein in MS. Multiple Sclerosis Journal. 2013 Oct;19(12):1597-603.**
- Kuhle J, Barro C, Andreasson U, Derfuss T, Lindberg R, Sandelius Å, Liman V, Norgren N, Blennow K, Zetterberg H. Comparison of three analytical platforms for quantification of the neurofilament light chain in blood samples: ELISA, electrochemiluminescence immunoassay and Simoa. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). 2016 Oct 1;54(10):1655-61.**
- Kuhle J, Plavina T, Barro C, Disanto G, Sangurdekar D, Singh CM, de Moor C, Engle B, Kieseier BC, Fisher E, Kappos L. Neurofilament light levels are associated with long-term outcomes in multiple sclerosis. Multiple Sclerosis Journal. 2020 Nov;26(13):1691-9.**
- Lambertsen KL, Soares CB, Gaist D, Nielsen HH. Neurofilaments: the C-reactive protein of neurology. Brain sciences. 2020 Jan;10(1):56.**
- Lancaster E, Li J, Hanania T, Liem R, Scheideler MA, Scherer SS. Myelinated axons fail to develop properly in a genetically authentic mouse model of Charcot-Marie-Tooth disease type 2E. Experimental Neurology. 2018 Oct 1;308:13-25.**
- Lendahl U, Zimmerman LB, McKay RD. CNS stem cells express a new class of intermediate filament protein. Cell. 1990 Feb 23;60(4):585-95.**
- Li Y, Jung P, Brown A. Axonal transport of neurofilaments: a single population of intermittently moving polymers. Journal of Neuroscience. 2012 Jan 11;32(2):746-58.**

- Liu Q, Xie F, Siedlak SL, Nunomura A, Honda K, Moreira PI, Zhua X, Smith MA, Perry G. Neurofilament proteins in neurodegenerative diseases. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*. 2004 Dec;61(24):3057-75.
- Liu B, Tang LH, Liu Z, Mei M, Yu R, Dhall D, Qiao XW, Zhang TP, Zhao YP, Liu TH, Xiao Y.  $\alpha$ -Internexin: a novel biomarker for pancreatic neuroendocrine tumor aggressiveness. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2014 May 1;99(5):E786-95.
- Lobsieger, C.S., and Cleaveland, D.W. (2009). Neurofilaments: Organization and Function in Neurons. *Encyclopedia of Neuroscience*, 6, 433-436
- Maday S, Twelvetrees AE, Moughamian AJ, Holzbaur EL. Axonal transport: cargo-specific mechanisms of motility and regulation. *Neuron*. 2014 Oct 22;84(2):292-309.
- Maglione JE, Thomas SE, Jeste DV. Late-onset schizophrenia: do recent studies support categorizing LOS as a subtype of schizophrenia?. *Current opinion in psychiatry*. 2014 May;27(3):173.
- Manouchehrinia A, Piehl F, Hillert J, Kuhle J, Alfredsson L, Olsson T, Kockum I. Confounding effect of blood volume and body mass index on blood neurofilament light chain levels. *Annals of Clinical and Translational Neurology*. 2020 Jan;7(1):139-43.
- Mattsson N, Andreasson U, Zetterberg H, Blennow K, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Association of plasma neurofilament light with neurodegeneration in patients with Alzheimer disease. *JAMA neurology*. 2017 May 1;74(5):557-66.
- Marques TM, van Rumund A, Oeckl P, Kuiperij HB, Esselink RA, Bloem BR, Otto M, Verbeek MM. Serum NFL discriminates Parkinson disease from atypical parkinsonisms. *Neurology*. 2019 Mar 26;92(13):e1479-86.
- McKeith IG, Ferman TJ, Thomas AJ, Blanc F, Boeve BF, Fujishiro H, Kantarci K, Muscio C, O'Brien JT, Postuma RB, Aarsland D. Research criteria for the diagnosis of prodromal dementia with Lewy bodies. *Neurology*. 2020 Apr 28;94(17):743-55.
- Millecamps S, Gowing G, Corti O, Mallet J, Julien JP. Conditional NF-L transgene expression in mice for in vivo analysis of turnover and transport rate of neurofilaments. *Journal of Neuroscience*. 2007 May 2;27(18):4947-56.

- Millere E, Rots D, Simrén J, Ashton NJ, Kupats E, Micule I, Priedite V, Kurjane N, Blennow K, Gailite L, Zetterberg H. Plasma neurofilament light chain as a potential biomarker in Charcot-Marie-Tooth disease. *European Journal of Neurology*. 2021 Mar;28(3):974-81.
- Nakamura Y, Hashimoto R, Kashiwagi Y, Wada Y, Sakoda S, Miyamae Y, Kudo T, Takeda M. Casein kinase II is responsible for phosphorylation of NF-L at Ser-473. *FEBS Lett*. 1999;455:83–86.
- Nixon RA, Logvinenko KB. Multiple fates of newly synthesized neurofilament proteins: evidence for a stationary neurofilament network distributed nonuniformly along axons of retinal ganglion cell neurons. *The Journal of cell biology*. 1986 Feb;102(2):647-59.
- Nixon RA, Sihag RK. Neurofilament phosphorylation: A new look at regulation and function. *Trends Neurosci*. 1991;14:501–506.
- Nixon, RA, & Shea, TB. Dynamics of neuronal intermediate filaments: a developmental perspective. *Cell motility and the cytoskeleton*. 1992;22(2): 81–91.
- Nixon RA. The regulation of neurofilament protein dynamics by phosphorylation: clues to neurofibrillary pathology. *Brain Pathol*. 1993;3:29–38.
- Nousia A, Siokas V, Aretouli E, Messinis L, Aloizou AM, Martzoukou M, Karala M, Koumpoulis C, Nasios G, Dardiotis E. Beneficial Effect of Multidomain Cognitive Training on the Neuropsychological Performance of Patients with Early-Stage Alzheimer's Disease. *Neural Plast*. 2018;2018:2845176.
- Novakova L, Zetterberg H, Sundström P, Axelsson M, Khademi M, Gunnarsson M, Malmeström C, Svenningsson A, Olsson T, Piehl F, Blennow K. Monitoring disease activity in multiple sclerosis using serum neurofilament light protein. *Neurology*. 2017 Nov 28;89(22):2230-7.
- Palmqvist S, Janelidze S, Quiroz YT, Zetterberg H, Lopera F, Stomrud E, Su YI, Chen Y, Serrano GE, Leuzy A, Mattsson-Carlgrén N. Discriminative accuracy of plasma phospho-tau217 for Alzheimer disease vs other neurodegenerative disorders. *Jama*. 2020 Aug 25;324(8):772-81.
- Pekny M, Wilhelmsson U, Stokowska A, Tatlisumak T, Jood K, Pekna M. Neurofilament Light Chain (NfL) in Blood—A Biomarker Predicting Unfavourable Outcome in the

- Acute Phase and Improvement in the Late Phase after Stroke. Cells. 2021 Jun;10(6):1537.**
- Perrone Capano C, Pernas-Alonso R, di Porzio U. Neurofilament homeostasis and motoneurone degeneration. Bioessays. 2001 Jan;23(1):24-33.**
- Pilotto A, Imarisio A, Carrarini C, Russo M, Masciocchi S, Gipponi S, Cottini E, Aarsland D, Zetterberg H, Ashton NJ, Hye A. Plasma Neurofilament Light Chain predicts cognitive progression in prodromal and clinical dementia with Lewy Bodies. Journal of Alzheimer's Disease. 2021 Jan 1;82(3):913-9.**
- Rao MV, Campbell J, Yuan A, Kumar A, Gotow T, Uchiyama Y, Nixon RA. The neurofilament middle molecular mass subunit carboxyl-terminal tail domains is essential for the radial growth and cytoskeletal architecture of axons but not for regulating neurofilament transport rate. The Journal of cell biology. 2003 Dec 8;163(5):1021-31.**
- Rebelo AP, Abrams AJ, Cottenie E, Horga A, Gonzalez M, Bis DM, Sanchez-Mejias A, Pinto M, Buglo E, Markel K, Prince J. Cryptic Amyloidogenic elements in the 3' UTRs of Neurofilament genes trigger axonal neuropathy. The American Journal of Human Genetics. 2016 Apr 7;98(4):597-614.**
- Rissin DM, Kan CW, Campbell TG, Howes SC, Fournier DR, Song L, Piech T, Patel PP, Chang L, Rivnak AJ, Ferrell EP. Single-molecule enzyme-linked immunosorbent assay detects serum proteins at subfemtomolar concentrations. Nature biotechnology. 2010 Jun;28(6):595-9.**
- Roots BI. Neurofilament accumulation induced in synapses by leupeptin. Science. 1983 Sep 2;221(4614):971-2.**
- Rosengren LE, Karlsson JE, Karlsson JO, Persson LI, Wikkelso C. Patients with amyotrophic lateral sclerosis and other neurodegenerative diseases have increased levels of neurofilament protein in CSF. Journal of neurochemistry. 1996 Nov;67(5):2013-8.**
- Roy S. Seeing the unseen: the hidden world of slow axonal transport. The Neuroscientist. 2014 Feb;20(1):71-81.**



- Rübsamen N, Maceski A, Leppert D, Benkert P, Kuhle J, Wiendl H, Peters A, Karch A, Berger K. Serum neurofilament light and tau as prognostic markers for all-cause mortality in the elderly general population—an analysis from the MEMO study. *BMC medicine*. 2021 Dec;19(1):1-0.
- Rudnik-Schöneborn S, Tölle D, Senderek J, Eggermann K, Elbracht M, Kornak U, von der Hagen M, Kirschner J, Leube B, Müller-Felber W, Schara U. Diagnostic algorithms in Charcot–Marie–Tooth neuropathies: experiences from a German genetic laboratory on the basis of 1206 index patients. *Clinical genetics*. 2016 Jan;89(1):34-43.
- Sampedro F, Pérez-González R, Martínez-Horta S, Marín-Lahoz J, Pagonabarraga J, Kulisevsky J. Serum neurofilament light chain levels reflect cortical neurodegeneration in de novo Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*. 2020 May 1;74:43-9.
- Sánchez I, Hassinger L, Sihag RK, Cleveland DW, Mohan P, Nixon RA. Local control of neurofilament accumulation during radial growth of myelinating axons in vivo: selective role of site-specific phosphorylation. *The Journal of cell biology*. 2000 Nov 27;151(5):1013-24.
- Schlaepfer WW, Bruce J. Neurofilament proteins are distributed in a diminishing proximodistal gradient along rat sciatic nerve. *Journal of neurochemistry*. 1990 Aug;55(2):453-60.
- Shahim P, Gren M, Liman V, Andreasson U, Norgren N, Tegner Y, Mattsson N, Andreassen N, Öst M, Zetterberg H, Nellgård B. Serum neurofilament light protein predicts clinical outcome in traumatic brain injury. *Scientific reports*. 2016 Nov 7;6(1):1-9.
- Shahim P, Politis A, van der Merwe A, Moore B, Chou YY, Pham DL, Butman JA, Diaz-Arrastia R, Gill JM, Brody DL, Zetterberg H. Neurofilament light as a biomarker in traumatic brain injury. *Neurology*. 2020 Aug 11;95(6):e610-22.
- Sihag RK, Nixon RA. In vivo phosphorylation of distinct domains of the 70-kilodalton neurofilament subunit involves different protein kinases. *J Biol Chem*. 1989;264:457–464

- Sihag RK, Inagaki M, Yamaguchi T, Shea TB, Pant HC. Role of phosphorylation on the structural dynamics and function of types III and IV intermediate filaments. *Exp Cell Res.* 2007 Jun 10;313(10):2098-109.**
- Siokas V, Aloizou AM, Liampas I, Bakirtzis C, Tsouris Z, Sgantzios M, Liakos P, Bogdanos DP, Hadjigeorgiou GM, Dardiotis E. Myelin-associated oligodendrocyte basic protein rs616147 polymorphism as a risk factor for Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand.* 2022;145(2):223-8.**
- Siokas V, Aslanidou P, Aloizou AM, Peristeri E, Stamati P, Liampas I, Arseniou S, Drakoulis N, Aschner M, Tsatsakis A, Mitsias PD, Bogdanos DP, Hadjigeorgiou GM, Dardiotis E. Does the CD33 rs3865444 Polymorphism Confer Susceptibility to Alzheimer's Disease? *J Mol Neurosci.* 2020;70(6):851-60.**
- Stavrou M, Sargiannidou I, Georgiou E, Kagiava A, Kleopa KA. Emerging therapies for Charcot-Marie-Tooth inherited neuropathies. *International Journal of Molecular Sciences.* 2021 Jan;22(11):6048.**
- Stokowska A, Bunketorp Käll L, Blomstrand C, Simrén J, Nilsson M, Zetterberg H, Blennow K, Pekny M, Pekna M. Plasma neurofilament light chain levels predict improvement in late phase after stroke. *European journal of neurology.* 2021 Jul;28(7):2218-28.**
- Sun D, Leung CL, Liem RK. Phosphorylation of the High Molecular Weight Neurofilament Protein (NF-H) by Cdk5 and p35. *J Biol Chem.* 1996;271:14245–14251.**
- Syed CK, Lee RH. Slow and fast grouping of cargo velocities in axonal transport due to single versus multi-motor transport. *Journal of Theoretical Biology.* 2019 Nov 7;480:65-70.**
- Sweeney MD, Sagare AP, Zlokovic BV. Blood–brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. *Nature Reviews Neurology.* 2018 Mar;14(3):133-50.**
- Tashiro T, Imai R, Komiya Y. Early Effects of  $\beta$ ,  $\beta'$ -Iminodipropionitrile on Tubulin Solubility and Neurofilament Phosphorylation in the Axon. *Journal of neurochemistry.* 1994 Jul;63(1):291-300.**

- Tiedt S, Duering M, Barro C, Kaya AG, Boeck J, Bode FJ, Klein M, Dorn F, Gesierich B, Kellert L, Ertl-Wagner B. Serum neurofilament light: a biomarker of neuroaxonal injury after ischemic stroke. *Neurology*. 2018 Oct 2;91(14):e1338-47.
- Timmerman V, Strickland AV, Züchner S. Genetics of Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease within the frame of the human genome project success. *Genes*. 2014 Mar;5(1):13-32.
- Tsapanou A, Gu Y, O'Shea DM, Yannakoulia M, Kosmidis M, Dardiotis E, Hadjigeorgiou G, Sakka P, Stern Y, Scarmeas N. Sleep quality and duration in relation to memory in the elderly: Initial results from the Hellenic Longitudinal Investigation of Aging and Diet. *Neurobiol Learn Mem*. 2017;141:217-25.
- Tsapanou A, Vlachos GS, Cosentino S, Gu Y, Manly JJ, Brickman AM, Schupf N, Zimmerman ME, Yannakoulia M, Kosmidis MH, Dardiotis E, Hadjigeorgiou G, Sakka P, Stern Y, Scarmeas N, Mayeux R. Sleep and subjective cognitive decline in cognitively healthy elderly: Results from two cohorts. *J Sleep Res*. 2019;28(5):e12759.
- Uchida A, Brown A. Arrival, reversal, and departure of neurofilaments at the tips of growing axons. *Molecular biology of the cell*. 2004 Sep;15(9):4215-25.
- Uchida A, Monsma PC, Fenn JD, Brown A. Live-cell imaging of neurofilament transport in cultured neurons. In *Methods in cell biology* 2016 Jan 1 (Vol. 131, pp. 21-90). Academic Press.
- Veeranna, Amin ND, Ahn NG, et al. Mitogen-activated protein kinases (Erk1,2) phosphorylate Lys-Ser-Pro (KSP) repeats in neurofilament proteins NF-H and NF-M. *J Neurosci* 1998 Jun 1;18:4008-4021; Gong CX, Wang JZ, Iqbal K, Grundke-Iqbal I. Inhibition of protein phosphatase 2A induces phosphorylation and accumulation of neurofilaments in metabolically active rat brain slices. *Neurosci Lett* 2003 Apr 10;340:107-110
- Walker CL, Uchida A, Li Y, Trivedi N, Fenn JD, Monsma PC, Larivière RC, Julien JP, Jung P, Brown A. Local acceleration of neurofilament transport at nodes of Ranvier. *Journal of Neuroscience*. 2019 Jan 23;39(4):663-77.

- Xiao Q, Hu X, Wei Z, Tam KY. Cytoskeleton molecular motors: structures and their functions in neuron. International journal of biological sciences. 2016;12(9):1083.**
- Xu ZS, Liu WS, Willard MB. Identification of six phosphorylation sites in the COOH-terminal tail region of the rat neurofilament protein M. J Biol Chem. 1992;267:4467–4471.**
- Yang Y, Gu LQ, Burnette WB, Li J. N98S mutation in NEFL gene is dominantly inherited with a phenotype of polyneuropathy and cerebellar atrophy. Journal of the neurological sciences. 2016 Jun 15;365:46.**
- Yuan A, Sasaki T, Rao MV, Kumar A, Kanumuri V, Dunlop DS, Liem RK, Nixon RA. Neurofilaments form a highly stable stationary cytoskeleton after reaching a critical level in axons. Journal of Neuroscience. 2009 Sep 9;29(36):11316-29.**
- Yuan A, Rao MV, Nixon RA. Neurofilaments at a glance. Journal of cell science. 2012 Jul 15;125(14):3257-63.**
- Yuan A, Sershen H, Basavarajappa BS, Kumar A, Hashim A, Berg M, Lee JH, Sato Y, Rao MV, Mohan PS, Dyakin V. Neurofilament subunits are integral components of synapses and modulate neurotransmission and behavior in vivo. Molecular psychiatry. 2015 $\alpha$  Aug;20(8):986-94.**
- Yuan A, Hassinger L, Rao MV, Julien JP, Miller CC, Nixon RA. Dissociation of axonal neurofilament content from its transport rate. PLoS One. 2015 $\beta$  Jul 24;10(7):e0133848.**
- Yuan A, Nixon RA. Specialized roles of neurofilament proteins in synapses: Relevance to neuropsychiatric disorders. Brain research bulletin. 2016 Sep 1;126:334-46.**
- Yuan A, Rao MV, Nixon RA. Neurofilaments and neurofilament proteins in health and disease. Cold Spring Harbor perspectives in biology. 2017 Apr 1;9(4):a018309.**
- Yuan A, Sershen H, Basavarajappa BS, Smiley JF, Hashim A, Bleiwas C, Berg M, Guifoyle DN, Subbanna S, Darji S, Kumar A. Neurofilament light interaction with GluN1 modulates neurotransmission and schizophrenia-associated behaviors. Translational psychiatry. 2018 Aug 24;8(1):1-2.**

**Yuan A, Nixon RA. Neurofilament proteins as biomarkers to monitor neurological diseases and the efficacy of therapies. *Frontiers in Neuroscience*. 2021;1242.**

**Zerr I, Villar-Piqué A, Hermann P, Schmitz M, Vargas D, Ferrer I, Riggert J, Zetterberg H, Blennow K, Llorens F. Diagnostic and prognostic value of plasma neurofilament light and total-tau in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Alzheimer's research & therapy*. 2021 Dec;13(1):1-5.**

**Züchner S, Vance JM. Mechanisms of disease: a molecular genetic update on hereditary axonal neuropathies. *Nature clinical practice Neurology*. 2006 Jan;2(1):45-53.**