



**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**



**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΝΕΥΡΟΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ**
Διευθυντής ΠΜΣ: Αναπληρωτής Καθηγητής Νευρολογίας
ΕΥΘΥΜΙΟΣ Γ. ΔΑΡΔΙΩΤΗΣ

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

«Νευροϊνίδια και πρωτεΐνη GFAP ως βιοδείκτες στην πολλαπλή σκλήρυνση»

**Δημήτριος Θωμάς
Ειδικευόμενος Νευρολογίας**

**Επιβλέπων:
Δαρδιώτης Ευθύμιος, Αναπλ. Καθηγητής Νευρολογίας Π.Θ.**

- Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:**
- 1. κ. Δαρδιώτης Ευθύμιος, Αναπλ. Καθηγητής Νευρολογίας Π.Θ.**
 - 2. κ. Λιάκος Παναγιώτης, Αναπλ. Καθηγητής Ιατρικής Βιοχημείας Π.Θ.**
 - 3. κ. Σγάντζος Μάρκος, Αναπλ. Καθηγητής Ανατομίας-Ιστορίας της Ιατρικής**

**Τίτλος εργασίας στα αγγλικά:
“Neurofilaments and GFAP protein as biomarkers in multiple sclerosis”**

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

Λάρισα, Φεβρουάριος 2022

Πίνακας περιεχομένων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ (ΕΛΛΗΝΙΚΗ).....	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ (ΑΓΓΛΙΚΗ) -ABSTRACT.....	5
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	7
ΠΟΛΛΑΠΛΗ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗ	7
Εισαγωγή-Επιδημιολογικά στοιχεία	7
Αίτια.....	7
Παθοφυσιολογία της νόσου.....	8
Κλινική εικόνα	10
Διάγνωση	12
Θεραπεία	13
ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ	15
Εισαγωγή-Ορισμός.....	15
Βιοδείκτες στην Νευρολογία.....	16
Βιοδείκτες στην Πολλαπλή Σκλήρυνση	18
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	26
ΣΚΟΠΟΣ	26
ΜΕΘΟΔΟΣ	27
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	28
Πρωτεΐνη GFAP (Glial Fibrillary Acidic Protein) ως πιθανός βιοδείκτης στην πολλαπλή σκλήρυνση	28
Νευροϊνίδια (NFL – Neurofilament light chain) ως πιθανός βιοδείκτης στην πολλαπλή σκλήρυνση.....	32
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	42
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	44

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ (ΕΛΛΗΝΙΚΗ)

Η πολλαπλή σκλήρυνση (ΠΣ) είναι μία αυτοάνοση, απομυελινωτική νόσος του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) που εμφανίζεται κυρίως σε νεαρούς ενήλικες (συχνότερη ηλικία διάγνωσης 20-40 έτη). Είναι μία πολυπαραγοντική νόσος που προκύπτει από επίδραση περιβαλλοντικών και γενετικών παραγόντων και χαρακτηρίζεται από παρουσία απομυελινωτικών βλαβών στο ΚΝΣ. Οι βλάβες αυτές προκύπτουν από καταστροφή του ελύτρου της μυελίνης των νευραξόνων (βλάβη στα ολιγοδενδροκύτταρα) και τοπογραφικά ανιχνεύονται κυρίως στη λευκή ουσία στο ΚΝΣ. Στην παθοφυσιολογία της νόσου και στην καταστροφή του ελύτρου της μυελίνης φαίνεται να υπεισέρχονται κυρίως μηχανισμοί κυτταρικής ανοσίας (CD8+ T Λεμφοκύτταρα). Παρουσιάζεται με μία ποικιλία συμπτωματολογίας, ενώ διαιρείται σε διάφορες μορφές ανάλογα με την πορεία της, με συχνότερη αυτήν της υποτροπιάζουσας μορφής. Για τη διάγνωση της νόσου συνδυάζεται ένα σύνολο κλινικών, απεικονιστικών και παρακλινικών δεδομένων (διαγνωστικά κριτήρια McDonald 2017). Είναι μία νόσος με πολλά άγνωστα παθοφυσιολογικά μονοπάτια και η οποία σταδιακά οδηγεί σε συσσώρευση αναπηρίας, ακόμη και σε νεαρή ηλικία. Έχει μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον με προσπάθειες, μεταξύ άλλων, την ανακάλυψη πιθανών βιοδεικτών για τη νόσο αυτή. Βιοδείκτες, με την ευρύτερη έννοια, αποτελούν μετρήσιμα χαρακτηριστικά με σκοπό τη διάγνωση, πρόγνωση, πρόβλεψη μίας ασθένειας ή διαταραχής αλλά και αξιολόγηση της επίδρασης ενός παράγοντα (π.χ. φαρμακευτική αγωγή). Στη νευρολογία, και κατά συνέπεια στην ΠΣ, υπάρχουν λίγοι διαθέσιμοι βιοδείκτες λόγω της ιδιαιτερότητας του ΚΝΣ και των νευρολογικών παθήσεων. Όσο αφορά την ΠΣ, υπάρχουν κάποιοι θεσπισμένοι βιοδείκτες που χρησιμοποιούνται στην καθημερινή κλινική πράξη. Σε αυτούς συγκαταλέγονται οι ολιγοκλωνικές ζώνες και ο IgG Index στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY), τα αντισώματα έναντι ακουαπορίνης-4 στον ορό, η παρουσία αντισωμάτων έναντι του ιού JCV (John-Cunningham) στον ορό καθώς και απεικονιστικά ευρήματα (π.χ. MRI με παρουσία απομυελινωτικών εστιών, πρόσληψη Gd, κ.ά). Πολυάριθμοι παράγοντες μελετώνται ως προς τη πιθανή χρήση τους ως βιοδείκτες στην ΠΣ. Δύο από αυτούς είναι τα νευροϊνίδια (ιδίως η ελαφρά άλυσος αυτών – Neurofilament Light Chain NFL) και η πρωτεΐνη GFAP (Glial Fibrillary Acidic Protein). Τα νευροϊνίδια αποτελούν στοιχείο του κυτταρικού σκελετού του νευρικού κυττάρου, βρίσκεται κυρίως στους νευράξονες και τα αυξημένα επίπεδα στο ENY (αλλά και στο αίμα) συσχετίζονται με αξονική βλάβη και νευροεκφύλιση. Από την άλλη, η GFAP εκφράζεται κυρίως στα αστροκύτταρα, με πολυάριθμες λειτουργίες, ενώ απελευθερώνεται και ανιχνεύεται σε αυξημένα επίπεδα σε ENY (και στο αίμα)

σε καταστροφή των αστροκυττάρων και αστροκυττάρωση. Σκοπός της εργασίας-ανασκόπησης αυτής, είναι η διερεύνηση των επιπέδων NFL και GFAP ως πιθανοί βιοδείκτες στην ΠΣ μέσα από βιβλιογραφικά δεδομένα. Συμπεριλήφθηκαν και αναλύθηκαν 21 συνολικά άρθρα (3 για την GFAP και 18 για τα NFL) που αφορούσαν τη χρήση των μορίων αυτών ως βιοδείκτες στην ΠΣ με μέτρηση των επιπέδων αυτών σε κλινικές μελέτες σε ανθρώπους. Όσο αφορά την **GFAP**, που αναλύθηκε κυρίως στο ENY (και λιγότερο στο αίμα), αυτή συσχετίστηκε με την ενεργότητα-βαρύτητα και πορεία της νόσου (συσχέτιση με μετάπτωση σε προϊούσα μορφή, με βαρύτερο νευρολογικό έλλειμα και EDSS), ήταν αυξημένη σε ασθενείς με ΠΣ συγκριτικά με υγιείς ενώ δεν συσχετίστηκε με την κλινική φάση της νόσου (χωρίς διαφορά σε υποτροπή και ύφεση) (πιθανός ρόλος ως διαγνωστικό και προγνωστικό βιοδείκτη). Τα **NFL** μελετήθηκαν εκτενέστερα τόσο στο ENY όσο και στο αίμα (ορός και πλάσμα). Φάνηκε πως τα επίπεδα αυτών, παρ'όλο που δεν συσχετίστηκαν με την EDSS, συσχετίστηκαν με επιδείνωση απεικονιστικών δεδομένων, με χειρότερη απόδοση σε διάφορες κλινικές και γνωστικές δοκιμασίες. Τα επίπεδά τους αυξήθηκαν σε οξεία υποτροπή, ενώ συσχετίστηκαν με τη συχνότητα και την πρόβλεψη κινδύνου υποτροπής. Επίσης συσχετίστηκαν με την πρόβλεψη μακροπρόθεσμης ενεργότητας της νόσου. Τα επίπεδα των νευροϊνιδίων, όπως και της GFAP, ήταν αυξημένα σε ασθενείς με ΠΣ συγκριτικά με υγιείς. Τα επίπεδα NFL συσχετίστηκαν και μειώθηκαν με τη χορήγηση φαρμακευτικής αγωγής συνδυαστικά με βελτίωση της κλινικής και απεικονιστικής εικόνας ενώ συσχετίστηκαν και με ανεπιθύμητες ενέργειες της φαρμακευτικής αγωγής. Συνοπτικά δηλαδή τα επίπεδα NFL φαίνεται να διαδραματίζουν ρόλο διαγνωστικού, προγνωστικού και θεραπευτικού βιοδείκτη. Έτσι για την GFAP και τα NFL, μέσα από την ανασκόπηση αυτή, αναδεικνύεται ο ρόλος του ως βιοδείκτες στην ΠΣ. Φυσικά απαιτείται περαιτέρω έρευνα πάνω στο πεδίο αυτό για τη διερεύνηση των μορίων αυτών ως βιοδείκτες (ιδίως στο αίμα καθώς για ανάλυση του ENY απαιτείται οσφυονωτιαία παρακέντηση, μία πιο επεμβατική μέθοδος).

Λέξεις κλειδιά: Πολλαπλή σκλήρυνση, Βιοδείκτες, Νευροϊνίδια, GFAP

ΠΕΡΙΛΗΨΗ (ΑΓΓΛΙΚΗ) -ABSTRACT

Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune, demyelinating disease of the central nervous system (CNS) that affects mainly young adults (most common age of diagnosis 20-40 years). It is a multifactorial disease that results from the combination of environmental and genetic factors and is characterized by the presence of demyelinating lesions in the CNS. These lesions result from destruction of the myelin sheath of the axons (damage to oligodendrocytes) and are topographically detected mainly in the white matter in the CNS. The pathophysiology of the disease and the destruction of the myelin sheath seem to involve mainly mechanisms of cellular immunity (CD8 + T Lymphocytes). It presents with a variety of symptoms and it is divided into different types depending on its disease course, with the most common being the relapsing remitting type. A combination of clinical, imaging and laboratory data is used for the diagnosis of the disease (diagnostic criteria McDonald 2017). It is a disease with many unknown pathophysiological pathways and which gradually leads to the accumulation of disability, even at a young age. It is of great research interest to discover possible biomarkers for this disease. Biomarkers, generally, are measurable characteristics used for the purpose of diagnosis, prognosis, prediction of a disease or disorder but also for the evaluation of the effect of a factor (eg medication). In neurology, and consequently in MS, there are only few biomarkers available due to the complexity and special characteristics of the CNS and its neurological diseases. Regarding MS, there are some established biomarkers that are used in daily clinical practice. These include oligoclonal bands and IgG Index in cerebrospinal fluid (CSF), serum antibodies against aquaporin-4, the presence of antibodies against JCV (John-Cunningham) virus in the serum and imaging findings (eg MRI - presence of demyelinating plaques, Gd uptake, etc.). Numerous factors are being studied regarding their possible use as biomarkers in MS. Two of them are neurofilaments (especially their light chain subunit- Neurofilament Light Chain NFL) and GFAP (Glial Fibrillary Acidic Protein). Neurofilaments are part of the cytoskeleton of neurons, found mainly in the axons, and elevated levels in the CSF (but also in the blood) are associated with axonal damage and neurodegeneration. GFAP, on the other hand, is expressed mainly in astrocytes, with numerous functions, and it is released and detected at elevated levels in CSF (and in the blood) after astrocyte destruction and astrogliosis. The purpose of this review is to investigate the role of NFL and GFAP levels as possible biomarkers in MS through bibliographic data. A total of 21 articles were included and analyzed in this review (3 about GFAP and 18 about NFL) regarding the use of these molecules as biomarkers in MS by measuring their levels in clinical trials in human samples. Regarding **GFAP**, which was analyzed mainly in the CSF (and less in blood), it was associated with the activity-severity and course of

the disease (correlation with transition to progressive types of MS, the severity of neurologic deficit and EDSS score), was increased in patients with MS compared to healthy controls and was not associated with the clinical phase of the disease (no difference between relapse and remission phase) (possible role as a diagnostic and prognostic biomarker). **NFLs** have been studied more extensively in both CSF and blood (serum and plasma), than GFAP. Their levels, although not correlated with EDSS score, appeared to be associated with worsening of imaging data, worse performance in various clinical and cognitive tests. Their levels increased during acute relapse and correlated also with frequency and risk of relapse. They were also associated with predicting long-term disease activity. Neurofilaments, similarly with GFAP, were elevated in patients with MS compared to healthy controls. NFL levels were correlated and decreased with medication combined with improved clinical and imaging data and were associated with medication side effects. With other words, NFL levels appear to play a role as a diagnostic, prognostic, and therapeutic biomarker. Summarizing, this review highlighted the role of GFAP and NFL levels as biomarkers in MS. Of course, further research is needed in this field to investigate these molecules as biomarkers (especially in blood as CSF analysis requires a lumbar puncture, a more invasive method).

Key words: Multiple sclerosis, Biomarkers, Neurofilaments, GFAP

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΠΟΛΛΑΠΛΗ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗ

Εισαγωγή-Επιδημιολογικά στοιχεία

Η πολλαπλή σκλήρυνση (ΠΣ) είναι μία χρόνια φλεγμονώδης, απομυελινωτική νόσος του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ - εγκέφαλος και νωτιαίος μυελός) [1], αυτοάνοσης αρχής [2]. Αποτελεί τη συχνότερη φλεγμονώδη διαταραχή του κεντρικού νευρικού συστήματος [3] και προκύπτει από βλάβες στη λευκή ουσία και συγκεκριμένα στο έλυτρο της μυελίνης, στα ολιγοδενδροκύτταρα και στη συνέχεια στους νευράξονες των νευρικών κυττάρων [2]. Αφορά κυρίως νεαρούς ενήλικες (συχνότερα 20-40 ετών) και προσβάλλει συχνότερα το γυναικείο φύλο (αναλογία γυναικών-ανδρών 2-3 προς 1) [4] [5]. Επιπλέον ο επιπολασμός της νόσου είναι αυξημένος σε περιοχές με μεγάλη απόσταση από τον ισημερινό [6].

Αίτια

Η πολλαπλή σκλήρυνση (ΠΣ) είναι μία νόσος πολυπαραγοντική, τα ακριβή αίτια της οποίας δεν είναι απολύτως γνωστά [7-9]. Παρ'όλα αυτά είναι μία νόσος που έχει βρεθεί στο επίκεντρο πολλών μελετών με αποτέλεσμα να ανακαλύπτονται συνεχώς παράγοντες κινδύνου που επιδρούν στη συχνότητα εμφάνισης της νόσου. Φαίνεται λοιπόν ότι προκύπτει από την επίδραση ενός συνδυασμού περιβαλλοντικών παραγόντων σε γενετικά προδιαθετημένα άτομα [10].

Πολλοί περιβαλλοντικοί παράγοντες σε συνδυασμό με τον τρόπο ζωής του ατόμου έχουν φανεί να διαδραματίζουν κάποιον ρόλο στη συχνότητα εμφάνισης της νόσου. Οι σημαντικότεροι εξ αυτών είναι η έκθεση στον ιό Epstein-Barr σε εφηβική ή νεαρή ενήλικη ζωή (έως και 100% των ατόμων με ΠΣ έχει βρεθεί με αντισώματα έναντι του ιού και αποτελεί τον λοιμώδη παράγοντα με την μεγαλύτερη συσχέτιση με τη νόσο), το κάπνισμα (ενεργητικό και παθητικό) (κακή επίδραση και στη πρόγνωση της νόσου με μεγαλύτερη ενεργότητα νόσου και αναπηρία), χαμηλή έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία, χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D (συσχέτιση και με την ενεργότητα της νόσου) καθώς και η παχυσαρκία (ιδίως στην εφηβική ηλικία). Άλλοι λιγότερο σημαντικοί παράγοντες κινδύνου είναι η νυχτερινή εργασία, η μεγάλη κατανάλωση αλκοολούχων και καφεϊνούχων σκευασμάτων [10-13].

Η ΠΣ δεν θεωρείται κληρονομική νόσος. Όμως γενετικοί παράγοντες φαίνεται να παίζουν κάποιο ρόλο στην εμφάνισή της [14-17]. Η επίδραση γενετικών παραγόντων αναδεικνύεται στις περιπτώσεις οικογενούς εμφάνισης της νόσου (έως 13% οικογενής εμφάνιση που αφορά όλους τους φαινοτύπους της νόσου). Επιπλέον η εμφάνιση της νόσου σε μέλη μια οικογένειας συσχετίζεται με το ποσοστό του κοινού γονιδιώματος. Ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου είναι 35% εάν πρόκειται για μονοζυγωτικούς διδύμους ενώ αντίθετα σε διζυγωτικούς και απλά αδέρφια 6% και 3% αντίστοιχα. Επίσης διάφοροι πολυμορφισμοί γονιδίων έχουν συσχετιστεί με την επίπτωση της νόσου όπως πολυμορφισμοί στα γονίδια HLA I και HLA II. Επιπλέον πάνω από 200 γονίδια έχουν ταυτοποιηθεί που σχετίζονται με την εμφάνιση ΠΣ, τα περισσότερα από τα οποία σχετίζονται με το ανοσοποιητικό σύστημα (όπως γονίδια HLA κ.ά.). Πολλοί πολυμορφισμοί επιδρούν συνδυαστικά και με περιβαλλοντικούς παράγοντες που προαναφέρθηκαν παραπάνω [10,11].

Παθοφυσιολογία της νόσου

Η ΠΣ παθολογοανατομικά χαρακτηρίζεται από την παρουσία απομυελινωτικών βλαβών (απομυελινωτικές εστίες-πλάκες) στο κεντρικό νευρικό σύστημα [18]. Οι εστίες αυτές εντοπίζονται κυρίως στη λευκή ουσία όπου παρατηρείται απώλεια του ελύτρου της μυελίνης και βλάβη στα ολιγοδενδροκύτταρα [18,19] (συχνότερα εντοπίζονται στα οπτικά νεύρα, στην περικοιλιακή λευκή ουσία του εγκεφάλου, στο εγκεφαλικό στέλεχος και στη λευκή ουσία του νωτιαίου μυελού) [19]. Απομυελινωτικές βλάβες μπορεί βέβαια να υπάρξουν και στη φαιά ουσία του φλοιού του εγκεφάλου, των πυρήνων και του νωτιαίου μυελού [19] αλλά σε αυτήν την περίπτωση υπάρχει μικρότερη φλεγμονή στην περιοχή [3].

Οι απομυελινωτικές εστίες δημιουργούνται μέσω αυτοάνοσων φλεγμονωδών μηχανισμών, το έναυσμα των οποίων παραμένει άγνωστο. Στόχος των ανοσιακών αποκρίσεων είναι αυτοαντιγόνα που εντοπίζονται στη μυελίνη όπως η βασική πρωτεΐνη της μυελίνης (MBP), η πρωτεολιπιδική πρωτεΐνη (PLP), η γλυκοπρωτεΐνη σχετιζόμενη με τη μυελίνη (MAG), η γλυκοπρωτεΐνη της μυελίνης των ολιγοδενδροκυττάρων (MOG) και οι γαγγλιοσίδες [19]. Σε προχωρημένα στάδια της νόσου, οι βλάβες επεκτείνονται και στους νευράξονες (αξονική προσβολή) που συσχετίζεται με βαρύτερη κλινική εικόνα και αναπηρία και ατροφία του εγκεφάλου [18].

Ιστολογικά, οι απομυελινωτικές εστίες χαρακτηρίζονται ως οξείες-ενεργείς, χρόνια ενεργείς και ανενεργείς [19]. Στην αρχική-οξεία φάση (οξείες βλάβες) της φλεγμονής παρατηρείται στην περιοχή της βλάβης περιαγγειακή διήθηση από περιφερικά ανοσιακά κύτταρα που

μεταναστεύουν από το κυκλοφορικό σύστημα (διάσπαση αιματεγκεφαλικού φραγμού) [18,19]. Κυρίως εντοπίζονται μακροφάγα και μονοπύρηννα κύτταρα, CD8+ T Λεμφοκύτταρα ενώ περιστασιακά μπορεί να απομονωθούν και CD4+ T Λεμφοκύτταρα, B Λεμφοκύτταρα και πλασματοκύτταρα [18,19]. Τα CD4+ T Λεμφοκύτταρα εντοπίζονται κυρίως περιαγγειακά ενώ αντίθετα τα CD8+ T Λεμφοκύτταρα εντός του παρεγχύματος [3]. Συνέπεια αυτής της διεργασίας είναι η απομυελίνωση και η φαγοκυττάρωση των καταλοίπων μυελίνης από φαγοκύτταρα και μικρογλοιακά κύτταρα [19] καθώς και η ενεργοποίηση αστροκυττάρων στα οποία οφείλεται ο σχηματισμός της γλοιωτικής ουλής στην περιοχή [18,19]. Τα μακροφάγα και τα μικρογλοιακά κύτταρα παραμένουν σε χρόνια ενεργό μορφή στην πορεία της νόσου. [18] Οι νευράξονες που έχουν υποστεί απομυελίνωση μπορεί να υφίστανται μερική επαναμυελίνωση, γεγονός που αποδίδεται σε προγονικά κύτταρα των ολιγοδενδροκυττάρων και όχι στα ολιγοδενδροκύτταρα που επιβίωσαν από τη φλεγμονώδη διεργασία [18,19]. Τα μικρογλοιακά κύτταρα μπορεί να έχουν διττό ρόλο, είτε επεκτείνοντας τη φλεγμονή είτε υπό προϋποθέσεις να προωθήσουν την αποκατάσταση απομακρύνοντας τα κατάλοιπα μυελίνης. Τα αστροκύτταρα, που αποτελούν βασικό στοιχείο της απομυελινωτικής πλάκας, συμβάλλουν και με προώθηση της φλεγμονής εκκρίνοντας διάφορα μόρια αλλά μπορούν επίσης να μειώσουν τη φλεγμονή απορροφώντας γλουταμικό, παρέχοντας μεταβολική υποστήριξη στους νευράξονες και συντηρώντας τον αιματεγκεφαλικό φραγμό [3].

Το αρχικό ερέθισμα που πυροδοτεί τον καταρράκτη της φλεγμονής και της απομυελίνωσης δεν έχει εξακριβωθεί ενώ υπάρχει και διαφωνία για το αν προέρχεται από το εσωτερικό του ΚΝΣ ή από το εξωτερικό αυτού [3]. Παρ'όλα αυτά η πιο διαδεδομένη και αποδεκτή θεωρία υποστηρίζει πως αρχικά γίνεται ενεργοποίηση ειδικών CD4+ T Λεμφοκυττάρων στην περιφέρεια, έξω από το ΚΝΣ [17,20] σε γενετικά προδιαθετημένα άτομα, τα οποία είναι ικανά να διαπεράσουν τον αιματεγκεφαλικό φραγμό (ΑΕΦ) [5]. Η θεωρία αυτή υποστηρίζεται και από δεδομένα από πειραματικά μοντέλα [20,21] και από γενετικά ευρήματα που αφορούν τη συσχέτιση της νόσου με πολυμορφισμούς γονιδίων του HLA II [20]. Η ενεργοποίηση αυτών των αυτοδραστικών CD4+ T Λεμφοκυττάρων συμβαίνει στην περιφέρεια υπό την επίδραση των παραγόντων κινδύνου (περιβαλλοντικοί και γενετικοί παράγοντες καθώς και ο τρόπος ζωής που αναφέρθηκαν παραπάνω). Όσο αφορά το αντιγόνο που οδηγεί σε ενεργοποίηση των CD4+ T Λεμφοκυττάρων, λιγότερα είναι γνωστά [20]. Είναι πιθανό να πρόκειται είτε για το ίδιο αυτοαντιγόνο που θα αποτελέσει τον μετέπειτα στόχο του ανοσοποιητικού συστήματος και το οποίο μεταφέρεται από το ΚΝΣ στην περιφέρεια είτε για άλλο αντιγόνο που δημιουργεί διασταυρούμενη αντίδραση με αποτέλεσμα να αναγνωρίζονται από το αυτοδραστικό CD4+ T Λεμφοκύτταρο με τη βοήθεια αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων [20]. Αυτό όμως που

θεωρείται πιο πιθανό είναι να μεσολαβούν μηχανισμοί μοριακής μίμησης, δηλαδή τα αυτοδραστικά CD4⁺ T λεμφοκύτταρα να ενεργοποιούνται από εξωγενή πεπτίδια ξένου αντιγόνου, όπως συμβαίνει σε μία ιογενή λοίμωξη, και τα οποία μοιάζουν με τα ενδογενή αυτοαντιγόνα στόχους του ΚΝΣ [5,11]. Τα ενεργοποιημένα CD4⁺ T Λεμφοκύτταρα στη συνέχεια μεταναστεύουν στο κεντρικό νευρικό σύστημα μέσω του ΑΕΦ. Η μετανάστευση αυτή απαιτεί αλληλεπίδραση μεταξύ του very late antigen-4 (VLA-4) στην επιφάνεια των CD4⁺ T Λεμφοκυττάρων και του μορίου προσκόλλησης του ενδοθηλίου (vascular cell adhesion molecule-1/VCAM-1) που βρίσκεται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η διαδικασία αυτή υποστηρίζεται από την αύξηση της έκφρασης μορίων προσκόλλησης, χημειοκινών και στρωματικών μεταλλοπρωτεασών (MMPs). Τα αυτοδραστικά CD4⁺ T Λεμφοκύτταρα στη συνέχεια, αφού έχουν εισέλθει στο ΚΝΣ, επανενεργοποιούνται με τη βοήθεια αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (δενδριτικά κύτταρα, μακροφάγα, Β λεμφοκύτταρα) παρουσία των αυτοαντιγόνων. Έτσι παράγονται και απελευθερώνονται κυτοκίνες και χημειοκίνες που προσελκύουν επιπλέον ανοσιακά-φλεγμονώδη κύτταρα που περιλαμβάνουν T Λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα και Β Λεμφοκύτταρα ενώ ενεργοποιούνται και μικρογλοιακά κύτταρα και μακροφάγα που οδηγούν σε απομυελίνωση. Η απομυελίνωση οδηγεί σε επιπλέον απελευθέρωση αυτοαντιγόνων και έτσι επεκτείνεται και διαιωνίζεται η φλεγμονώδη διεργασία (epitope spreading) [20,21,22]. Τα CD4⁺ T Λεμφοκύτταρα φαίνεται να παίζουν το σπουδαιότερο ρόλο στην έναρξη της νόσου, όμως τα CD8⁺ T Λεμφοκύτταρα είναι αυτά που οδηγούν στη δημιουργία των καταστροφικών βλαβών και την εκδήλωση συμπτωματολογίας (υποτροπές-εξάρσεις της νόσου και χρόνια φάση) [20].

Κλινική εικόνα

Η κλινική εικόνα της νόσου ποικίλλει και εξαρτάται από την εντόπιση των βλαβών. Δεδομένου ότι απομυελινωτικές εστίες μπορούν να εντοπιστούν σε οποιοδήποτε σημείο του ΚΝΣ, οι ασθενείς μπορεί να εμφανίσουν συμπτωματολογία που σχετίζεται με αισθητικά, κινητικά, οπτικά μονοπάτια καθώς και μονοπάτια του εγκεφαλικού στελέχους [21]. Σε αυτά περιλαμβάνονται η κόπωση, η σπαστικότητα, η αστάθεια βάδισης, το σημείο Lhermitte, το φαινόμενο Uhthoff, ορθοκυστικές διαταραχές [5] και οπτικές διαταραχές (π.χ. διαταραχή όρασης με άλγος στις κινήσεις των οφθαλμών στην περίπτωση της οπτικής νευρίτιδας, δηλαδή σε προσβολή των οπτικών νεύρων) [6]. Πολλές φορές όμως προεξάρχουν γενικά συμπτώματα τα οποία θα έπρεπε να τυγχάνουν περισσότερης προσοχής διότι μειώνουν την ποιότητα ζωής των ασθενών όπως η κόπωση, η νοητική έκπτωση, η κατάθλιψη και η σεξουαλική δυσλειτουργία [23]. Όσο αφορά το σημείο Lhermitte, πρόκειται για αίσθημα ηλεκτρισμού στη

ράχη και στα κάτω άκρα, κυρίως με την κάμψη του αυχένα, ενώ όσο αφορά το φαινόμενο Uhthoff, πρόκειται για ευαισθησία των νευρικών ινών (που έχουν υποστεί απομυελίνωση) στη θερμότητα (επιδείνωση των συμπτωμάτων λόγω μειωμένης νευρικής αγωγιμότητας ως απάντηση στην αύξηση της θερμοκρασίας του σώματος) [24].

Υπάρχουν διάφοροι τύποι της νόσου. Η συχνότερη και κυριότερη είναι αυτή που εμφανίζεται με εξάρσεις και υφέσεις (**RRMS**) και αποτελεί το 85% των περιπτώσεων και χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση εξάρσεων με μεσοδιαστήματα σταθερότητας [5,19]. Ως έξαρση θεωρείται η παρουσία πρωτοεμφανιζόμενης ή επανεμφάνιση προϋπάρχουσας νευρολογικής συμπτωματολογίας διάρκειας τουλάχιστον 24 ωρών (απουσία πυρετού ή λοίμωξης) με νέα νευρολογική σημειολογία που διαπιστώνεται από νευρολόγο [5,8]. Η εγκατάσταση συμπτωματολογίας συμβαίνει σταδιακά συνήθως εντός ωρών ή ημερών και υποχωρεί εντός λίγων εβδομάδων [4,7]. Το 25-40% των ασθενών αυτών εντός 15ετίας θα εμφανίσουν μεγάλη και προοδευτική εξέλιξη της νόσου με αποτέλεσμα να υποπέσουν στην δευτεροπαθώς προϊούσα μορφή της νόσου (**SPMS**). Η πρωτοπαθώς προϊούσα μορφή της νόσου (**PPMS**) παρουσιάζεται στο 10-15% των ασθενών με πολλαπλή σκλήρυνση οι οποίοι εμφανίζουν εξαρχής προοδευτική πορεία της νόσου (συνηθέστερα προοδευτική μυελοπάθεια) χωρίς σαφείς εξάρσεις (αφορά μεγαλύτερες ηλικίες διάγνωσης και συχνότερα το αντρικό φύλο) [5,19,21]. Το κλινικώς μεμονωμένο σύνδρομο (**CIS**) πλέον θεωρείται το πρώτο σύμπτωμα με το οποίο τίθεται η υποψία της νόσου (μπορεί να εμφανιστεί για παράδειγμα ως οπτική νευρίτιδα, ατελή μυελίτιδα ή στελεχιαίο σύνδρομο) [5] και εμφανίζεται σε 85% των ασθενών με ΠΣ [10]. Επιπλέον όλες οι παραπάνω μορφές μπορούν να χαρακτηριστούν και ως ενεργείς ή ανενεργείς αναλόγως απεικονιστικών (πρόσληψη παραμαγνητικής ουσίας ή νέες απομυελινωτικές εστίες σε απεικόνιση με μαγνητική τομογραφία) και κλινικών παραμέτρων (συμπτωματολογία-σημειολογία) [5]. Μεταξύ των εξάρσεων, τα συμπτώματα μπορεί να βελτιωθούν ή να υποχωρήσουν και πλήρως (μείωση φλεγμονής και επαναμυελίνωση) [5,6]. Το απεικονιστικά μεμονωμένο σύνδρομο (**RIS**) αφορά άτομα στα οποία ανευρίσκονται απομυελινωτικές εστίες στο ΚΝΣ, σε απεικόνιση αυτού ως τυχαίο εύρημα χωρίς νευρολογική συμπτωματολογία, και πλέον δεν θεωρείται μορφή της νόσου αλλά παράγοντας κινδύνου για εμφάνιση αυτής [5,23].

Η βαρύτητα της κλινικής εικόνας, η αναπηρία-λειτουργικότητα και η νευρολογική διαταραχή των ασθενών μπορεί να εκτιμηθεί και «ποσοτικοποιηθεί» με διάφορες κλίμακες. Μία από τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες είναι η κλίμακα EDSS (Expanded Disability Status Scale) και αποτελεί κλίμακα από το 0 έως το 10 (με ενδιάμεσες κλίμακες ανά 0.5) όπου το 0 αντιστοιχεί σε απουσία νευρολογικού ελλείματος με φυσιολογική λειτουργικότητα και το 10 σε θάνατο λόγω της νόσου [25,26]. Ο υπολογισμός της EDSS γίνεται με βάση την απόδοση σε διάφορα

λειτουργικά συστήματα και περιλαμβάνει οπτικές λειτουργίες, λειτουργίες εγκεφαλικού στελέχους, πυραμιδικές, παρεγκεφαλιδικές, αισθητικές, ορθοκυστικές, εγκεφαλικές λειτουργίες και η κινητοποίηση [27].

Διάγνωση

Η διάγνωση της ΠΣ τίθεται σύμφωνα με διάφορα διαγνωστικά κριτήρια που έχουν θεσπιστεί και βασίζεται σε έναν συνδυασμό **κλινικών** (ιστορικό, συμπτωματολογία και κλινική εξέταση) και **παρακλινικών** παραμέτρων όπως είναι η μαγνητική τομογραφία (απεικόνιση των απομυελινωτικών εστιών και αποκλεισμός εναλλακτικής διάγνωσης), η διενέργεια οσφουονωτιαίας παρακέντησης (ONΠ) για ανάλυση του εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ENY) (ανεύρεση ολιγοκλωνικών ζωνών και αύξηση IgG Index), τα προκλητά δυναμικά (μειωμένη απάντηση) καθώς και οι αιματολογικές εξετάσεις (για αποκλεισμό άλλης νόσου κυρίως, όπως για παράδειγμα έλεγχος επιπέδων βιταμίνης B12, αντιπυρηνικών αντισωμάτων κ.ά.) [4,28]. Στόχος είναι να φανεί αν πληρούνται προϋποθέσεις για διασπορά στο χώρο (Dissemination in Space - DIS) και διασπορά στο χρόνο (Dissemination in Time - DIT) των απομυελινωτικών εστιών καθώς και αποκλεισμός άλλης πιθανής διάγνωσης [6,28]. Για την DIS απαιτούνται δύο τουλάχιστον βλάβες σε διαφορετικές περιοχές του ΚΝΣ, χαρακτηριστικές για την ΠΣ (περικοιλιακά, υποφλοιωδώς, υποσκηνιδιακά και στο νωτιαίο μυελό) ενώ για την DIT απαιτούνται βλάβες που δημιουργήθηκαν σε διαφορετικές χρονικές περιόδους [29]. Τα πιο γνωστά και ευρέως χρησιμοποιούμενα διαγνωστικά κριτήρια είναι τα κριτήρια McDonald που αναθεωρήθηκαν το 2017 (με την αναθεώρηση αναδείχθηκε ο ρόλος που έχει η ανάλυση του ENY στον καθορισμό της DIT) [28,30] [Εικόνα 1].

Η διαφορική διάγνωση περιλαμβάνει παθήσεις των οποίων η συμπτωματολογία μοιάζει και μιμείται αυτήν της ΠΣ. Επιγραμματικά κάποιες από τις παθήσεις αυτές αποτελούν οι διαταραχές στο φάσμα της Οπτικής νευρομυελίτιδας (Neuromyelitis optica spectrum disorder - NMOSD), η νευροσαρκοείδωση, αγγειΐτιδα του ΚΝΣ, το σύνδρομο Susac, νόσος του συνδετικού ιστού (για παράδειγμα συστηματικός ερυθματώδης λύκος -ΣΕΛ, αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο κ.ά), νόσος Leber, διατροφικές διαταραχές (έλλειψη βιταμίνης B12, ανεπάρκεια χαλκού), λευκοδυστροφίες κ.ά. [28]. Σημεία και συμπτώματα που απομακρύνουν από την διάγνωση της ΠΣ είναι η έναρξη σε μεγάλη ηλικία, η παρουσία μη ειδικών εστιών στην απεικόνιση του ΚΝΣ, η καταγωγή των ασθενών από περιοχές με χαμηλό επιπολασμό της νόσου και η παρουσία πολυσυστηματικών συμπτωμάτων που θέτουν την υπόνοια άλλου συστηματικού νοσήματος (π.χ. ΣΕΛ) [4].

	Αριθμός εστιών με αντικειμενικά κλινικά ευρήματα	Επιπρόσθετα ευρήματα που απαιτούνται για τη διάγνωση Πολλαπλής Σκλήρυνσης
≥ 2 κλινικά σύνδρομα	≥ 2	Κανένα
≥ 2 κλινικά σύνδρομα	1 (και επιπρόσθετα ένα αδιαμφισβήτητο κλινικό συμβάν στο παρελθόν που συνοδεύεται με απεικονιστική βλάβη σε διαφορετική περιοχή του ΚΝΣ)	Κανένα
≥ 2 κλινικά σύνδρομα	1	Διασπορά στο χώρο (επιπλέον κλινικό σύνδρομο που αφορά διαφορετική περιοχή του ΚΝΣ ή ευρήματα στη Μαγνητική Τομογραφία)
1 κλινικό σύνδρομο	≥ 2	Διασπορά στο χώρο (επιπλέον κλινικό σύνδρομο ή ευρήματα στη Μαγνητική Τομογραφία ή εύρεση ολιγοκλωνικών δεσμών στο ΕΝΥ)
1 κλινικό σύνδρομο	1	Διασπορά στο χώρο (επιπλέον κλινικό σύνδρομο που αφορά διαφορετική περιοχή του ΚΝΣ ΚΑΙ Διασπορά στο χώρο (επιπλέον κλινικό σύνδρομο ή ευρήματα στη Μαγνητική Τομογραφία ή εύρεση ολιγοκλωνικών δεσμών στο ΕΝΥ)

Εικόνα 1 Συνοπτικός πίνακας των αναθεωρημένων κριτηρίων McDonald 2017 [21] Ανατύπωση από: Γρηγοριάδης Νικόλαος και συν. Συστάσεις για τη διαχείριση των τροποποιητικών της νόσου παραγόντων στην πολλαπλή σκλήρυνση, *Νευροανοσολογία*, 2019;1(1):6-15

Θεραπεία

Η ΠΣ είναι μία χρόνια νόσος και δεν υπάρχει πλήρης ίαση [11]. Η θεραπεία στοχεύει κυρίως στη μείωση της προόδου και εξέλιξης της νόσου, στη βελτίωση της αναπηρίας και της ποιότητας ζωής και στην ανακούφιση των συμπτωμάτων καθώς επίσης και στην αντιμετώπιση νέας έξαρσης της νόσου. Έτσι η θεραπεία χωρίζεται στη συμπτωματική, στην τροποποιητική της νόσου και στη θεραπεία της οξείας υποτροπής [10].

Η **συμπτωματική** θεραπεία στοχεύει στη βελτίωση της αναπηρίας, της λειτουργικότητας και γενικότερα των συμπτωμάτων που προκύπτουν από καταστροφή περιοχών του ΚΝΣ με απώτερο στόχο την βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών. Από επιτυγχάνεται μέσω φαρμακευτικών σκευασμάτων και φυσιατρικών μεθόδων νευροαποκατάστασης. Επικεντρώνεται λοιπόν στην αντιμετώπιση συμπτωμάτων όπως ορθοκυστικές διαταραχές (π.χ. χρήση αντιχολινεργικών), νευροπαθητικός πόνος (π.χ. τρικυκλικά αντικαταθλιπτικά και γκαπαπεντίνη), διαταραχές της ψυχικής σφαίρας (κατάθλιψη, αγχώδης διαταραχή με φαρμακευτικά σκευάσματα), νοητική έκπτωση (ειδικές παρεμβάσεις), σπαστικότητα και διαταραχές βάδισης (κανναβινοειδή, φαμπριδίνη, πρόγραμμα φυσικοθεραπειών κ.ά.), κόπωση, σεξουαλική δυσλειτουργία, διαταραχές του ύπνου, επιληπτικές κρίσεις κτλ. [4,11,19,31]

Η **τροποποιητική της νόσου** θεραπεία στοχεύει στη μείωση της ενεργότητας (κλινικής και απεικονιστικής) και την επιβράδυνση της εξέλιξης της νόσου με μείωση των υποτροπών. Αφορά

κυρίως την υποτροπιάζουσα μορφή της πολλαπλής σκλήρυνσης (RRMS) και το κλινικώς μεμονωμένο σύνδρομο (CIS), ενώ σύμφωνα με τις συστάσεις θα πρέπει να ξεκινά όσο το δυνατόν πιο γρήγορα μετά τη διάγνωση [5,11]. Η θεραπεία είναι ανοσοκατασταλτική και ανοσορρυθμιστική και περιλαμβάνει σκευάσματα 1ης, 2ης και 3ης γραμμής με διάφορες οδούς χορήγησης (από του στόματος, ενέσιμα ενδομυϊκά και υποδόρια καθώς και ενδοφλέβια έγχυση) [5,11,19]. Η θεραπεία αυτή ρυθμίζει τις ανοσιακές αποκρίσεις, προωθεί την επαναμυελίνωση, και μειώνει την ενεργοποίηση, τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των ανοσιακών κυττάρων στο ΚΝΣ [19]. Επιγραμματικά, στα 1ης γραμμής σκευάσματα συμπεριλαμβάνονται η οξική γλατιραμέρη (Glatiramer Acetate – GA), η Ιντερφερόνη Β (IFNβ), η Τεριφλουνομίδη και ο Φουμαρικός Διμεθυλεστέρας (Dimethyl Fumarate – DMF), ενώ στα 2ης και 3ης γραμμής συμπεριλαμβάνονται η φινγκολιμόδη, το natalizumab (NTZ), το alemtuzumab, το ocrelizumab, η μιτοξαντρόνη κ.ά. [5]. Υπάρχουν και άλλες νεότερες θεραπείες για την αντιμετώπιση της νόσου τα οποία σταδιακά αναδεικνύονται. Συνήθως γίνεται έναρξη με 1ης γραμμής θεραπείες και ιδίως με GA ή IFNβ λόγω μακρόχρονης εμπειρίας και λόγω λιγότερων και πιο αντιμετωπίσιμων ανεπιθύμητων ενεργειών. Η αλλαγή σε 2ης ή 3ης γραμμής θεραπείες γίνεται ανάλογα με την ενεργότητα και εξέλιξη της νόσου και την ανταπόκριση στα 1ης γραμμής σκευάσματα [5,11,19].

Η εμφάνιση μίας **υποτροπής** της νόσου αντιμετωπίζεται με τη χορήγηση υψηλών δόσεων μεθυλπρεδνιζολόνης σε δόση 0.5-1 γραμμάρια ημερησίως για διάστημα 3-5 ημερών [11]. Η οδός χορήγησης είναι συνήθως η παρεντερική (ενδοφλέβια) [11] ενώ σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες η από του στόματος χορήγηση της φαρμακευτικής αγωγής αυτής στην αντίστοιχη δοσολογία δεν υστερεί σε αποτελεσματικότητα και είναι ισάξια [5]. Η αντιμετώπιση της οξείας υποτροπής με τα φάρμακα αυτά οδηγεί σε ταχύτερη λειτουργική αποκατάσταση από την οξεία συμπτωματολογία και μειώνει την εμφάνιση σοβαρότερων νευρολογικών ελλειμάτων τις πρώτες εβδομάδες μετά την αγωγή αλλά είναι άγνωστο αν επιδρά θετικά σε μακροπρόθεσμο επίπεδο [10]. Σε περιπτώσεις υποτροπής με βαριά συμπτωματολογία που δεν αντιμετωπίζεται επαρκώς με τον πρώτο κύκλο κορτιζονοθεραπείας, τότε μπορεί να επιχειρηθεί και δεύτερος κύκλος με δόση μεθυλπρεδνιζολόνης έως 2 γραμμάρια ημερησίως για 5 ημέρες [5,11]. Επί εμμόνης της βαριάς συμπτωματολογίας και μετά το δεύτερο κύκλο υπάρχει και η επιλογή της πλασμαφαίρεσης [5,11]. Η ενδοφλέβια χορήγηση υπεράνοσης γ-σφαιρίνης σπάνια συμπεριλαμβάνεται στις θεραπευτικές επιλογές στην ΠΣ λόγω έλλειψης επαρκών δεδομένων [5].

Φυσικά όλες οι θεραπευτικές παρεμβάσεις θα πρέπει να πλαισιώνονται από έναν υγιεινό τρόπο ζωής, οι ασθενείς να διατηρούν καλή φυσική κατάσταση και να ασκούνται (χωρίς μεγάλες

προσπάθειες σε περίπτωση υποτροπής), να αποφεύγουν συνήθειες όπως το κάπνισμα και να τρέφονται υγιεινά, αποφεύγοντας επεξεργασμένα τρόφιμα [4].

ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ

Εισαγωγή-Ορισμός

Οι πρώτες αναφορές με τον όρο «βιοδείκτης» χρονολογούνται από τη δεκαετία του 1970 (συγκεκριμένα η πρώτη γνωστή αναφορά υπάρχει σε άρθρο του 1973) ενώ η ιδέα που πρεσβεύει ο όρος αυτός εμφανίστηκε λίγες δεκαετίες πιο πριν (από το 1949 υπάρχουν αναφορές για βιοχημικούς και βιολογικούς δείκτες) [32]. Υπάρχουν διάφοροι ορισμοί για τον όρο «βιοδείκτης» [32]. Ένας από τους επικρατέστερους είναι πως πρόκειται για «ένα αντικειμενικά μετρήσιμο και αξιολογήσιμο χαρακτηριστικό ενός οργανισμού που υποδεικνύει κάποιο φαινόμενο όπως μία φυσιολογική βιολογική διεργασία, παθολογικές διεργασίες ή φαρμακολογική απόκριση σε θεραπευτική παρέμβαση» [32,33,43,35]. Στην Ιατρική, οι βιοδείκτες χρησιμοποιούνται με κύριο σκοπό τη διάγνωση, πρόγνωση, πρόβλεψη μίας ασθένειας ή διαταραχής αλλά και για να αξιολογήσουν την έκθεση σε φάρμακα, τοξίνες, μολυσματικούς παράγοντες, τρόφιμα και άλλες ουσίες [33]. Ανάλογα με το στάδιο της νόσου, υπάρχουν βιοδείκτες που αποτελούν παράγοντες κινδύνου εμφάνισης μίας νόσου, βιοδείκτες που χρησιμοποιούνται στα πλαίσια προσυμπτωματικού ελέγχου για μία νόσο, βιοδείκτες που αποτελούν διαγνωστικά εργαλεία για μια νόσο, βιοδείκτες που χρησιμεύουν στη σταδιοποίηση και καθορισμό της βαρύτητας μίας νόσου ενώ τέλος άλλοι αποτελούν προγνωστικούς δείκτες μίας διαταραχής για την εξέλιξη, πορεία και ανταπόκριση στις θεραπευτικές παρεμβάσεις [34].

Οι βιοδείκτες μπορούν να χωριστούν σε τέσσερις μεγάλες κατηγορίες. Πρόκειται για **κλινικούς** (π.χ. δύσπνοια, μέτρηση αρτηριακής πίεσης), **μοριακούς** (χημικοί, πρωτεϊνικοί, γονιδιακοί, χρωμοσωμικοί), **κυτταρικούς** βιοδείκτες (τύπος κυττάρων, μορφολογία κυττάρων, παθολογοανατομικά ευρήματα σε έναν ιστό) αλλά και **απεικονιστικούς** βιοδείκτες [ευρήματα σε ακτινογραφίες, αξονικές τομογραφίες, Τομογραφίες εκπομπής ποζιτρονίων (PET-Positron Emission Tomography), μαγνητικές τομογραφίες κ.ά.] [32,33]. Για την αναζήτηση και ταυτοποίηση του κατάλληλου βιοδείκτη είναι σημαντική η πλήρης κατανόηση της παθοφυσιολογίας της νόσου, ενώ η σχέση του με τη διαταραχή θα πρέπει να ανταποκρίνεται κλινικά και να ταυτοποιηθεί και επισφραγιστεί μέσω περαιτέρω μελετών (ιδίως με καλά σχεδιασμένες τυχαιοποιημένες μελέτες) [32].

Στην καθημερινή κλινική πράξη οι βιοδείκτες χρησιμοποιούνται ευρέως από πολλές ιατρικές ειδικότητες. Μερικά μόνο παραδείγματα αποτελούν η χρήση προϊόντων καπνού και η εμφάνιση κακοήθειας του πνεύμονα, κλινικά χαρακτηριστικά όπως η συσχέτιση της δύσπνοιας με την καρδιακή ανεπάρκεια, εργαστηριακά ευρήματα όπως ο τίτλος των CD4+ T Λεμφοκυττάρων στην παρακολούθηση της λοίμωξης από τον HIV, η παρουσία ολιγοκλωνικών ζωνών στο ENY στην ΠΣ, απεικονιστικά ευρήματα όπως η χρήση μαγνητικής τομογραφίας και η παρουσία απομυελινωτικών εστιών στο ΚΝΣ στην ΠΣ κ.ά. [32]

Βιοδείκτες στην Νευρολογία

Η ταυτοποίηση βιοδεικτών στις νευρολογικές διαταραχές υστερεί συγκριτικά με άλλες παθήσεις και εμφανίζει αρκετά εμπόδια [36]. Κάποια από αυτά τα εμπόδια είναι η **διαθεσιμότητα ιστού** στο σημείο των βλαβών, τα **φτωχά κλινικά διαγνωστικά μέσα και η πρόοδος της νόσου** τη στιγμή της διάγνωσης, η **πολυπλοκότητα** του ΚΝΣ και η **έλλειψη λειτουργικών σημείων και μοντέλων** για επιβεβαίωση των ευρημάτων [36]. Πιο συγκεκριμένα, η φύση και η τοποθεσία του νευρικού ιστού και ιδιαίτερα του ΚΝΣ εντός του κρανίου και της σπονδυλικής στήλης είναι τέτοια, που καθίσταται σαφές ότι η άμεση πρόσβαση για επεξεργασία και ανάλυση του προσβεβλημένου ιστού δεν είναι εφικτή (στην πλειοψηφία τουλάχιστον των περιπτώσεων) και έτσι οι ιστολογικές αναλύσεις βασίζονται κυρίως σε μεταθανάτια δείγματα τα οποία υστερούν σε ποιότητα και απαιτούν ιδιαίτερες τεχνικές και συνθήκες χειρισμού. Επιπλέον, σε πολλές περιπτώσεις, τα κλινικά **διαγνωστικά μέσα** και κριτήρια που υπάρχουν για μία νόσο έχουν χαμηλή ευαισθησία και ειδικότητα με αποτέλεσμα να αλληλοεπικαλύπτονται κλινικές σημειολογίες και να είναι δύσκολη η κατηγοριοποίηση των ασθενών (ιδιαίτερα εμφανές ζήτημα στην περίπτωση της ΠΣ), ενώ πολλές φορές, λόγω της ιδιαιτερότητας κάποιων νευρολογικών νοσημάτων, το ιστορικό αντλείται από τρίτα άτομα με αποτέλεσμα να μειώνεται ακόμη περισσότερο η αξιοπιστία της διαγνωστικής διαδικασίας. Επιπλέον το ΚΝΣ είναι ένα **πολύπλοκο** σύστημα με αλληλεπιδράσεις νευρικών κυττάρων και νευρογλοίας και χαρακτηρίζεται από ανομοιογένεια όσο αφορά τις λειτουργίες και την έκφραση διαφόρων στοιχείων, σε αντίθεση με άλλα όργανα και ιστούς. Τέλος, πολλές φορές δεν είναι δυνατή η επιβεβαίωση ενός βιοδείκτη με την **αδυναμία αναπαραγωγής ενός φαινοτύπου in vivo ή in vitro και λόγω απουσίας ενός κατάλληλου και αξιόπιστου λειτουργικού και πειραματικού μοντέλου** στις περισσότερες νευρολογικές διαταραχές [36].

Παρ'όλα αυτά, τα τελευταία χρόνια έχει γίνει αλματώδης και αξιόλογη προσπάθεια, με τη χρήση νέων μεθόδων και τεχνολογιών, με σκοπό την ανεύρεση κατάλληλων βιοδεικτών για νευρολογικές νόσους [36, 37]. Δεδομένου ότι η ιστολογική εξέταση δειγμάτων από το ΚΝΣ είναι δύσκολη όσο αφορά τις νευροεκφυλιστικές παθήσεις, τόσο για διαγνωστικούς όσο και για ερευνητικούς σκοπούς, το επίκεντρο των ερευνών στράφηκε στην αναζήτηση βιοδεικτών σε βιολογικά υλικά-υγρά που μπορεί εύκολα να συλλεχθούν και να αναλυθούν [37,38,39]. Ένα από αυτά αποτελεί το ENY και το περιφερικό αίμα [37,38]. Το ENY είναι το πιο κοντινό στο ΚΝΣ [37] και έτσι περιέχει σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ουσίες που προέρχονται από αυτό, ενώ στο αίμα οι ουσίες αυτές ανιχνεύονται σε μικρότερες συγκεντρώσεις [38]. Η ανάλυση του ENY προς την κατεύθυνση ανίχνευσης βιοδεικτών χρησιμοποιήθηκε αρχικά κατά κόρον σε ασθενείς με νόσο Alzheimer και πλάγια μυατροφική σκλήρυνση (ALS – Amyotrophic Lateral Sclerosis) [38]. Παρ'όλα αυτά, η συλλογή ENY γίνεται με ΟΝΠ που αποτελεί μία σχετικά επεμβατική μέθοδο με τους ενδεχόμενους κινδύνους που φέρει (αν και συμβαίνουν σπάνια) και επομένως δεν διενεργείται με μεγάλη συχνότητα ούτε μπορεί να γίνεται συχνά σε έναν ασθενή στα πλαίσια παρακολούθησης και περιορίζεται μόνο στις απολύτως απαραίτητες περιπτώσεις [37,39]. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα την στροφή στη χρήση του αίματος ως βιολογικό υλικό για ανίχνευση βιοδεικτών [37,38]. Φυσικά η εξέλιξη των διαγνωστικών μέσω και κυρίως των απεικονιστικών μεθόδων όπως για παράδειγμα η χρήση της μαγνητικής τομογραφίας στην ΠΣ για ανεύρεση απομυελινωτικών εστιών, της αξονικής και μαγνητικής τομογραφίας στην αναζήτηση ατροφίας του εγκεφαλικού παρεγχύματος στις περιπτώσεις άνοιας και στον υπολογισμό του όγκου των υποκάμπειων περιοχών σε περίπτωση νόσου Alzheimer (μία από τις πιο μελετημένες νευρολογικές ασθένειες όσο αφορά την αναζήτηση βιοδεικτών), του DaTscan (είδος υπολογιστικής τομογραφίας εκπομπής μονήρους φωτονίου - single-photon emission computed tomography SPECT) στα πλαίσια διάγνωσης νόσου Parkinson κ.ά. προσέφεραν πολλά στις νευροεκφυλιστικές παθήσεις με ανάδειξη νέων απεικονιστικών βιοδεικτών [36, 37].

Η χρήση βιοδεικτών αποτελεί πλέον ένα από τα βασικά στοιχεία της κλινικής ιατρικής πράξης. Ένα παράδειγμα αποτελεί η **νόσος Alzheimer**, μία από τις περισσότερο μελετημένες παθήσεις όσο αφορά την αναζήτηση και χρήση βιοδεικτών στη νευρολογία [37,38]. Σε αυτήν, ένας συνδυασμός βιολογικών, απεικονιστικών και κλινικών παραμέτρων συμβάλλει στην πρόωμη ανίχνευση, στη διάγνωση, στον καθορισμό της ενδεχόμενης ανταπόκρισης στη θεραπεία, ακόμη και ως προγνωστικοί δείκτες [37]. Σε αυτούς περιλαμβάνονται **μεταλλάξεις** στα γονίδια που συμμετέχουν στην επεξεργασία της πρόωμης μορφής της πρωτεΐνης του αμυλοειδούς (amyloid precursor protein - APP) και στο σχηματισμό Αβ αμυλοειδούς (γονίδια APP, Presenilin 1 και

Presenilin 2) και στο γονίδιο της απολιποπρωτεΐνης E (APOE) [37], υπολογισμός **επιπέδων Αβ πεπτιδίων** στο ENY (κυρίως υπολογίζεται ο λόγος Αβ42/Αβ40 που είναι μειωμένος) [38], υπολογισμός **επιπέδων tau/p-tau** στο ENY και στο αίμα [38], υπολογισμός επιπέδων **νευροϊνιδίων** (δείκτης νευροεκφύλισης) [38], επίπεδα διαλυτής μορφής **TREM2** κλάσματος που βρίσκεται στην επιφάνεια μικρογλοιακών κυττάρων και είναι αυξημένος (δείκτης μικρογλοιακής ενεργοποίησης) [38], παρουσία **αμυλοειδικών πλακών και νευροϊνιδικών συσσωματωμάτων** (κυρίως σε πρωματικά παρασκευάσματα εγκεφάλου) [28], χρήση **PET Scan** για ανίχνευση αμυλοειδικών πλακών, **μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου** όπου φαίνεται ατροφία στις ιπποκάμπειες περιοχές κ.ά [37,38].

Η νόσος Parkinson χαρακτηρίζεται από απώλεια ντοπαμινεργικών νευρώνων στη μέλαινα ουσία που οφείλεται σε συγκέντρωση α-συνουκλεΐνης [38]. Κάποιοι από τους βιοδείκτες για τη νόσο αυτή είναι η ελάττωση των **επιπέδων της α-συνουκλεΐνης** στο ENY (στο αίμα είναι αυξημένο σε σχέση με το ENY επειδή εκκρίνεται και από τα ερυθρά αιμοσφαίρια), η αύξηση των επιπέδων των **νευροϊνιδίων** στο ENY και το αίμα, ευρήματα από απεικόνιση των βασικών γαγγλίων με **DaTscan, μεταλλάξεις** στο γονίδιο DJ-1 (PARK7), επίπεδα **ουρικού οξέος** στο αίμα κ.ά. [37,38]. Βιοδείκτες υπάρχουν για πολυάριθμες νευρολογικές ασθένειες όπως είναι η Πλάγια Μυατροφική σκλήρυνση, η μετωποκροταφική άνοια και πολλές άλλες [37,38].

Βιοδείκτες στην Πολλαπλή Σκλήρυνση

Η ΠΣ είναι μια φλεγμονώδης νευροεκφυλιστική νόσος που, όπως αναλύθηκε εκτενώς παραπάνω, ξεκινά με μία αρχική οξεία φλεγμονώδη φάση και συμπτωματολογία, συνήθως με μεσοδιαστήματα ηρεμίας και υποξείας φλεγμονής ενώ σταδιακά με την πάροδο των ετών οι ασθενείς εμφανίζουν διαταραχές λειτουργικότητας και αυξανόμενη αναπηρία. Για τη διάγνωση της νόσου πλέον υπάρχουν αρκετά αξιόπιστα κριτήρια (κλινικά, απεικονιστικά και εργαστηριακά) ενώ έχουν αναπτυχθεί και αρκετές θεραπευτικές επιλογές. Η κλινική ανταπόκριση των ασθενών όμως και οι κλινικές εκδηλώσεις της νόσου ποικίλλουν σε μεγάλο βαθμό με αποτέλεσμα να κρίνεται απαραίτητη η ανεύρεση των κατάλληλων βιοδεικτών που θα χρησιμεύσουν στην έγκαιρη διάγνωση της νόσου αλλά και ως προγνωστικοί και θεραπευτικοί δείκτες [38, 40].

Για την ΠΣ είναι διαθέσιμος και χρησιμοποιείται μικρός αριθμός βιοδεικτών στην κλινική πράξη, όπως είναι η παρουσία **ολιγοκλωνικών ζωνών** στο ENY και ο δείκτης ανοσοσφαιρίνης (**IgG Index**) (χρήση στη διαγνωστική διαδικασία της νόσου αλλά και στην έγκαιρη διάγνωση

του CIS ως βέβαιη ΠΣ), η παρουσία αντισωμάτων έναντι ακουαπορίνης-4 (**anti-AQP4**) στον ορό (για διαφοροδιαγνωστικούς λόγους για πιθανή NMOSD), η παρουσία **αντισωμάτων ένα του ιού JCV** (John-Cunningham) στον ορό (παρακολούθηση ασθενών, ιδίως αυτών υπό αγωγή με natalizumab, για τον κίνδυνο εμφάνισης προοδευτικής πολυεστιακής λευκοεγκεφαλοπάθειας - Progressive Multifocal Leukoencephalopathy PML) [41] και η απεικόνιση απομυελινωτικών βλαβών με μαγνητική τομογραφία [42]. Έτσι λοιπόν γίνεται σαφής η ανάγκη ανεύρεσης νέων δεικτών.

Πιθανά δείγματα προς αναζήτηση τέτοιων βιοδεικτών αποτελούν **μεταθανάτια** δείγματα του ΚΝΣ με ανάλυση για παράδειγμα γονιδιακών ή και πρωτεϊνικών παραγόντων, το **εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY)** που έρχεται σε άμεση επαφή με το ΚΝΣ καθώς και το **αίμα** δεδομένου ότι είναι εύκολο στη λήψη του με μη παρεμβατικό τρόπο και μπορεί να ληφθεί στα πλαίσια παρακολούθησης των ασθενών σε πολλαπλά στιγμιότυπα (οι ασθενείς με ΠΣ έχουν αυξημένη διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού και επομένως ουσίες από το ΚΝΣ διαφεύγουν προς την κυκλοφορία) [40]. Επίσης έχουν χρησιμοποιηθεί ακόμη και δείγματα **σιέλου** για αναζήτηση βιοδεικτών [43].

Ιδανικοί βιοδείκτες αποτελούν μετρήσιμα-υπολογίσιμα στοιχεία που υπάρχουν σε ασθενείς και απουσιάζουν από τους υγιείς (ή αντίστροφα), που αυξομειώνονται ανάλογα με την πρόοδο και ενεργότητα της νόσου και που ανευρίσκονται εύκολα και με ασφαλή τρόπο δειγματοληψίας από τους ασθενείς (όσο το δυνατόν λιγότερο παρεμβατικά) [43].

Μοριακοί βιοδείκτες στην ΠΣ που στοχεύουν στη **διάγνωση και διαφορική διάγνωση της νόσου** από άλλες παθήσεις αποτελούν οι παρακάτω [44]:

- Οι **ολιγοκλωνικές ζώνες**, είναι ζώνες ανοσοσφαιρινών (κυρίως IgG και IgM) που ανιχνεύονται με τη μέθοδο της ισοηλεκτρικής εστίασης στο ENY (απουσιάζουν από τον ορό) και παράγονται από πλασματοκύτταρα εντός του ΚΝΣ. Σχεδόν όλοι οι ασθενείς (έως και 95%) παρουσιάζουν ολιγοκλωνικές ζώνες στο ENY, αλλά η παρουσία αυτών ανιχνεύεται και σε άλλες φλεγμονώδεις νόσους του ΚΝΣ. Ο βιοδείκτης αυτός αποτελεί όμως ένα από τα διαγνωστικά κριτήρια της ΠΣ (κριτήρια McDonald 2017) και έναν από τους πλέον θεσπισμένους βιοδείκτες της νόσου [44].
- Ο **IgG Index** υπολογίζεται από τον λόγο IgG ENY/ορού προς τον λόγο αλβουμίνη ENY/ορού και αποτελεί έναν δείκτη για τη διαπερατότητα και διάσπαση του αιματοεγκεφαλικού φραγμού και χρησιμοποιείται ως δείκτης ενδοθηλικής παραγωγής ανοσοσφαιρινών. Είναι επίσης ένας από τους θεσπισμένους βιοδείκτες της νόσου (είναι αυξημένος στο 70% των ασθενών με ΠΣ) [44].

- Η ανίχνευση **αντισωμάτων έναντι των ιών της ιλαράς, ερυθράς και του έρπητα ζωστήρα (VZV)** στο ENY είναι συχνότερη σε ασθενείς με ΠΣ (70-80%) και συμβάλει ακόμη και στη διάγνωση της νόσου σε αυτούς με CIS [42,44]. Επίσης και αντισώματα έναντι του πυρηνικού αντιγόνου του ιού Ebstein Barr (**EBNA-1**) και έναντι του **ιού του απλού έρπητα** έχουν φανεί να είναι αυξημένα σε ασθενείς με ΠΣ [42].
- Η παρουσία αντισωμάτων έναντι της ακουαπορίνης 4 (**anti-AQP4**) (κανάλι νερού στην επιφάνεια των αστροκυττάρων) υποδεικνύει NMOSD και έτσι χρησιμοποιείται ως διαφοροδιαγνωστικός δείκτης [44].
- Αντισώματα έναντι της γλυκοπρωτεΐνης της μυελίνης των ολιγοδενδροκυττάρων (**anti-MOG**) ανιχνεύονται κυρίως σε άλλες φλεγμονώδεις νόσους του ΚΝΣ όπως η οξεία διάσπαρτη εγκεφαλομυελίτιδα (acute disseminated encephalomyelitis - ADEM) στα παιδιά [44], οπότε χρησιμοποιείται για διαφοροδιαγνωστικούς λόγους. Υπάρχει διαφωνία και αμφιβολία για τη χρήση αυτού του βιοδείκτη στους ενήλικες [41] αλλά φαίνεται να χρησιμεύει για τη διάγνωση NMOSD στις περιπτώσεις των ενηλίκων [41, 44].
- Τα **αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA)** (και τα anti-dsDNA σε περίπτωση θετικού τίτλου ANA) αποτελούν διαφοροδιαγνωστικό δείκτη και χρησιμοποιούνται για την ενδεχόμενη παρουσία ΣΕΛ [44].
- Στα πλαίσια της διαφορικής διάγνωσης περιλαμβάνεται κι η αναζήτηση, κατά περίπτωση, **αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων** (αντισώματα έναντι α-καρδιολιπίνης και β2-γλυκοπρωτεΐνης) (αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο), **άλλων αυτοαντισωμάτων** (pANCA, cANCA για αγγειΐτιδες), **επιπέδων B12** (για πιθανή προσβολή του ΚΝΣ λόγω έλλειψης της βιταμίνης αυτής) κ.ά. [45]

Άλλοι βιοδείκτες που βρίσκονται υπό μελέτη είναι:

- Ο **επιδερμικός και ηπατοκυτταρικός αυξητικός παράγοντας, η εοταξίνη/CCL4 και η φλεγμονώδης πρωτεΐνη των μακροφάγων/CCL11** ως πιθανοί βιοδείκτες στο αίμα για τη διάγνωση των διάφορων μορφών ΠΣ [41]
- **Μη κωδικοποιησιμα microRNA** στο αίμα για έγκαιρη διάγνωση του CIS ως RRMS (απαιτείται μεγαλύτερο δείγμα μελέτης και έρευνα) [42,44] και η παρουσία **sCD163** (διαλυτή μορφή του CD163 που βρίσκεται στην επιφάνεια μονοκυττάρων και μακροφάγων και απελευθερώνεται μετά την ενεργοποίησή τους) σε ορό και ENY (αμφιλεγόμενα αποτελέσματα) [42].

- Άλλοι παράγοντες στον ορό που χρήζουν επιβεβαίωση και περαιτέρω μελέτη όπως τα αντισώματα έναντι του διαύλου καλίου **KIR4.1 (anti KIR4.1)** και τα επίπεδα της **24υδροξυχοληστερόλης** (έχουν φανεί χαμηλά επίπεδα στην ΠΣ) [41].
- Τα επίπεδα της βασικής πρωτεΐνης τη μυελίνης (**MBP**) έχουν φανεί σε μικρές μελέτες να είναι μειωμένα στον ορό αλλά και σε δείγμα σιέλου, δείγμα με πολύ εύκολη πρόσβαση σε αυτό [43].
- Σε πρόσφατες μελέτες φάνηκε και η χρήση του νευροτροφικού παράγοντα **BDNF** (Brain Derived Neurotrophic Factor) και της διαλυτής μορφής του υποδοχέα της **IFNβ (sIFNAR2)** ως πιθανοί βιοδείκτες για τη διάγνωση της νόσου [45]
- Η οστεοποντίνη (**OPN**) είναι ένας δείκτης πρόωμης ενεργοποίησης Τ Λεμφοκυττάρων, εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στις περιοχές των βλαβών και έχει βρεθεί αυξημένος τόσο στο αίμα όσο και στο ENY σε ασθενείς με ΠΣ [42].

Μοριακοί βιοδείκτες στην ΠΣ που αποτελούν *προγνωστικές παραμέτρους* όσο αφορά την εξέλιξη και ενεργότητα της νόσου αποτελούν οι παρακάτω [44]:

- Οι **ολιγοκλωνικές ζώνες** (κυρίως οι IgG) στο ENY παίζουν και σε αυτή τη περίπτωση σπουδαίο ρόλο καθώς βοηθούν στην έγκαιρη διάγνωση ενός CIS ως RRMS ενώ υπάρχουν και λίγα στοιχεία ότι βοηθά στην πρόγνωση της μετάπτωσης του RIS σε CIS [44].
- Η πρωτεΐνη **chitinase-3-like1 (CHI3L1)** είναι μία γλυκοσιδάση που εκκρίνεται από μονοκύτταρα, μικρογλοιακά κύτταρα και ενεργοποιημένα αστροκύτταρα. Αυξημένα επίπεδα στο αίμα ανιχνεύονται και σε άλλες φλεγμονώδεις καταστάσεις (π.χ. ρευματοειδή αρθρίτιδα) [42] αλλά υπάρχουν ενδείξεις ότι πιθανών να μπορεί να αποτελέσει παράγοντα κινδύνου (κυρίως όταν μετριέται στο ENY) για τη μετάπτωση ενός CIS σε RRMS αλλά και ως κακό προγνωστικό δείκτη για τη βαρύτητα της νόσου αν ανιχνευτεί σε αυξημένα επίπεδα στο ENY [42,44]. Επίσης ασθενείς με CIS και αυξημένα επίπεδα **CHI3L1** αλλά και **CHI3L2** έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο αλλά και γρηγορότερη εξέλιξη σε βέβαιη ΠΣ [41,42].
- Τα **νευροϊνίδια (NF – Neurofilament)**, στοιχεία του αξονικού σκελετού του νευρικού κυττάρου, έχουν βρεθεί αυξημένα στο αίμα και στο ENY και συσχετίζονται με αξονική βλάβη και ενεργότητα νόσου. Τα επίπεδα των νευροϊνιδίων αυξάνονται σε υποτροπές της νόσου. Ακόμη, έχουν ανιχνευτεί και **αντισώματα έναντι νευροϊνιδίων** τα οποία έχουν

φανεί να αποτελούν προγνωστικό βιοδείκτη και συσχετίζονται με το φορτίο T2 απομυελινωτικών εστιών [41,42]. (θα αναλυθεί παρακάτω)

- Επιπλέον ένας άλλος βιοδείκτης αποτελεί η πρωτεΐνη **GFAP** (Glial fibrillary acidic protein), ένα συστατικό στοιχείο ενδιάμεσων ινιδίων στα αστροκύτταρα. Αυτή απελευθερώνεται σε βλάβη των αστροκυττάρων και στην αστρογλοΐωση και φαίνεται να είναι αυξημένη στο ENY (αλλά και στον ορό) [46] σε ασθενείς με μειωμένη κινητικότητα και αυξημένη ενεργότητα και εξέλιξη της νόσου [42]. (θα αναλυθεί παρακάτω)
- Διάφορες χημειοκίνες έχουν μελετηθεί ως πιθανοί προγνωστικοί βιοδείκτες. Ένας αρκετά μελετημένος είναι η χημειοκίνη C-X-C Motif Ligand 13 (**CXCL13**) όπως και ο δείκτης CXCL13 (δείκτης για ενδοθηκική παραγωγή CXCL13). Αυτή φάνηκε να είναι αυξημένη στο ENY ασθενών με ενεργή μορφή της νόσου (δείκτης ενεργότητας) και σε ασθενείς με CIS που θα εξελιχθεί σε βέβαιη νόσο [41,47].
- Η παρουσία **αυτοδραστικών έναντι της μυελίνης T λεμφοκυττάρων** στην περιφέρεια (έχει αρκετούς περιορισμούς) [42]
- Η ανεπάρκεια και έλλειψη **βιταμίνης D** (25 υδροξύβιταμίνη D) έχει χαρακτηριστεί ως παράγοντας κινδύνου για την διάγνωση ΠΣ μετά από CIS [41,42].
- Βιοδείκτης για τη βαρύτητα της νόσου σε διάφορες μελέτες έχει φανεί και η αποπτωτική πρωτεΐνη Fas (**sFas**) σε ασθενείς με επιδείνωση της κλινικής εικόνας και αύξηση της κλίμακας EDSS. Επίσης διάφορα **μόρια ποσκόλλησης** (sP σελεκτίνη, sE σελεκτίνη κ.ά), μεταλλοπρωτεάσες και το μονοξείδιο του αζώτου μελετώνται για τη συσχέτιση με ενεργότητα της νόσου [41].
- Οι διάφορες μορφές **χοληστερόλης και τα τριγλυκερίδια** στο αίμα ίσως συσχετίζονται με την ενεργότητα της νόσου (τριγλυκερίδια, LDL και ολική CHOL με αυξημένη ενεργότητα νόσου και HDL με χαμηλή ενεργότητα) (δυσκολία όμως στη χρήση και αξιολόγησή τους ως βιοδείκτη) [41].
- Επίσης διάφορα **μικρόβια και λιπίδια του μικροβιώματος** συσχετίζονται με τη νόσο κυρίως από ευρήματα από πειραματικά ζωικά μοντέλα [42].

Μοριακοί βιοδείκτες στην ΠΣ που αποτελούν **θεραπευτικούς δείκτες** όσο αφορά την ανταπόκριση στη θεραπεία και ενδεχόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες αποτελούν οι παρακάτω [44]:

- Ένας δείκτης που υποδεικνύει χαμηλή ανταπόκριση στη θεραπεία με IFN στην RRMS είναι η παρουσία **αντισωμάτων έναντι IFNβ** [41]. Αυτό συμβαίνει συνήθως εντός των δύο πρώτων ετών της θεραπείας με IFN, με αποτέλεσμα να συστήνεται αλλαγή της θεραπείας εάν παραμένουν θετικά 3 με 6 μήνες μετά [44].
- Εξουδετερωτικά αντισώματα μπορεί να σχηματιστούν και **έναντι του natalizumab**, συνήθως στους 3 πρώτους μήνες θεραπείας, μειώνοντας έτσι την αποτελεσματικότητά της [44]. Ο δείκτης όμως αυτός έχει περιορισμένη χρήση στην κλινική πράξη [41]
- Τα **νευροϊνίδια** μπορεί επίσης να αποτελούν δείκτες για την θεραπευτική ανταπόκριση στην αγωγή με μείωση του επιπέδου αυτών στο ENY [44]. (θα αναλυθεί παρακάτω)
- Ακόμη έχει φανεί από μελέτες πως η χημειοκίνη **CXCL13** μειώνεται στο ENY με κάποιες θεραπείες (π.χ. φινγκολιμόδη, natalizumab) αλλά δεν χρησιμοποιείται ακόμη στην κλινική πράξη [44].
- Τα επίπεδα των **αντισωμάτων του ιού του έρπητα ζοστήρα** στο αίμα αποτελούν θεσπισμένο βιοδείκτη όσο αφορά ανεπιθύμητες ενέργειες σε διάφορες θεραπείες έναντι της νόσου. Κυρίως αφορά τον έλεγχο πριν από την έναρξη θεραπείας με φινγκολιμόδη, alemtuzumab και κλαδριβίνη σε ασθενείς χωρίς ιστορικό ανεμοβλογιάς (ή εμβολιασμού έναντι του ιού) για να αποκλειστεί η πιθανότητα αναζωπύρωσης του ιού [44].
- Ο έλεγχος **αντισωμάτων έναντι του ιού JCV** (john Cunningham) και τα χαμηλά επίπεδα **L-σελεκτίνης** στα CD4+ Λεμφοκύτταρα αποτελεί παράγοντα κινδύνου για PML σε άτομα που λαμβάνουν natalizumab [44].
- Υψηλά επίπεδα ιντερλευκίνης 1 (**IL-1**) πριν την έναρξη θεραπείας με IFNβ φάνηκε να συνδέονται με πτωχή ανταπόκριση σε αυτή [41].
- Εν δυνάμει βιοδείκτης αποτελεί και ο παράγοντας ενεργοποίησης των Β Λεμφοκυττάρων (B Cell activating factor - **BAFF**) [41].

Επιγραμματικά, κάποιοι απεικονιστικοί βιοδείκτες, στους οποίους δεν θα γίνει εκτενής αναφορά στην παρούσα εργασία, αποτελούν **ευρήματα μαγνητικής τομογραφίας** και κυρίως ο αριθμός απομυελινωτικών εστιών με ή χωρίς πρόσληψη παραμαγνητικής ουσίας (αποτελούν δείκτες διαγνωστικούς, ενεργότητας αλλά και δεικτές για την ανταπόκριση στην αγωγή). Επίσης έχει φανεί ως πιθανός προγνωστικός βιοδείκτης βαρύτητας η ατροφία της φαιάς ουσίας του εγκεφάλου [41] όπως και άλλοι δείκτες που απαιτούν περαιτέρω μελέτη (π.χ. μεταβολή του όγκου του εγκεφάλου, λεπτομηνιγγικός εμπλουτισμός κ.ά) [48]. Η μείωση του πάχους του αμφιβληστροειδούς όπως απεικονίζεται με **OCT** (Optical Coherence Tomography) φαίνεται να συσχετίζεται με αξονική βλάβη, νευροεκφύλιση και τη βαρύτητα της νόσου [49].

Η λίστα των υπό μελέτη βιοδεικτών δεν σταματά φυσικά εδώ αλλά αναφέρθηκαν κάποιοι μόνο από τους πιο γνωστούς.

Παρακάτω θα αναλυθούν οι δύο βιοδείκτες που αποτελούν κύριο σημείο εστίασης της παρούσας ανασκόπησης, τα **νευροϊνίδια** και η πρωτεΐνη **GFAP**.

Τα Νευροϊνίδια ως βιοδείκτης στην πολλαπλή σκλήρυνση

Τα νευροϊνίδια (NF) αποτελούν στοιχεία του κυτταρικού σκελετού των νευρικών κυττάρων και ιδίως των νευραξόνων. Αυτά παρέχουν δομική στήριξη στα κύτταρα αλλά συμβάλλουν και στη διατήρηση του μεγέθους και σχήματος των νευραξόνων. Ανήκουν στην οικογένεια των ενδιάμεσων ινιδίων και αποτελούνται από 3 επιμέρους υπομονάδες, την ελαφρά (NF light chain – **NF-L**), μέσου μεγέθους (NF Medium – **NF-M**) και βαριά άλυσσο (NF Heavy - **NF-H**). Τα NF, μετά από βλάβη των νευραξόνων στο ΚΝΣ, απελευθερώνονται στο ΕΝΥ με αποτέλεσμα να αποτελούν υποψήφιους δείκτες νευρωνικής-αξονικής βλάβης. Η πιο συχνά μετρήσιμη υπομονάδα των NF, ως βιοδείκτη, αποτελεί η ελαφρά άλυσος – NFL. Αρχικά τα NF μελετήθηκαν και αξιολογήθηκαν ως δείκτες νευροεκφύλισης στη νόσο Alzheimer και την πλάγια μυατροφική σκλήρυνση (ALS) και εξακολουθούν να μελετώνται για διάφορες νευρολογικές παθήσεις όπως το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, η μετωποκροταφική άνοια, η ΠΣ κτλ. Τα επίπεδά τους αυξάνονται σε διάφορες νευρολογικές παθήσεις και εξαρτώνται και από την ηλικία. Παρ'όλα αυτά αποτελούν χρήσιμο βιοδείκτη και εργαλείο σε αυτές όπως και στην ΠΣ [50].

Όσο αφορά την ΠΣ, φαίνεται πως η μέτρηση των επιπέδων της NFL (στο ΕΝΥ αλλά και στο αίμα) αποτελεί βιοδείκτη τόσο για διαγνωστικούς όσο και για προγνωστικούς αλλά και θεραπευτικούς σκοπούς. Υπάρχουν δεδομένα στα οποία τα επίπεδα της NF φάνηκαν αυξημένα σε ασθενείς με RRMS, σε ασθενείς με συχνές υποτροπές και βαριά κλινική εικόνα και αναπηρία όπως και σε αυτούς που δεν ανταποκρινόταν επαρκώς στη θεραπεία. Τα επίπεδα βρέθηκαν μειωμένα σε ασθενείς με χαμηλή ενεργότητα νόσου (τόσο απεικονιστικά όσο και κλινικά), σε ασθενείς που έλαβαν για πρώτη φορά αγωγής και σε ασθενείς που έλαβαν 2^{ης} και 3^{ης} γραμμής θεραπείες. Η NFL προτείνεται τα τελευταία χρόνια και ως πιθανός δείκτης (μιας και τα επίπεδά της στο αίμα αντικατοπτρίζουν την εξέλιξη της νόσου και συσχετίζονται με αυτά στο ΕΝΥ) για παρακολούθηση της ενεργότητας της νόσου, ανταπόκρισης στην αγωγή ακόμη και για προσυμπτωματικό έλεγχο [38]. Έχει συσχετιστεί επίσης με την απεικονιστική βαρύτητα της νόσου και συγκεκριμένα με νέες εστίες, εστίες που προσλαμβάνουν παραμαγνητική ουσία,

φλοϊκές εστίες, όγκο και ατροφία του εγκεφάλου κ.ά [51][52]. Τα επίπεδα της NFL φαίνεται να χρησιμεύουν και για τον υπολογισμό της πιθανότητας μετάπτωσης επεισοδίου οπτικής νευρίτιδας [50] αλλά και RIS [51] σε βέβαιη ΠΣ [50,51]. Επιπρόσθετα υπάρχουν στοιχεία που συσχετίζουν τα επίπεδα NFL με αυξημένο κίνδυνο για υποτροπή της νόσου, ακόμη και σε αυτούς με CIS, ως επιπρόσθετος παράγοντας συνδυαστικά με τις ολιγοκλωνικές ζώνες και τα απεικονιστικά ευρήματα [51]. Η NFH έχει επίσης μελετηθεί και φαίνεται να συσχετίζεται με την EDSS (βαρύτητα-ενεργότητα) και τις εξάρσεις σε ασθενείς με RRMS και CIS αλλά η NFL είναι πιο αξιόπιστος βιοδείκτης. [50].

Όσο αφορά την καθιέρωση της NFL ως αξιόπιστο βιοδείκτη για τη νόσο, υπάρχουν βέβαια και κάποιιοι περιορισμοί. Η NFL δεν είναι ειδική για μία νόσο και τα επίπεδά της επηρεάζονται από παράγοντες όπως το βάρος, η αρτηριακή υπέρταση, ο σακχαρώδης διαβήτης κ.ά. Επίσης τα επίπεδά της αυξάνονται και σε άλλες νευρολογικές παθήσεις και πολλές φορές παραμένουν αυξημένα για μεγάλο διάστημα, οπότε μία μέτρηση μπορεί να είναι αναξιόπιστη. Τέλος, επειδή η μέτρηση γίνεται στο αίμα, η συγκέντρωσή της επηρεάζεται από αλλαγές στον όγκο αυτού [53].

Η πρωτεΐνη GFAP ως βιοδείκτης στην πολλαπλή σκλήρυνση

Η πρωτεΐνη GFAP αποτελεί μία μονομερή ενδιάμεση ινιδική πρωτεΐνη που εκφράζεται αποκλειστικά από ώριμα αστροκύτταρα στο ΚΝΣ και υπάρχει μέσα στο κυτταρόπλασμα αυτών [54]. Έχει πολυάριθμες λειτουργίες. Συμβάλλει στην δομική υποστήριξη και στη διατήρηση του μεγέθους και σχήματος του αστροκυττάρου, στη μετακίνηση και μετανάστευση του αστροκυττάρου, στην διατήρηση του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, στην προστασία πυραμιδικών κυττάρων, επικοινωνία αστροκυττάρου-νευρώνα κ.ά [55]. Αστροκυττάρωση, δηλαδή αυξημένος πολλαπλασιασμός αστροκυττάρων, συμβαίνει συνήθως μετά από βλάβη και καταστροφή αυτών (π.χ. τραυματισμός, νευροεκφυλιστική νόσος, γενετική νόσο κ.ά) και συνοδεύεται από αύξηση των επιπέδων της GFAP. Έχει προταθεί ως πιθανός βιοδείκτης λόγω της άμεσης απελευθέρωσης αυτού μετά την καταστροφή αστροκυττάρων και στην περίπτωση αστροκυττάρωσης. [54] και έχει μελετηθεί σε παθήσεις όπως η νόσος Alzheimer, η νόσος Parkinson κ.ά.[55].

Τα αστροκύτταρα στην ΠΣ επηρεάζονται και υφίστανται βλάβες με αποτέλεσμα να αυξάνεται ο πολλαπλασιασμός τους και επομένως και η έκφραση και παραγωγή GFAP [38]. Όπως και τα νευροϊνίδια, έτσι και η GFAP μελετήθηκε αρχικά στο ENY, ενώ τα τελευταία χρόνια και στο αίμα. Η πρωτεΐνη αυτή δεν φαίνεται να αυξάνεται σε υποτροπή της νόσου σε αντίθεση με τα

NF. Από την άλλη, η GFAP αυξάνεται περισσότερο σε προοδευτικές μορφές της νόσου (PMS) συγκριτικά με την RRMS και του υγείας [51], ενώ φαίνεται πως συγκριτικά με τους υγείας υπάρχει σε αυξημένα επίπεδα στο αίμα στην ΠΣ [56]. Όσο αφορά τη συσχέτιση με την ενεργότητα της νόσου και την απεικονιστική και κλινική βαρύτητα, φαίνεται πως η GFAP είναι αυξημένη σε ασθενείς με μεγαλύτερη αναπηρία (όπως υπολογίζεται με την κλίμακα EDSS) όπως και σε ασθενείς με αυξημένο φορτίο βλαβών και ατροφίας στη μαγνητική τομογραφία [56]. Επίσης, σε αντίθεση με τα NF, δεν μειώνεται ως απάντηση στη θεραπεία με natalizumab ή rituximab πιθανότατα, πιθανότατα επειδή καμία θεραπεία δεν απευθύνεται στα αστροκύτταρα και έτσι αυτά συνεχίζουν να βλάπτονται [38,51]. Έτσι συνδυαστικά με τα NF θα μπορούσε να χρησιμεύει για την διαφοροποίηση της PMS από RRMS αλλά και για αξιολόγηση της εξέλιξης και ενεργότητας της νόσου [51].

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ

Η ΠΣ είναι μία νόσος που έχει κεντρίσει το ερευνητικό ενδιαφέρον με αποτέλεσμα τον ολοένα και αυξανόμενο σχεδιασμό μελετών που αφορούν τη νόσο αυτή. Τα αδιευκρίνιστα παθοφυσιολογικά της μονοπάτια καθώς και η προοδευτική εμφάνιση λειτουργικών ελλειμμάτων και αναπηρίας στην μακρόχρονη πορεία της (ακόμη και σε νεαρούς ενήλικες), έθεσαν τα θεμέλια για την μελέτη της νόσου αυτής σε μεγαλύτερο βαθμό. Εστιάζοντας στο θέμα της παρούσας εργασίας, σήμερα για την ΠΣ υπάρχει μικρός αριθμός διαθέσιμων βιοδεικτών τόσο διαγνωστικών όσο και προγνωστικών και θεραπευτικών. Έτσι ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας για τους διαθέσιμους, υπό μελέτη και πιθανούς βιοδείκτες που υπάρχουν για τη νόσο αυτή, εστιάζοντας στα βιβλιογραφικά δεδομένα που υπάρχουν για τη χρήση της μέτρησης των επιπέδων των νευροϊνιδίων (NFL) και της πρωτεΐνης GFAP (Glial Fibrillary Acidic Protein) (σε ορό ή και ENY) προς την κατεύθυνση αυτή. Στα πλαίσια αυτής της ανασκόπησης θα συμπεριληφθούν κλινικές μελέτες που διερεύνησαν τη χρήση των NFL και GFAP ως βιοδείκτες στην ΠΣ.

ΜΕΘΟΔΟΣ

Τα άρθρα που συμπεριλήφθηκαν και αναλύθηκαν στην ανασκόπηση αυτή προήλθαν από αναζήτηση στη μηχανή αναζήτησης PubMed. Η μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε διαιρέθηκε σε δύο επιμέρους σκέλη, το ένα αφορούσε την πρωτεΐνη GFAP και το άλλο τα NFL. Ημερομηνία αναζήτησης ήταν η 19^η Φεβρουαρίου του 2022.

Στο **πρώτο** σκέλος, έγινε αναζήτηση άρθρων που περιλάμβαναν, στον τίτλο ή την περίληψη αυτών, τους όρους “GFAP” ή “Glial Fibrillary Acidic Protein» και “Multiple Sclerosis”. Ως κριτήρια επιλογής και φίλτρα στην αναζήτηση τέθηκαν “κλινικές μελέτες” σε “ανθρώπινα μοντέλα” χωρίς χρονικό περιορισμό της ημερομηνίας δημοσίευσης. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν ήταν 6 (έξι) σε αριθμό. Από αυτά απορρίφθηκαν 3 (τρεις) μελέτες, οι 2 εκ των οποίων δεν ικανοποιούσαν τον σκοπό της παρούσας εργασίας (είτε θεωρούσαν δεδομένη τη χρήση της GFAP ως βιοδείκτη στην ΠΣ έχοντας διαφορετικό σκοπό είτε δεν συσχέτιζαν τα επίπεδα αυτής ως βιοδείκτη στη νόσο – χωρίς συσχέτιση με κάποιο κλινικό/απεικονιστικό/εργαστηριακό δεδομένο για τη νόσο) ενώ η 1 (μία) δεν θεωρήθηκε σχετική καθώς μελετούσε επίπεδα άλλων ουσιών-μορίων στην ΠΣ. Άρα συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη 3 (τρία) άρθρα - μελέτες.

Στο **δεύτερο** σκέλος χρησιμοποιήθηκαν ως όροι αναζήτησης οι όροι “Neurofilament” και “Multiple sclerosis”, που υπήρχαν στον τίτλο ή περίληψη άρθρων. Ως επιπλέον κριτήρια χρησιμοποιήθηκε η παρουσίαση αποτελεσμάτων που αφορούσε “κλινικές μελέτες” σε “ανθρώπινα μοντέλα” με “ημερομηνία δημοσίευσης την τελευταία πενταετία (από το 2017 και μετά)”. Από την αναζήτηση αυτή προέκυψαν 25 αποτελέσματα. Από αυτά απορρίφθηκαν 7 (επτά) καθώς είτε χρησιμοποιούσαν τα NFL ως δεδομένο βιοδείκτη της νόσου και δεν πληρούσαν το σκοπό της παρούσας εργασίας είτε δεν συσχέτιζαν τις τιμές αυτών με κάποιο δεδομένο σχετικό με τη νόσο (π.χ. που να αφορά τη διάγνωση, την πρόγνωση, τη θεραπεία κτλ.) και έτσι θεωρήθηκαν μη σχετικά. Έτσι, 18 (δεκαοκτώ) άρθρα-μελέτες συμπεριλήφθηκαν στην εργασία.

Συνολικά και από τις δύο αναζητήσεις, τα άρθρα – μελέτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 21 (είκοσι ένα).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Πρωτεΐνη GFAP (Glial Fibrillary Acidic Protein) ως πιθανός βιοδείκτης στην πολλαπλή σκλήρυνση

Όσο αφορά την πρωτεΐνη GFAP ως βιοδείκτη στη νόσο, όπως προαναφέρθηκε, συμπεριλήφθηκαν 3 (τρία) άρθρα στην παρούσα εργασία [παρουσιάζονται περιληπτικά στον πίνακα 1]. Η πρώτη μελέτη χρονολογείται το 1994-1995 [57] και διενεργήθηκε στη Σουηδία από τους **Rosengren L.E. et al.** Στην έρευνα αυτή, συμμετείχαν 13 ασθενείς με RRMS ή με ΠΣ που υποστηρίζεται από εργαστηριακά ευρήματα, ηλικίας 23-43 ετών, που βρισκόταν σε ύφεση της νόσου. Οι ασθενείς αυτοί επιλέχθηκαν από άλλη τυχαιοποιημένη έρευνα που μελετούσε τη χρήση ακυκλοβίρης στη νόσο και έτσι από αυτούς οι 7 λάμβαναν ακυκλοβίρη (800mg 3 φορές ημερησίως για 2 έτη) και οι 6 λάμβαναν εικονικό φάρμακο. Ως ομάδα ελέγχου επιλέχθηκαν 5 άτομα αντίστοιχης ηλικίας (28-44 ετών), χωρίς ιστορικό νευρολογικής νόσου και με φυσιολογική νευρολογική κλινική εξέταση. Οι συμμετέχοντες υποβλήθηκαν σε κλινική εξέταση στην έναρξη της μελέτης και έπειτα ανά 4 μήνες με υπολογισμό της κλίμακα RFSS (regional functional scoring system - κλίμακα για μέτρηση λειτουργικών ελλειμμάτων) καθώς και σε ONPI με μέτρηση των επιπέδων της GFAP στο ENY στην έναρξη και έπειτα κάθε 4 μήνες (εκτός 3 περιπτώσεων που έγινε πιο λίγες φορές). Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν να προσδιοριστεί η αστροκυτταρική αντίδραση και η παρακολούθηση της επίδρασης της ακυκλοβίρης στη γλοιακή αυτή αντίδραση, μέσω μέτρησης των επιπέδων της πρωτεΐνης GFAP στο ENY των συμμετεχόντων. Από τις αναλύσεις αυτές, προέκυψε πως τα επίπεδα της GFAP στο ENY ήταν μεγαλύτερα στην ομάδα των ασθενών με ΠΣ (μέση τιμή 386 +/- 169 pg/ml) συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου (μέση τιμή 142 +/- 26 pg/ml) ($p < 0.001$) με τα επίπεδα να αυξάνονται με την πάροδο του χρόνου στην ομάδα των ασθενών ($p < 0.001$) (πιθανή δηλαδή χρήση της GFAP στο ENY ως διαγνωστικό δείκτη). Η κλινική εικόνα των ασθενών επιδεινώθηκε με αύξηση της κλίμακας RFSS (2.6 +/- 1.8 στην έναρξη και 6.2 +/- 4.5 στα 2 έτη με $p < 0.01$), ενώ 3 ασθενείς με RRMS στη διάρκεια των 2 ετών εμφάνισαν προοδευτική μορφή της νόσου με μεγαλύτερα επίπεδα GFAP στο ENY στο τέλος της μελέτης συγκριτικά με τους ασθενείς με RRMS (593 +/- 274 pg/ml και 428 +/- 237 pg/ml αντίστοιχα) (πιθανή χρήση της GFAP ως προγνωστικό δείκτη για κατηγοριοποίηση των ασθενών στους τύπους της νόσου). Μελετήθηκε και η συχνότητα υποτροπών σε σχέση με τα επίπεδα της GFAP. Παρότι φάνηκε, σε ασθενείς που εμφάνισαν υποτροπή της νόσου, ότι τα επίπεδα GFAP συσχετίζονται στατιστικά σημαντικά με τη βαρύτητα των λειτουργικών ελλειμμάτων σύμφωνα με τη κλίμακα RFSS ($p < 0.05$) (πιθανή χρήση ως προγνωστικό δείκτη και δείκτη βαρύτητας νόσου), τα επίπεδα της GFAP δεν συσχετίστηκαν με

τη συχνότητα των υποτροπών ούτε με την κλινική φάση της νόσου (μέτρηση σε έξαρση ή ύφεση). Στατιστικά σημαντική συσχέτιση δεν φάνηκε μεταξύ των επιπέδων GFAP στις δύο υποομάδες ασθενών που λάμβαναν ή όχι ακυκλοβίρη ($p > 0.30$). Στη μελέτη αυτή αναδείχθηκε ο πιθανός ρόλος της πρωτεΐνης GFAP στο ENY ως πιθανό **διαγνωστικό** (μεγαλύτερα επίπεδα σε ασθενείς συγκριτικά με υγιείς) αλλά και ως **προγνωστικό** (μεγαλύτερα επίπεδα σε ασθενείς με προοδευτική μορφή της νόσου και μεγαλύτερα επίπεδα σε ασθενείς που εμφάνισαν υποτροπή της νόσου και είχαν χειρότερη κλινική εικόνα-επιδεινωμένα νευρολογικά λειτουργικά ελλείματα χωρίς να φαίνεται συσχέτιση με τη συχνότητα υποτροπών ούτε με τη κλινική φάση της νόσου για πρόβλεψη π.χ. υποτροπής) βιοδείκτη.

Μία ομάδα ερευνητών από τη Σουηδία, τους **Malmestrom C. et al**, το 2003 [58] δημοσίευσε μία μελέτη σχετικά με τη χρήση των NFL και GFAP ως βιολογικούς δείκτες στην ΠΣ. Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν 66 ασθενείς (μέση ηλικία 39.6 έτη) με ΠΣ και ως ομάδα ελέγχου χρησιμοποιήθηκαν 50 υγιείς αιμοδότες (μέση ηλικία 35.4 έτη). Από τους 66 ασθενείς, οι 41 είχαν RRMS εκ των οποίων οι 18 βρισκόταν σε ύφεση της νόσου (ομάδα RRMS-rem) (χωρίς κλινική υποτροπή το τελευταίο τρίμηνο) και οι 23 βρισκόταν σε φάση οξείας υποτροπής (ομάδα RRMS-rel). Από τους 66 ασθενείς, οι υπόλοιποι 25 είχαν δευτεροπαθώς προϊούσα μορφή της νόσου (SPMS). Όλοι οι συμμετέχοντες υποβλήθηκαν σε κλινική εξέταση (τα νευρολογικά ελλείματα αξιολογήθηκαν με βάση την κλίμακα EDSS) και σε ONΠ με σκοπό την ανάλυση του ENY. Από την ομάδα με τους ασθενείς σε οξεία υποτροπή (RRMS-rel), 13 ασθενείς (6 γυναίκες και 7 άνδρες) ηλικίας 28-45 ετών, με EDSS 1.5-6.5 και διάρκεια νόσου από 0.5 έως 25 έτη, συμμετείχαν σε προοπτική παρατήρηση με διενέργεια ONΠ (και ανάλυσης ENY) καθώς και σε κλινική εξέταση και υπολογισμό της κλίμακας EDSS στην έναρξη της μελέτης, στις 3 εβδομάδες και στους 3 μήνες (6 από αυτούς έλαβαν ενδοφλέβια μεθυλπρεδνιζολόνης στα πλαίσια αντιμετώπισης της οξείας υποτροπής και 3 από αυτούς τους 6 λάμβαναν IFN-β στη συνέχεια). Σκοπός της μελέτης ήταν η διερεύνηση της πιθανής χρήσης διάφορων πρωτεϊνών, που προέρχονται από το ΚΝΣ, ως πιθανοί βιοδείκτες για την ενεργότητα της νόσου αλλά και για τις αποσαφήνιση παθοφυσιολογικών διεργασιών στην ΠΣ. Οι πρωτεΐνες που μελετήθηκαν στο ENY στους συμμετέχοντες στη μελέτη αυτή, ήταν τα νευροϊνίδια (NFL), η GFAP, η ειδική ενολάση των νευρώνων (Neuron Specific Enolase – NSE) και η πρωτεΐνη S100B. Θα εστιάσουμε στα ευρήματα που αφορούν την GFAP αλλά επιγραμματικά θα αναφερθούν και τα υπόλοιπα αποτελέσματα. Όσο αφορά τα NFL, αυτά βρέθηκαν σε αυξημένα επίπεδα στο ENY όλων των ασθενών με ΠΣ συγκριτικά με τους υγιείς ($p < 0.001$), με μέγιστα επίπεδα στην ομάδα των RRMS-rel (σε υποτροπή) (μέση τιμή 1727 ng/L) (στατιστικά σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ομάδες RRMS-rem και SPMS) και χωρίς διαφορές μεταξύ των ομάδων RRMS-rem και

SPMS. Από τους 13 ασθενείς με οξεία υποτροπή (μέση τιμή από την έναρξη των συμπτωμάτων 16 ημέρες) που συμμετείχαν στην προοπτική παρατήρηση, φάνηκε πως τα επίπεδα των NFL αυξήθηκαν στο ENY στις 3 εβδομάδες μετά την αρχική ENY ενώ στη συνέχεια εμφάνισαν μέτρια υποχώρηση στους 3 μήνες ($p=0.05$ και $p<0.05$ αντίστοιχα). Συνολικά, δεν ανευρέθηκε συσχέτιση μεταξύ επιπέδων NFL στο ENY και ηλικίας, διάρκειας νόσου, φύλου ούτε κλίμακας EDSS και ούτε κλινικής εικόνας υποτροπής (επιβεβαιώθηκε και από την προοπτική μελέτη). Τα ανωτέρω υποδεικνύουν τα NFL ως πιθανό βιοδείκτη για τη διάγνωση (αλλά και δείκτη πιθανών παθοφυσιολογικών διεργασιών ως δείκτης νευροεκφύλισης και βλάβης νευραξόνων) της νόσου αλλά και για την εμφάνιση υποτροπών της νόσου, όχι όμως και δείκτη βαρύτητας και εξέλιξης νόσου (δεν συσχετίστηκε με κλινική εικόνα και EDSS). Όσο αφορά τα επίπεδα **GFAP** οι ασθενείς με ΠΣ είχαν υψηλότερα επίπεδα στο ENY συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου (μέση τιμή 611 ng/L και 435 ng/L αντίστοιχα με $p<0.001$) (πιθανός ρόλος ως διαγνωστικό βιοδείκτη) (μεγαλύτερη στην ομάδα SPMS αλλά και RRMS-rel, όχι όμως τόσο σημαντική στην RRMS-rem). Στους ασθενείς που μελετήθηκαν προοπτικά με νέες ΟΝΠ, δεν φάνηκε διαφορά στα επίπεδα GFAP στα 3 στιγμιότυπα της εξέτασης (έναρξη μελέτης, 3 εβδομάδες και 3 μήνες). Επιπλέον φάνηκε συσχέτιση μεταξύ επιπέδων της GFAP και της κλίμακας EDSS ($p<0.0001$) κυρίως στους ασθενείς με SPMS ($p<0.001$), αλλά και στους ασθενείς με RRMS-rem ($p<0.005$) χωρίς να φαίνεται αυτή η συσχέτιση σε αυτούς με RRMS-rel. Τα επίπεδα της GFAP είχαν ήπια συσχέτιση με την ηλικία (τα αποτελέσματα όμως μετά την στάθμιση σύμφωνα με την ηλικία δεν άλλαξαν). Τέλος όσο αφορά τις πρωτεΐνες NSE και S100B, δεν φάνηκε διαφορά στα επίπεδα αυτών μεταξύ των ασθενών και της ομάδας ελέγχου. Στη μελέτη αυτή, εστιάζοντας στην πρωτεΐνη GFAP, αναδεικνύεται ο ρόλος της πρωτεΐνης αυτής ως πιθανός **διαγνωστικός** δείκτης και **προγνωστικός** δείκτης (αυξημένα επίπεδα σε όλους τους ασθενείς εκτός της ομάδας RRMS-rem και πιο αυξημένα στην ομάδα SPMS) αλλά και προγνωστικός δείκτης όσο αφορά την ενεργότητα, βαρύτητα και εξέλιξη της νόσου (συσχέτιση επιπέδων GFAP με κλίμακα EDSS κυρίως σε αυτούς με SPMS και RRMS-rem). Η GFAP φάνηκε στη μελέτη αυτή ως πιθανός βιοδείκτης για ενεργότητα νόσου και δείκτης για την αναπηρία των ασθενών.

Τέλος, το 2021 δημοσιεύτηκε μία μελέτη που διενεργήθηκε στη Γερμανία από τους **Aktas O. et al** [59] και είχε ως σκοπό την διερεύνηση της χρήσης της μέτρησης των επιπέδων της GFAP σε ασθενείς με NMOSD όσο αφορά την ενεργότητα της νόσου και την ανταπόκριση με στη θεραπεία με inebilizumab. Συμπεριλήφθηκε στην παρούσα εργασία καθώς αντλήθηκαν συμπεράσματα και για τη χρήση της GFAP στην ΠΣ καθώς επίσης επειδή ήταν η μόνη που αναφερόταν στα επίπεδα αυτής στον ορό. Στη μελέτη αυτή, μία διπλή τυφλή τυχαιοποιημένη μελέτη, συμμετείχαν 323 άτομα. Τα 215 ήταν ασθενείς με NMOSD εκ των οποίων οι 164

έλαβαν μονοθεραπεία με inebilizumab και οι 51 έλαβαν εικονικό φάρμακο. Ως ομάδα ελέγχου συμπεριλήφθηκαν 23 ασθενείς με RRMS και 85 υγιή άτομα. Όλοι οι ασθενείς με NMOSD υποβλήθηκαν σε αιμοληψία και μέτρηση των επιπέδων GFAP στον ορό την 1^η ημέρα καθώς και στις ημέρες 15, 29, 57, 85, 113, 155 και 197 (καθώς και σε ενδιάμεσα στιγμιότυπα εφόσον είχαν επιδείνωση της κλινικής εικόνας). Οι υπόλοιπες ομάδες ελέγχου υποβλήθηκαν σε μέτρηση των επιπέδων GFAP στον ορό μόνο στην έναρξη της μελέτης και μόνο 10 υγιείς δότες υποβλήθηκαν σε πολλαπλές μετρήσεις. Όσο αφορά τα αποτελέσματα, θα αναφερθούν μόνο αυτά που αφορούν την ΠΣ. Βρέθηκε ότι, χρησιμοποιώντας ως ανώτερο όριο το 170 pg/ml, τα επίπεδα της GFAP στον ορό ήταν σημαντικά αυξημένα στους ασθενείς με NMOSD συγκριτικά με τους ασθενείς με ΠΣ και τα υγιή άτομα (29%, 9% και 2,4% των ασθενών με μέσα επίπεδα 128,3 pg/ml , 97,5pg/ml και 71,3 Pg/ml αντίστοιχα). Το αποτέλεσμα αυτό υποδεικνύει, με έμμεσο τρόπο, την μέτρηση της GFAP στον ορό, ως πιθανό βιοδείκτη για **διαγνωστικούς** λόγους (αυξημένες τιμές σε ασθενείς με ΠΣ συγκριτικά με υγιείς) αλλά και **διαφοροδιαγνωστικούς** λόγους (πιο αυξημένα τα επίπεδα σε NMOSD). Τα υπόλοιπα συμπεράσματα της μελέτης αυτής ξεφεύγουν από τους σκοπούς της παρούσας εργασίας και έτσι δεν θα αναφερθούν.

Πίνακας 1 Παρουσιάζονται συνοπτικά οι μελέτες που αφορούν τη χρήση της πρωτεΐνης GFAP ως βιοδείκτη στην πολλαπλή σκλήρυνση

Έρευνα	Δείγμα	Παρέμβαση	Διάρκεια	Μετρήσεις	Ευρήματα
Glial fibrillary acidic protein in CSF of multiple sclerosis patients: relation to neurological deficit. Rosengren LE, et al, 1995	-RRMS ή εργαστηριακά υποστηριζόμενη ΠΣ (n=13) -Ομάδα ελέγχου: υγιή άτομα (Healthy controls – HC) χωρίς ιστορικό νευρολογικής νόσου και με φυσιολογική νευρολογική εξέταση (n=5)	Ομάδα ασθενών: n=7 ακυκλοβίρη 800mgX3 για 2 έτη n=6 εικονικό φάρμακοX3 για 2 έτη Ομάδα ελέγχου: καμία φαρμακολογική παρέμβαση	2 έτη	-GFAP στο ENY στην έναρξη και έπειτα κάθε 4 μήνες -Έλεγχος νευρολογικών ελλειμμάτων (κλίμακα RFSS) στην έναρξη και κάθε 4 μήνες	Επίπεδα GFAP στο ENY: -Αυξημένα σε ΠΣ > HC -Αυξημένα σε SPMS > RRMS -Συσχέτιση με βαρύτητα λειτουργικών νευρολογικών ελλειμμάτων -Δε συσχετίζονται με συχνότητα υποτροπών -Δε συσχετίζονται με τη κλινική φάση της νόσου (υποτροπή ή ύφεση) -Δε διαφέρουν σε αυτούς που έλαβαν ακυκλοβίρη ή εικονικό φάρμακο
Neurofilament light protein and glial fibrillary acidic protein as biological markers in MS, Malmstrom C et al, 2003	ΠΣ (n=66). Από αυτούς: -n=41 RRMS (n=18 σε ύφεση – RRMS rem και n=23 σε οξεία υποτροπή – RRMS rel) -n=25 SPMS -Ομάδα ελέγχου: υγιείς αιμοδότες (HC) (n=50)	Καμία φαρμακολογική παρέμβαση	3 μήνες	-Κλινική εξέταση (EDSS) και ανάλυση ENY για επίπεδα NFL, GFAP, NSE, S100B σε όλους -Κλινική εξέταση (EDSS) και ανάλυση ENY για επίπεδα NFL, GFAP, NSE, S100B στην έναρξη, 3 εβδομάδες και 3 μήνες σε υποομάδα ασθενών από την	Επίπεδα NFL στο ENY: -αυξημένα σε ΠΣ (ιδίως στην ομάδα RRMS-rel) > HC -μέγιστα επίπεδα στις 3 εβδομάδες σε RRMS-rel που συμμετείχαν στην προοπτική παρατήρηση -καμία συσχέτιση με ηλικία, διάρκεια νόσου, φύλο, EDSS Επίπεδα GFAP στο ENY: -υψηλότερα σε ΠΣ (ιδίως SPMS) > HC -καμία διαφορά σε RRMS-rel (προοπτική παρατήρηση) -Συσχέτιση με την κλινική εικόνα, αναπηρία, βαρύτητα νόσου και κλίμακα EDSS (κυρίως SPMS και

				ομάδα RRMS-rel (n=13)	RRMS-rel και όχι στους RRMS-rel) -Ηπια συσχέτιση με την ηλικία NSE και S100B: καμία διαφορά στους ασθενείς με ΠΣ συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου
Serum Glial Fibrillary Acidic Protein: A Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder Biomarker, Aktas O. et al., 2021	-NMOSD (n=215) εκ των οποίων οι n=164 έλαβαν μονοθεραπεία με inebilizumab και οι n=51 έλαβαν εικονικό φάρμακο -Ομάδα ελέγχου: n=23 ασθενείς με RRMS και n=85 υγιή άτομα (HC)	Τυχαιοποίηση για χορήγηση inebilizumab σε ασθενείς με NMOSD	197 ημέρες	-Επίπεδα GFAP στον ορό την 1 ^η ,15 ^η ,29 ^η ,57 ^η ,85 ^η , 113 ^η ,155 ^η και 197 ^η ημέρα σε NMOSD και 10 υγιείς δότες -Επίπεδα GFAP στον ορό των υπόλοιπων ατόμων στην ομάδα ελέγχου μόνο την 1 ^η ημέρα	Αυξημένα επίπεδα GFAP σε NMOSD συγκριτικά με τις υπόλοιπες ομάδες αλλά και σε ασθενείς με ΠΣ > HC (έμμεσο συμπέρασμα) Τα υπόλοιπα συμπεράσματα της μελέτης ξεφεύγουν από τους σκοπούς της παρούσας εργασίας)

Νευροϊνίδια (NFL – Neurofilament light chain) ως πιθανός βιοδείκτης στην πολλαπλή σκλήρυνση

Στα πλαίσια της αναζήτησης κλινικών μελετών που σχετίζονται με τη χρήση των NFL ως βιοδείκτη στην ΠΣ, από την αναζήτηση με τα κριτήρια της παρούσας εργασίας, όπως προαναφέρθηκε παραπάνω, συμπεριλήφθηκαν συνολικά 18 μελέτες οι οποίες παρουσιάζονται αναλυτικά στον πίνακα 2. Από αυτές, 5 δημοσιεύθηκαν το 2021, 6 το 2020, 5 το 2019, 1 το 2018 και 1 το 2017. Οι ερευνητικές ομάδες κάθε μελέτης, διερεύνησαν τη χρήση της μέτρησης των επιπέδων των NFL ως βιοδείκτη στη ΠΣ τόσο για διαγνωστικούς όσο και για προγνωστικούς και θεραπευτικούς σκοπούς. Κάποιες μελέτησαν τα επίπεδα των NFL στο αίμα (ορός και πλάσμα) και άλλες στο ENY, σε διάφορα στιγμιότυπα. Οι προσπάθειες των ερευνητών εστίασαν στην αναζήτηση σύνδεσης των επιπέδων NFL με κλινικούς και παρακλινικούς παράγοντες της νόσου και στον καθορισμό της συσχέτισης μεταξύ αυτών. Από τις 18 μελέτες, η πλειοψηφία (περίπου 14) ανέδειξε πιθανό **προγνωστικός** ρόλο στη μέτρηση των επιπέδων NFL, ενώ σε περίπου 9 και 4 αναδείχθηκε πιθανός **θεραπευτικός** και **διαγνωστικός** ρόλος αυτών αντίστοιχα.

Τα αποτελέσματα των μελετών σε γενικές γραμμές συμφωνούσαν μεταξύ τους με λίγες να έχουν αντικρουόμενα ευρήματα (πιθανών να αποδίδεται σε κακό σχεδιασμό ή μικρό δείγμα συμμετεχόντων). Πιο συγκεκριμένα, για να συνοψίσουμε κάποια από τα ευρήματα, τα επίπεδα των νευροϊνιδίων τόσο στο αίμα όσο και στο ENY φάνηκε να είναι αυξημένα σε ασθενείς με ΠΣ (ανεξαρτήτως τύπου νόσου, και σε προϊούσες μορφές) συγκριτικά με υγιή άτομα (διαγνωστικός βιοδείκτης), ιδίως σε ασθενείς με υποτροπιάζουσα μορφή, με αύξηση των επιπέδων στις οξείες υποτροπές. Τα επίπεδα NFL στο ENY φάνηκε πως είναι πιο υψηλά και σε συσχέτιση με αυτά στο αίμα (πλάσμα και ορός) αλλά ίσως με μικρότερη ευαισθησία στις μετρήσεις που αφορούν στο αίμα. Μία μελέτη παρουσίασε στοιχεία που αφορούν την PML και σε αυτήν το επίπεδο των NFL στον ορό συσχετίστηκαν με τον κίνδυνο εμφάνισης PML (πρόβλεψη εμφάνισης PML –

θεραπευτικός βιοδείκτης για ενδεχόμενη ανεπιθύμητη ενέργεια αγωγής – ιδίως NTZ) ενώ τα επίπεδα ήταν πολύ υψηλότερα συγκριτικά με εκείνους που είχαν υποτροπή της νόσου (διαγνωστικός βιοδείκτης – διάκριση μεταξύ υποτροπής της ΠΣ και PML). Τα επίπεδα των NFL δεν συσχετίστηκαν με την κλίμακα EDSS (σε μία μόνο μελέτη υπήρξε χαμηλή συσχέτιση που όμως δεν ήταν κλινικά σημαντική και δεν αφορούσε μακροπρόθεσμη έκβαση και τιμή EDSS) αλλά συσχετίστηκαν με άλλες κλίμακες (π.χ. MSIS) βαρύτητας και αναπηρίας-δυσλειτουργίες των ασθενών καθώς και έκπτωση σε γνωστικές λειτουργίες και δοκιμασίες (προγνωστικός δείκτης ενεργότητας και βαρύτητας νόσου). Επιπλέον τα επίπεδα των NFL συσχετίστηκαν σαφέστατα με απεικονιστικά ευρήματα ενεργότητας και εξέλιξης νόσου και πρόβλεψη απεικονιστικής επιδείνωσης και ενεργότητας νόσου (ακόμη και πρόβλεψη έως 15 έτη μετά) (προγνωστικός βιοδείκτης) (αριθμός εστιών, νέες ή αυξανόμενες T2 εστίες, όγκος T2 εστιών, αριθμός και όγκος T1 εστιών, πρόσληψη παραμαγνητικής ουσίας Gd, εγκεφαλική ατροφία και εκατοστιαία απώλεια όγκου εγκεφαλικού παρεγχύματος, όγκος θαλαμικών περιοχών κ.ά.) καθώς επίσης και με τη συχνότητα υποτροπών. Τα NFL εμφάνισαν πτώση με τη χορήγηση κάποιων θεραπευτικών αγωγών (πτώση με NTZ, φινγκολιμόδη, πτώση με IFNβ, ozanimod, ofatumumab, τεριφλουνομίδη κ.ά) και συσχετίστηκαν με καλύτερη έκβαση – εξέλιξη νόσου συγκριτικά με όσους έλαβαν placebo, κυρίως στην υποτροπιάζουσα μορφή και όχι τόσο στην προϊούσα μορφή (DMF σε PPMS δεν μείωσε τα επίπεδα NFL), καθιστώντας έτσι τα επίπεδα των NFL ως πιθανό θεραπευτικό δείκτη για την ανταπόκριση στην αγωγή. Τα επίπεδα επίσης εμφάνισαν μεγάλη αύξηση στην περίπτωση των υποτροπών σε RRMS (σε αντίθεση με την πρωτεΐνη GFAP που δεν συσχετίστηκε με υποτροπές της νόσου).

Πίνακας 2 Παρουσιάζονται συνοπτικά οι μελέτες που αφορούν τη χρήση των νευροϊνιδίων ως βιοδείκτη στην πολλαπλή σκλήρυνση

Έρευνα	Δείγμα	Παρέμβαση	Διάρκεια	Μετρήσεις	Ευρήματα
Serum Neurofilament Levels and PML Risk in Patients With Multiple Sclerosis Treated With Natalizumab, Fissolo N et al, 2021 [60]	4 πληθυσμοί μελέτης-κοόρτες: 1 ^η): RRMS υπό NTZ (n=54) εκ των οποίων οι n=37 δεν εμφάνισαν PML σε παρακολούθηση 5ετίας από την έναρξη της αγωγής (NTZ-ctrl) και οι n=17 εμφάνισαν PML (pre-PML) 2 ^η): ασθενείς με PML (n=13) 3 ^η): ασθενείς που δεν εμφάνισαν PML σε διάστημα πάνω από 5 έτη από την έναρξη της αγωγής με NTZ (n=29) (ομάδας επιβεβαίωσης) 4 ^η) RRMS με οξεία υποτροπή (n=30) εκ των οποίων το 30% υπό IFN-β	Καμία φαρμακολογική	2 έτη (αλλά παρατήρηση και καταγραφή δεδομένων 5ετίας)	Επίπεδα NFL στον ορό (sNFL) και σύγκριση μεταξύ των διάφορων ομάδων (στην 1 ^η κόορτη έγιναν μετρήσεις στην έναρξη της μελέτη, μετά από 1 και 2 έτη)	Επίπεδα sNFL: -πτώση σε NTZ-ctrl και pre-PML (1y+2y) αλλά sNFL pre-PML>NTZ-ctrl μόνο μετά από 2y θεραπείας (10.1 pg/ml και 7.1 pg/ml αντίστοιχα με p=0.03) -PML>pre-PML (στα 2y) περίπου 16 φορές (163 pg/ml και 10,1 pg/ml αντίστοιχα) -τιμή διάκρισης NTZ-ctrl και pre-PML (στα 2y) με ευαισθησία 67% και ειδικότητα 80% τα 8,4 pg/ml -sNFL σε παρόμοια επίπεδα στην υποτροπή ΠΣ ανεξάρτητα αν λάμβαναν IFN-β ή όχι -PML>υποτροπή MS περίπου 8 φορές (163 pg/ml και 21 pg/ml αντίστοιχα με p=3x10 ⁻⁶) (τιμή διάκρισης αυτών με ευαισθησία 85% και ειδικότητα 93% τα 52.7 pg/ml APA η μέτρηση sNFL στα 2y συμβάλλει στην πρόβλεψη κινδύνου PML, ενώ συμβάλλει

					και στη διάκριση PML από υποτροπή της νόσου (θεραπευτικός βιοδείκτης για ανεπιθύμητες ενέργειες αγωγής και διαγνωστικός και διαφοροδιαγνωστικός βιοδείκτης για διάκριση μεταξύ υποτροπής και PML)
Vitamin D 3 supplementation and neurofilament light chain in multiple sclerosis, Smolders J et al, 2019 [61]	RRMS υπό IFN-β1α (με 1 ^ο κλινικό επεισόδιο την τελευταία 5ετία, χωρίς υποτροπή της νόσου τις τελευταίες 30 ημέρες) (n=40) εκ των οποίων: -n=16 (εικονικό φάρμακο με μέση ηλικία 40 έτη) (placebo ομάδα) -n=24 (vitD ₃ ομάδα με μέση ηλικία 37 έτη)	-n=16 (εικονικό φάρμακο) -n=14 (vitD – χοληκαλσιφερόλη 7000IUX1 για 4 εβδομάδες και έπειτα 14000IUX1 έως και τη συμπλήρωση 48 εβδομάδων)	48 εβδομάδες	-Επίπεδα NFL στο πλάσμα (pNFL) και vitD - 25(OH)D ₃ στην έναρξη της μελέτης και στις 48 εβδομάδες -MRI απεικονιστικά ευρήματα (νέες ή αυξανόμενες ήδη υπάρχουσες εστίες απομυελινωτικές με ή χωρίς πρόσληψη παραμαγνητικής ουσίας Gd+) στην έναρξη της μελέτης και στις 48 εβδομάδες	VitD ₃ : -Αυξημένη στην vitD ₃ ομάδα στις 48 εβδομάδες -σταθερή στην placebo ομάδα Επίπεδα pNFL: -σταθερά χαμηλά και χωρίς διαφορές μεταξύ placebo και vitD ₃ ομάδας -συσχέτιση με ηλικία -αυξημένα σε όσους είχαν απεικονιστική επιδείνωση στην MRI στις 48 εβδομάδες -τα αυξημένα επίπεδα συσχετίζονται με τάση για επιδείνωση απεικονιστική (στη μελέτη υπήρξαν μόνο νέες εστίες και όχι πρόσληψη παραμαγνητικής ουσίας) APA η χορήγηση vitD δεν είχε επίδραση στα pNFL στις 48 εβδομάδες, η IFN-β1α δεν είχε επίδραση στα επίπεδα pNFL, ενώ τα επίπεδα pNFL συσχετίστηκαν και βρέθηκαν αυξημένα σε όσους είχαν ακτινολογική επιδείνωση (προγνωστικός βιοδείκτης για ενεργότητα νόσου)
Blood neurofilament light chain as a biomarker of MS disease activity and treatment response, Kuhle J et al, 2019 [62]	-RRMS (n=589) (70% γυναίκες) εκ των οποίων οι n=269 (μέση ηλικία 37.1 έτη) επιλέχθηκαν από τη μελέτη FREEDOMS και οι n=320 (μέση ηλικία 36.5 έτη) επιλέχθηκαν από τη μελέτη TRANSFORMS -Υγιή άτομα (Healthy Controls – HC) (n=35)	Διακοπή IFNβ ή GA προ συμμετοχής στην υπομελέτη FREEDOMS (όχι όμως στην TRANSFORMS) Χορήγηση placebo ή φινγκολιμόδης 0.5mg στην μελέτη FREEDOMS και INFβ1α στην TRANSFORMS	2 έτη (FREEDOMS) και 1 έτος (TRANSFORMS)	-επίπεδα NFL στο αίμα (0,6,12,24 μήνες στην FREEDOMS και 0,6,12 μήνες στην TRANSFORMS) -κλινικά και απεικονιστικά ευρήματα (εστίες σε MRI ΚΝΣ, αλλαγές στον όγκο του εγκεφάλου, κλινική εικόνα και πιθανή επιδείνωση αυτής, EDSS κλίμακα)	Επίπεδα NFL στο αίμα: -Στο χρόνο μηδέν (έναρξη μελέτης) βρέθηκαν RRMS (FREEDOMS + TRANSFORMS)>HC (30.5pg/ml, 27pg/ml και 16.9pg/ml αντίστοιχα με p=0.0001) και χαμηλά στην TRANSFORMS σε RRMS υπό αγωγή συγκριτικά με αυτούς χωρίς αγωγής (p=0.038) (δεν απαιτήθηκε διακοπή αγωγής) (όχι διαφορά σε FREEDOMS). Τα αυξημένα επίπεδα (>60pg/ml) στο χρόνο μηδέν συσχετίστηκαν με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής, με μεγαλύτερη απώλεια όγκου εγκεφαλικού παρεγχύματος και με νέες ή αυξανόμενες T2 εστίες -Αυξημένα επίπεδα συσχετίστηκαν με αύξηση του όγκου των T2 εστιών ή με παρουσία T1 Gd+ εστίες -Gd(+)>Gd(-) (p<0.0001) -Δεν συσχετίστηκαν με την κλίμακα EDSS -Σε όσους ήταν αυξημένα στην έναρξη της μελέτης είχαν μεγαλύτερα επίπεδα στο τέλος αυτής -Η θεραπεία με φινγκολιμόδη μείωσε τα επίπεδα NFL στο αίμα συγκριτικά με την INF και το placebo σε όλες τις ενδιάμεσες μετρήσεις (NFL placebo>IFN>Φινγκολιμόδη, p<0.01) APA η μέτρηση των επιπέδων των NFL στο αίμα φαίνεται να είναι διαγνωστικός (RRMS>HC), προγνωστικός (για ενεργότητα νόσου) (αυξημένα επίπεδα συσχετίστηκαν με χειρότερα MRI ευρήματα – απομυελινωτικές εστίες, πρόσληψη Gd και απώλεια εγκεφαλικού όγκου και οξεία κλινική επιδείνωση, όχι όμως συσχέτιση με αναπηρία και κλίμακα EDSS) καθώς και

					Θεραπευτικός βιοδείκτης (πώση επιπέδων με φινγκολιμόδη). Φάνηκε να χρησιμεύει και για την παρακολούθηση των ασθενών και της αποτελεσματικότητας της θεραπείας.
Temporal profile of serum neurofilament light in multiple sclerosis: Implications for patient monitoring, Calabresi PA et al, 2020 [63]	RRMS (n=859) (70% γυναίκες) με EDSS 0-5 και 2 ή περισσότερες κλινικές υποτροπές τα τελευταία 3 έτη (η 1 το τελευταίο έτος) (από τη μελέτη ADVANCE που ήταν διπλή τυφλή τυχαιοποιημένη) εκ των οποίων, μετά από τυχαιοποίηση, οι -n=393 (μέση ηλικία 36.5 έτη) έλαβαν εικονικό φάρμακο (placebo ομάδα) -n=466 (μέση ηλικία 37.2 έτη) έλαβαν pegIFNβ1α	-placebo (στο 1 έτος έγινε ξανά τυχαιοποίηση και κάποιιο συνέχισαν με το εικονικό φάρμακο και κάποιιο με pegIFNβ1α) -PegIFNβ1α (125μg ανά 2-4 εβδομάδες) για 2 έτη	2 έτη (οι κάποιιοι από την αρχική μελέτη συνέχισαν έως και τα 4 έτη)	-Επίπεδα NFL στον ορό (sNFL) κάθε 3 μήνες για 2 έτη (έπειτα έως τα 4 έτη κάθε 6 μήνες) -Νευρολογική εξέταση κάθε 12 εβδομάδες ή νορτίτερα επί (πιθανής) υποτροπής και μέτρηση κλιμάκων (MSFC, EDSS) -MRI ευρήματα (0,6μήνες και 1,2,3 έτη) (αριθμός και όγκος T2 εστιών, πρόσληψη Gd, αριθμός απομυελινωτικών εστιών, απώλεια εγκεφαλικού όγκου)	Επίπεδα sNFL: -στο χρόνο μηδέν συσχετίστηκαν θετικά με την εκατοστιαία μείωση του εγκεφαλικού όγκου καθώς και με τον αριθμό των νέων T2 εστιών που εμφάνισαν οι ασθενείς στα 4 έτη ενώ δεν συσχετίστηκε με την EDSS κλίμακα -μειώθηκαν στην ομάδα που έλαβε IFNβ1α συγκριτικά με την ομάδα placebo -βρέθηκαν αυξημένα σε όσους είχαν στοιχεία ενεργότητας νόσου (n=832, 12.3pg/ml) συγκριτικά με όσους δεν είχαν (n=65, 8.3pg/ml) (p<10 ⁻⁷) (και ακόμη περισσότερο σε όσους είχαν >1% εκατοστιαία απώλεια εγκεφαλικού όγκου) -χαμηλά επίπεδα (<16pg/ml μετά από 2 έτη αγωγής) συσχετίστηκαν με μείωση της εκατοστιαίας απώλειας εγκεφαλικού όγκου και μείωση του αριθμού των νέων T2 εστιών) APA η μέτρηση των sNFL παρ'όλο που δεν συσχετίστηκε με την κλίμακα EDSS (ίσως μικρή συσχέτιση στους 9 μήνες αγωγής με μικρή όμως διαφορά με την placebo ομάδα), φάνηκε πως πιθανόν να χρησιμεύει ως προγνωστικός (ενεργότητα νόσου) (αυξημένα επίπεδα συσχετίστηκαν με χειρότερα απεικονιστικά ευρήματα-εστίες και απώλεια εγκεφαλικού όγκου, ακόμη και με μέτρηση στο χρόνο μηδέν για πρόβλεψη της μετέπειτα έκβασης της νόσου) αλλά και θεραπευτικός (μείωση των sNFL με την αγωγή και σε λιγότερες υποτροπές – καλύτερος χρόνος μέτρησης στους 12 μήνες θεραπείας για αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας) βιοδείκτης.
Neurofilament light levels are associated with long-term outcomes in multiple sclerosis, Kuhle J et al, 2019 [64]	n=235 RRMS (n=164 από αυτούς στη συνέχεια) (δείγμα από ασθενείς από τη μελέτη MSCRG Διευκρινίσεις: -n=235 παρείχαν δείγματα ENY, εκ των οποίων οι n=172 στην έναρξη της μελέτης και n=107 μετά από 2 έτη (n=44 Y ₀ και Y ₂) -n=164 παρείχαν δείγματα ορού, εκ των οποίων οι n=102 στα 3 έτη από την έναρξη της μελέτης και οι n=136 στα 4 έτη (n=73 Y ₃ και Y ₄)	Τυχαιοποίηση ως προς χορήγηση IFNβ1α ενδομυϊκά ή placebo	15 έτη	-Επίπεδα NFL στον ορό και στο ENY -Κλινικοί παράγοντες (EDSS, MSFC, Απεικονιστικοί παράγοντες (νέες ή αυξανόμενες T2 εστίες, όγκος T1 και T2 εστιών, όγκος εγκεφαλικού παρεγχύματος)	Επίπεδα NFL: Στο ENY: -στο χρόνο μηδέν συσχετίστηκαν με χειρότερα απεικονιστικά υποτροπές κ.ά) -Απεικονιστικοί παράγοντες (νέες ή αυξανόμενες T2 εστίες, όγκος T1 και T2 εστιών, όγκος εγκεφαλικού παρεγχύματος) -Στα 2 έτη συσχετίστηκαν με αλλαγές εγκεφαλικού όγκου και EDSS στα 8 έτη (μικρότερη συσχέτιση στην ομάδα placebo) (μεγαλύτερη πιθανότητα για EDSS κοντά στο 6 όσο πιο αυξημένα τα επίπεδα των NFL – όχι αυξανόμενη συσχέτιση για τα 15 έτη) Στον ορό: -συσχετίστηκαν το 3 ^ο έτος με αλλαγές εγκεφαλικού όγκου στα 8 έτη -συσχετίστηκαν στα 3 και 4 έτη με την EDSS κλίμακα στα 8 έτη -συσχετίστηκαν στα 4 έτη με την EDSS κλίμακα στα 15 έτη APA φαίνεται ότι η μέτρηση των NFL τόσο στο ENY όσο και στον ορό πιθανόν να χρησιμεύει ως προγνωστικός βιοδείκτης τόσο για βραχυπρόθεσμη όσο και μακροπρόθεσμη έκβαση της νόσου (έως 8 και 15 έτη) (κλινική

					και απεικονιστική ενεργότητα με πρόβλεψη αναπηρίας και EDSS αλλά και αλλαγών στις απομυελινωτικές εστίες και στον όγκο εγκεφαλικού παρεγχύματος) αλλά και για παρακολούθηση θεραπευτικής αποτελεσματικότητας (τα επίπεδα NFL στο ENY συσχετίστηκαν περισσότερο με την ενεργότητα και εξέλιξη της νόσου στην ομάδα που έλαβε IFNβ1α)
Plasma neurofilament light chain concentrations as a biomarker of clinical and radiologic outcomes in relapsing multiple sclerosis: Post hoc analysis of Phase 3 ozanimod trials, Harris S et al, 2021 [65]	Δύο δείγματα (πλειοψηφία γυναίκες με μέση ηλικία τα 36 έτη περίπου) με RRMS από 2 άλλες μελέτες: -n=1244 (από 1346) (SUNBEAM μελέτη) -n=1109 (από 1313) (RADIANCE μελέτη)	Τυχαιοποίηση για χορήγηση -ozanimod 0.46mg ή 0.92mg -IFNβ1α 30μg εβδομαδιαίως	-1 έτος (SUNBEAM μελέτη) -2 έτη (RADIANCE μελέτη)	-Επίπεδα νευροϊνιδίων στο πλάσμα (pNFL) στην έναρξη της μελέτης (χρόνος μηδέν) και στους 12 μήνες στη μελέτη SUNBEAM και στο χρόνο μηδέν, στους 12 μήνες και στους 24 μήνες στη μελέτη RADIANCE -MRI ευρήματα (όγκος εγκεφαλικού παρεγχύματος, εγκεφαλικού φλοιού και θαλαμικών περιοχών καθώς και εκατοστιαία μεταβολή αυτών, νέες ή αυξανόμενες T2 απομυελινωτικές εστίες, αριθμός εστιών με πρόσληψη ή όχι Gd) στο χρόνο 0, 6 και 12 μήνες (SUNBEAM) και στο χρόνο 0, 12 και 24 μήνες (RADIANCE) -Αριθμός υποτροπών (ετήσιος κίνδυνος υποτροπών) -Επίσης αξιολογήθηκε η απουσία στοιχείων για ενεργότητα νόσου (απουσία υποτροπών, χωρίς αύξηση της κλίμακας EDSS, χωρίς νέες ή αυξανόμενες T2 εστίες, απουσία πρόσληψης Gd)	Τα επίπεδα pNFL: -ήταν παρόμοια στο χρόνο μηδέν και στις 2 μελέτες -παρουσίασαν πτώση με τη λήψη αγωγής, ιδιαίτερα με τη λήψη ozanimod 0.92mg (πτώση pNFL ozanimod 0.92mg > ozanimod 0.46mg > IFNβ1α) τόσο στους 12 όσο και στους 24 μήνες -στο χρόνο μηδέν συσχετίστηκαν θετικά με τον αριθμό των εστιών με πρόσληψη Gd και τον αριθμό των T2 εστιών (p<0.0001) ενώ όσοι εμφάνισαν λιγότερες εστίες με πρόσληψη Gd ή λιγότερες νέες ή αυξανόμενες T2 εστίες κατά τη διάρκεια των μελετών, παρουσίασαν μεγαλύτερη διάμεση πτώση των επιπέδων pNFL -στο χρόνο μηδέν συσχετίστηκαν αρνητικά με τον όγκο του εγκεφαλικού παρεγχύματος, του φλοιού και των θαλαμικών περιοχών (p<0.05) ενώ σε όσους τα επίπεδα pNFL κατά τη μελέτη μειώθηκαν περισσότερο, φάνηκε να έχουν και μικρότερη απώλεια όγκου εγκεφαλικού παρεγχύματος, του φλοιού και των θαλαμικών περιοχών -είχαν μία τάση να είναι υψηλότερα σε όσους εμφάνισαν υποτροπή κατά την αγωγή (όσοι είχαν μεγαλύτερη πτώση των pNFL είχαν μικρότερο ετήσιο κίνδυνο υποτροπής) -ήταν χαμηλότερα και παρουσίασαν μεγαλύτερη πτώση σε όσους δεν εμφάνισαν στοιχεία ενεργότητας νόσου (χωρίς στοιχεία ενεργότητας νόσου είχαν περισσότερο οι ασθενείς υπό ozanimod 0.92mg > ozanimod 0.46mg > IFNβ1α) -στο χρόνο μηδέν συσχετίστηκαν με τον κίνδυνο υποτροπής στους επόμενους 12 (SUNBEAM) ή 24 μήνες (RADIANCE) ενώ ο κίνδυνος υποτροπής ήταν μικρότερος σε ασθενείς υπό ozanimod 0.92mg
Association of Serum Neurofilament Light Levels With Long-term Brain Atrophy in Patients With a First Multiple Sclerosis Episode, Plavina T et al, 2020 [66]	Δείγμα από 2 άλλες μελέτες (CHAMPS και την επέκτασή της, CHAMPIONS) - Άτομα με πρώτο απομυελινωτικό επεισόδιο (CIS) (τυχαιοποιήθηκαν	Λήψη εβδομαδιαία IFNβ1α 30mg ή placebo (τυχαιοποίηση για τους πρώτους 36 μήνες ενώ όσοι συνέχισαν στην επέκτασή της	-36 μήνες (CHAMPS) -10 έτη (CHAMPIONS)	-Επίπεδα sNFL στην έναρξη της μελέτης (χρόνος μηδέν) -Απεικονιστικά ευρήματα με MRI (αριθμός εστιών με πρόσληψη Gd και αριθμός και όγκος T2	Επίπεδα sNFL στην έναρξη της μελέτης: -συσχετίστηκαν με τον αριθμό των εστιών με πρόσληψη Gd και με τον όγκο των T2 εστιών (p<0.001) -δεν συσχετίστηκαν με τον όγκο του εγκεφαλικού παρεγχύματος στο χρόνο 0 και στους 6 μήνες

	για λήψη IFNβ1α ή placebo) Στη μελέτη αυτή συμπεριλήφθηκαν n=308 (μέση ηλικία 33.2 έτη, 76% γυναίκες) με ήπια-μέση ενεργότητα νόσου	μελέτης και λάμβαναν placebo, έλαβαν IFNβ1α)		εστιών στο χρόνο 0, όγκος εγκεφαλικού παρεγχύματος στο χρόνο 0, στους 6 μήνες, 1 έτος, 18 μήνες, 5 έτη, 10 έτη) -EDSS	-συσχετίστηκαν με τον εγκεφαλικό όγκο και απώλεια αυτού (εγκεφαλική ατροφία) τόσο στα 5 όσο και στα 10 έτη (p<0.001) (στα 5 έτη μαζί με την επίδραση T2 εστιών) -δεν συσχετίστηκαν σημαντικά με τον χρόνο βέβαιης διάγνωσης ΠΣ στα 10 έτη -δεν συσχετίστηκαν με την κλίμακα EDSS παρόλο που αυτοί με υψηλά επίπεδα είχαν μεγαλύτερη τάση για EDSS>3.5 APA τα επίπεδα sNFLστη μελέτη αυτή φαίνεται να έχουν κυρίως ρόλο προγνωστικού βιοδείκτη για ενεργότητα και εξέλιξη νόσου ακόμη και μακροπρόθεσμα (συσχέτιση με T2 εστίες, εστίες με πρόσληψη Gd και εμφάνιση εγκεφαλικής ατροφίας μακροπρόθεσμα στα 5 και 10 έτη)
Long-term prognostic value of longitudinal measurements of blood neurofilament levels, Häring DA et al. 2020 [67]	RRMS (n=301) (δείγμα από υπομελέτες FREEDOMS και TRANSFORMS)	Τυχοποίηση για χορήγηση φινγκολιμόδης 0.5mgX1 (FREEDOMS), IFNβ1α (TRANSFORMS), placebo	-24 μήνες FREEDOMS -12 μήνες TRANSFORMS -10 έτη η επέκταση της μελέτης (LONGTERMS) με μακροπρόθεσμη παρακολούθηση	-Επίπεδα pNFL στην έναρξη της μελέτης και στους 6,12 (FREEDOMS και TRANSFORMS), 18 και 24 μήνες (μόνο στη FREEDOMS) -Κλινικά και παρακλινικά στοιχεία (εκατοστιαία απώλεια εγκεφαλικού όγκου, χρόνος έως EDSS περισσότερη ή ίση με 4.0, άλλες κλινικές δοκιμασίες) -MRI στην έναρξη της μελέτης, στους 6, 12 (FREEDOMS και TRANSFORMS), 24 μήνες (μόνο FREEDOMS) και ετησίως στην επέκταση της μελέτης -EDSS κάθε 3 μήνες -Λοιπές κλινικές δοκιμασίες ανά 6 μήνες και ετησίως στην επέκταση της μελέτης	Σύγκριση μεταξύ μονήρους μέτρησης και πολλαπλών μετρήσεων pNFL ως καλύτερο βιοδείκτη. Τα επίπεδα pNFL: -σε μονήρη μέτρηση στο χρόνο 0, συσχετίστηκαν με 2πλάσιο κίνδυνο EDSS>4.0 (αλλά όχι με τις υπόλοιπες κλίμακες όπως 6μηνη επίδειξη αναπηρίας, T25FWT, 9HPT, PASAT) ενώ ο μέσος όρος τουλάχιστον 3 μετρήσεων εντός 12μήνου και ο μέσος όρος τουλάχιστον 5 μετρήσεων εντός 24μήνου συσχετίστηκαν με μεγαλύτερη ακρίβεια με αυξημένο κίνδυνο για EDSS>4.0 καθώς και με άλλες κλινικές κλίμακες (μετρήσεις 24μήνου καλύτερη συσχέτιση) -σε μονήρη μέτρηση στο χρόνο 0 συσχετίστηκαν με μεγαλύτερη απώλεια εγκεφαλικού όγκου εντός 120 μηνών (στατιστικά σημαντική στα 3 έτη) με παρόμοια ευρήματα από τη μακροχρόνια μέτρηση των pNFL και χρήση του μέσου όρου των τιμών από μετρήσεις εντός 12μήνου ή 24μήνου APA η μέτρηση των pNFL και η χρήση του μέσου όρου των τιμών αυτής σε βάθος 12 και 24 μηνών, συσχετίστηκε καλύτερα και με μεγαλύτερη ακρίβεια με κλινικά κυρίως αποτελέσματα και κλίμακες συγκριτικά με μονήρη μέτρηση των επιπέδων sNFL χωρίς ιδιαίτερη διαφορά των δύο μετρήσεων στην περίπτωση συσχέτισης με την εμφάνιση εγκεφαλικής ατροφίας (σημαντική συσχέτιση με εγκεφαλική ατροφία αλλά όχι διαφορά μεταξύ των δύο τρόπων μέτρησης) (προγνωστικός βιοδείκτης)
Serum neurofilament is associated with progression of brain atrophy and disability in early MS, Kuhle J et al, 2017 [68]	CIS ή RRMS (<12 μήνες διάρκεια, με τουλάχιστον 2 σιωπηλές T2 σήματος εστίες στην αρχική MRI και χωρίς υποτροπή της νόσου ή χρήση κορτικοειδών τουλάχιστον 4 βδομάδες πριν την αρχική MRI στην έναρξη της μελέτης) n=42 εκ των οποίων οι n=22 έλαβαν ριουζόλη και οι n=20 placebo	-Τυχοποίηση για λήψη ριουζόλης 50mgX2 ή placebo -Ολοι ξεκίνησαν IFNβ1α IM 3 μήνες μετά	24 μήνες	-Επίπεδα sNFL και sNFH στην έναρξη της μελέτης, στους 12 και 24 μήνες -MRI στην έναρξη της μελέτης, στους 12 και 24 μήνες -Κλινικά δεδομένα (π.χ. EDSS)	-sNFL και sNFH δεν μεταβλήθηκαν με τη χορήγηση ριουζόλης -sNFL μειώθηκαν με το χρόνο και την αγωγή στους 24 μήνες (p=0.007) -Αλλαγές στα επίπεδα sNFL (όχι sNFH) συσχετίστηκαν την κλίμακα EDSS (10πλάσια αύξηση sNFL συσχετίστηκε με αύξηση EDSS κατά 0.5, p=0.009) ενώ δεν συσχετίστηκαν με T25FWT και 9HPT -sNFL συσχετίστηκαν αρνητικά με την απόδοση σε νευροψυχιατρικές κλίμακες αξιολόγησης -sNFL και sNFH δεν φάνηκε να έχουν διαφορά σε ασθενείς που

					<p>παρουσίασαν υποτροπή σε σχέση με τους υπόλοιπους ασθενείς</p> <p>-sNFL στο χρόνο 0 συσχετίστηκαν με αυξημένη απόλεια όγκου εγκεφαλικού παρεγχύματος (δχι sNFH)</p> <p>-υψηλά επίπεδα sNFL και sNFH στο χρόνο 0, συσχετίστηκαν με περισσότερες εστίες που προσλαμβάνουν Gd (δχι συσχέτιση με T2 εστίες)</p> <p>APA φάνηκε ο πιθανός ρόλος της μέτρησης των επιπέδων κυρίως των sNFL (και λιγότερο sNFH) ως βιοδείκτες με προγνωστική αξία (ενεργότητα και εξέλιξη νόσου) καθώς συσχετίστηκαν με χειρότερη απόδοση κλινικά (EDSS και νευροψυχιατρικές κλίμακες) και με εστίες που προσλαμβάνουν παραμαγνητική ουσία και με εγκεφαλική ατροφία, παρόλο που δεν φάνηκε διαφορά στην περίπτωση υποτροπών και σε σχέση με το φορτίο T2 εστιών.</p>
Dimethyl fumarate decreases neurofilament light chain in CSF and blood of treatment naïve relapsing MS patients, Sejbaek T, et al, 2019 [69]	<p>n=123 εκ των οποίων οι -n=52 με RRMS (με πρόσφατη διάγνωση, χωρίς φαρμακευτική αγωγή και με θετικές oligokλωνικές ζώνες στο ENY)</p> <p>-n=23 υγιή άτομα (HC) (χωρίς ιστορικό νευρολογικής νόσου και με φυσιολογική νευρολογική εξέταση, ανάλυση ENY και MRI)</p> <p>-n=48 με RRMS που έλαβαν placebo</p>	Χορήγηση φουμαρικού διμεθυλτεστέρρα (DMF) και placebo	12 μήνες	<p>-Επίπεδα sNFL, pNFL (στην έναρξη της μελέτης και στους 1,3,6,12 μήνες) και στο ENY (NFL_{ENY}) στην έναρξη της μελέτης και στους 12 μήνες</p> <p>-EDSS στην έναρξη της μελέτης και 1,3,6,12 μήνες μετά ή επί υποψίας υποτροπής</p> <p>-MRI στην έναρξη της μελέτης και 1,3-6 και 12 μήνες μετά</p>	<p>Τα επίπεδα NFL -συσχετίζονται μεταξύ τους στα 3 βιολογικά υγρά σε κάθε άτομο με μεγαλύτερη συγκέντρωση στο ENY>ορό>πλάσμα (pNFL=0.45xNFL_{ENY}, sNFL=0.52xNFL_{ENY}, pNFL=0.77x sNFL)</p> <p>-ήταν αυξημένα (στην έναρξη της μελέτης, πριν την έναρξη θεραπείας) στους ασθενείς με ΠΣ συγκριτικά με τους υγιείς και στα 3 βιολογικά υλικά</p> <p>-μειώθηκαν στατιστικά σημαντικά στους 12 μήνες με την λήψη DMF (ακόμη και από τους 6 μήνες) τόσο στο ENY (73%), όσο και στον ορό (69%) και στο πλάσμα (57%) φτάνοντας σε παρόμοια επίπεδα με αυτά των υγιών ατόμων</p> <p>-δεν μεταβλήθηκαν στην ομάδα RRMS που έλαβε εικονικό φάρμακο μετά από 12 μήνες</p> <p>-στο ENY στους 12 μήνες συσχετίστηκαν με ενεργότητα της νόσου (αυξημένο κίνδυνο υποτροπής και μεγαλύτερο φορτίο T2 εστιών στην MRI).</p> <p>-Τα sNFL και pNFL δεν φάνηκε να συσχετίστηκαν με την ενεργότητα νόσου 1 και 2 έτη μετά τη λήψη DMF</p> <p>APA από τη μελέτη αυτή φαίνεται ότι η μέτρηση των επιπέδων των NFL μπορεί να αποτελέσει διαγνωστικό βιοδείκτη της νόσου (σε ENY, πλάσμα και ορό είναι αυξημένα συγκριτικά με υγιή άτομα), προγνωστικό βιοδείκτη για ενεργότητα νόσου (σε ENY, και όχι σε πλάσμα ή ορό, που συσχετίστηκε με φορτίο T2 εστιών και αυξημένο κίνδυνο υποτροπής) καθώς και θεραπευτικό βιοδείκτη (πτώση των επιπέδων με τη θεραπεία-στη συγκεκριμένη περίπτωση DMF και επομένως θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για παρακολούθηση αποτελεσματικότητας αγωγής).</p>
CSF inflammatory biomarkers responsive to treatment in progressive multiple sclerosis capture residual inflammation associated with axonal damage, Romme Christensen J et al, 2018 [70]	PPMS και SPMS n=40 εκ των οποίων οι n=17 έλαβαν natalizumab και οι n=23 έλαβαν μεθυλπρεδνιζολόνη	Natalizumab ενδοφλέβια ή μεθυλπρεδνιζολόνη από το στόμα	60 εβδομάδες	<p>Επίπεδα στο ENY στην έναρξη της μελέτης και στις 60 εβδομάδες</p> <p>-sCD27 και sCD21</p> <p>-CHI3L1</p> <p>-Διάφορες χημειοκίνες και κυτοκίνες (IL7, IL10, TNFα κ.ά)</p> <p>-NFL</p> <p>-MBP</p>	<p>-sCD27 φαίνεται να μειώνεται στο ENY τόσο μετά από θεραπεία με NTZ όσο και μετά από λήψη μεθυλπρεδνιζολόνης από το στόμα (δείκτης αποτελεσματικότητας θεραπείας)</p> <p>Αποτελέσματα που αφορούν NFL στο ENY:</p> <p>-συσχέτιση NFL με διάφορες κυταροκίνες και άλλους</p>

					<p>βιοδείκτες στο ENY 60 εβδομάδες μετά τη θεραπεία (NTZ ή μεθυλπρεδνιζολόνη), με ισχυρότερη συσχέτιση με το sCD27, IL10 (δείκτες αποτελεσματικότητας θεραπείας) -δεν συσχετίζονται με EDSS αλλά συσχετίζεται με την κλίμακα MSIS</p> <p>APA στην παρούσα μελέτη αναδεικνύεται ο πιθανός ρόλος των επιπέδων NFL στο ENY ως προγνωστικός (συσχέτιση με MSIS αλλά όχι με EDSS) και θεραπευτικός (μείωση 60 εβδομάδες μετά την αγωγή με NTZ ή μεθυλπρεδνιζολόνη) βιοδείκτη ακόμη και σε προϊούσες μορφές της ΠΣ.</p>
Ofatumumab versus Teriflunomide in Multiple Sclerosis, Hauser SL, et al, 2020 [71]	RRMS και SPMS (18-55 ετών, με ενεργότητα νόσου, EDSS 0-5.5, 1 τουλάχιστον υποτροπή το προηγούμενο έτος, 2 τουλάχιστον υποτροπές τα τελευταία 2 έτη, ή τουλάχιστον 1 εστία που προσλαμβάνει Gd) n=1882 (μέση ηλικία περίπου 38 έτη) εκ των οποίων οι: -n=946 έλαβαν ofatumumab -n=936 έλαβαν τεριφλουνομίδη	Τυχαιοποίηση για χορήγηση: -Ofatumumab 20mg ανά 4 εβδομάδες υποδορίως (μετά από δόση εφόδου 20mg την 1 ^η , 7 ^η , 14 ^η ημέρα) (έλαβαν και placebo από το στόμα) -Τεριφλουνομίδη από το στόμα 14mgX1 (έλαβαν και placebo υποδόρια)	30 μήνες	-Ετήσια συχνότητα υποτροπών -Επιδείνωση αναπηρίας στους 3 ή 6 μήνες -Βελτίωση αναπηρίας στους 6 μήνες -MRI ευρήματα (αριθμός T1 εστιών που προσλαμβάνουν Gd, αριθμός νέων ή αυξανόμενων T2 εστιών ετησίως, όγκος εγκεφαλικού παρεγχύματος και μείωση αυτού ετησίως) -Επίπεδα NFL στον ορό (sNFL) στους 3, 12 και 24 μήνες	Οι ασθενείς που έλαβαν ofatumumab (συγκριτικά με αυτούς που έλαβαν τεριφλουνομίδη) φάνηκε να έχουν: -μικρότερη ετήσια συχνότητα υποτροπών (p<0.001) -μικρότερη επιδείνωση αναπηρίας στους 3 (p=0.002) και 6 μήνες (p=0.01) (χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά στην βελτίωση της αναπηρίας στους 6 μήνες, p=0.09) -λγότερες Gd+ T1 εστίες (94-97%, p<0.001) -λγότερες νέες ή αυξανόμενες T2 εστίες (82-85%, p<0.001) -δεν φάνηκε διαφορά όσο αφορά την απώλεια όγκου του εγκεφαλικού παρεγχύματος-ατροφίας εγκεφάλου μεταξύ τους -χαμηλότερα επίπεδα sNFL (7-11% στους 3 μήνες, 26-27% στους 12 μήνες και 23-24% στους 24 μήνες) -ήπια αυξημένες πιθανότητες ανεπιθύμητων ενεργειών (κυρίως σχετιζόμενων με την ενέσιμη οδό χορήγησης)
Neurofilament light chain in a phase 2 clinical trial of ibudilast in progressive multiple sclerosis, Fox RJ et al, 2021 [72]	PMS (PPMS ή SPMS) n=239 εκ των οποίων οι: -n=120 έλαβαν placebo -n=119 έλαβαν ibudilast	-Ibudilast 100mgX1 από το στόμα -Placebo	96 εβδομάδες	-MRI εγκεφάλου κάθε 24 εβδομάδες -Επίπεδα NFL στον ορό (sNFL) στην έναρξη της μελέτης, στις 8, 48 και 96 εβδομάδες και στο ENY στην έναρξη της μελέτης, στις 48 και 96 εβδομάδες	Τα επίπεδα NFL: -στο ENY και στον ορό συσχετίστηκαν μεταξύ τους -ήταν αυξημένα σε περίπτωση σοβαρής ανεπιθύμητης ενέργειας και ιστικής βλάβης από το ΚΝΣ ή φλεγμονώδους διαδικασίας σε αυτό (π.χ. κλινική υποτροπή ΠΣ, 3 ή περισσότερες νέες εστίες στην MRI) -αυξήθηκαν στην πορεία της μελέτης και στις 2 ομάδες (ibudilast και placebo) τόσο στον ορό όσο και στο ENY (p<0.001) ενώ δεν παρουσίασαν διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων -η λήψη ibudilast δεν επηρέασε τα επίπεδα NFL σε καμία ομάδα ενώ δεν μειώνει τη δημιουργία νέων απομυελινωτικών εστιών (ή την αύξηση προϋπάργοντων T2

					<p>εστιών) ούτε τη φλεγμονώδη ενεργότητα της νόσου</p> <p>APA στη μελέτη αυτή, που συμμετείχαν ασθενείς με προϊούσα μορφή της νόσου, δεν φάνηκε να παίζει διαδραματίζει ξεκάθαρο ρόλο η μέτρηση των επιπέδων NFL ως θεραπευτικό δείκτη για έλεγχο της αποτελεσματικότητας της αγωγής με ibudilast, ενώ επιβεβαιώθηκε ξανά ότι τα NFL αυξάνονται σε περίπτωση υποτροπής της νόσου ή απεικονιστικής ενεργότητας (προγνωστικός βιοδείκτης)</p>
Vitamin D, smoking, EBV, and long-term cognitive performance in MS, Cortese M et al, 2020 [73]	CIS n=278	INFβ1β με καθυστερημένη ή πρόωπη έναρξη σε CIS	11 έτη	<p>-Επίπεδα 25(OH)D, IgG έναντι EBV (anti-EBNA-1 και anti-VCA), κοτινίνης (βιοδείκτης (καπνίσματος) στην έναρξη της μελέτης και στους 6,12,24 μήνες [και 54,60 μήνες και 11 έτη για τη 25(OH)D]</p> <p>-Γνωστική απόδοση σε δοκιμασίες (π.χ. PASAT στην έναρξη της μελέτης, και στους 6,12,18,24,30,36,42,48, 54,60 μήνες και 11 έτη)</p> <p>-Επίπεδα sNFL στην έναρξη της μελέτης και στο 1 έτος και 11 έτη</p>	<p>-Τα επίπεδα sNFL στην έναρξη της μελέτης και στο 1^ο έτος δεν συσχετίστηκαν με την απόδοση στο PASAT στα 11 έτη</p> <p>-Τα επίπεδα sNFL στο 1^ο έτος συσχετίστηκαν καλύτερα με τα επίπεδα αυτών στα 11 έτη συγκριτικά με τη μέτρηση αυτών στην έναρξη της μελέτης</p> <p>-Υψηλότερα επίπεδα 25(OH)D συσχετίστηκαν με καλύτερη γνωστική απόδοση (στο PASAT), το κάπνισμα (επίπεδα κοτινίνης) με τάση για χειρότερη απόδοση (στο PASAT) ενώ τα επίπεδα Anti-EBNA-1 και anti-VCA δεν συσχετίστηκαν με τη γνωστική απόδοση</p> <p>-Τα επίπεδα sNFL ήταν μειωμένα σε όσους είχαν υψηλά επίπεδα 25(OH)D και υψηλότερα στους καπνιστές, χωρίς συσχέτιση με τα επίπεδα anti-EBNA-1 και anti-VCA</p> <p>APA η λήψη vitD και η διακοπή καπνίσματος πιθανόν να συμβάλλουν σε καλύτερη κλινική εικόνα της νόσου με τα sNFL τα μειώνονται και έτσι τα επίπεδα sNFL πιθανόν να παίζουν (έμμεσα) προγνωστικό ρόλο όπως και τα επίπεδα 25(OH)D και η διακοπή του καπνίσματος.</p>
Vitamin D supplementation and serum neurofilament light chain in interferon-beta-1b-treated MS patients, Hänninen K et al, 2020 [74]	RRMS (18-55 ετών, υπό IFNβ1β για τουλάχιστον 1 μήνα και χωρίς αντισώματα έναντι IFNβ με επίπεδα 25(OH)D κάτω από 85nmol/L) (n=32) (μέση ηλικία περίπου 38 έτη) εκ των οποίων οι: -n=17 έλαβαν συμπλήρωμα VitD (χοληκαλσιφερόλη) -n=15 έλαβαν placebo	-Χοληκαλσιφερόλη 20000IU -Placebo	52 εβδομάδες (1 έτος)	<p>-Επίπεδα sNFL (στην έναρξη, 6 και 12 μήνες)</p> <p>-Επίπεδα 25(OH)D (στην έναρξη, 6 και 12 μήνες)</p> <p>-MRI εγκεφάλου (αριθμός Gd+ εστιών, αριθμός νέων ή αυξανόμενων T2 εστιών, όγκος T2 εστιών, όγκος Gd+ T1 εστιών) (στην έναρξη και στους 12 μήνες)</p> <p>-Κλινική εικόνα και αναπηρία (EDSS και 25FWT)</p>	<p>Τα επίπεδα sNFL: -δεν διέφεραν μεταξύ της ομάδας που έλαβε VitD και εκείνης που έλαβε εικονικό φάρμακο τόσο στην έναρξη όσο και στους 12 μήνες ενώ επίσης δεν συσχετίστηκαν με την ηλικία, το δείκτη μάζας σώματος, τη διάρκεια νόσου και το κάπνισμα</p> <p>-ήταν υψηλότερα σε εκείνους που είχαν Gd(+) εστίες (p=0.014) και συσχετίστηκαν με τον όγκο αυτών στην έναρξη της μελέτης (όχι όμως στους 12 μήνες)</p> <p>-δεν συσχετίστηκαν με την κλίμακα EDSS και T25FWT ούτε στην έναρξη ούτε στους 12 μήνες</p> <p>-δεν συσχετίστηκαν με τον όγκο των T2 εστιών</p> <p>APA φαίνεται ότι τα επίπεδα sNFL πιθανόν να διαδραματίζουν προγνωστικό ρόλο για απεικονιστική ενεργότητα νόσου (συσχέτιση με Gd+ εστίες και όγκο αυτών) χωρίς να φαίνεται (από αυτή τη μελέτη) συσχέτιση με κλινικά ευρήματα και κλίμακες αναπηρίας (EDSS, T25FWT)</p>
Exercise Diminishes Plasma Neurofilament Light Chain and Reroutes the Kynurenine Pathway in Multiple Sclerosis, Joisten N et al, 2021 [75]	Ασθενείς με ΠΣ (RRMS ή SPMS, ηλικίας >21 έτη και με EDSS 3.0-6.0 (n=69) εκ των οποίων -n=35 υποβλήθηκαν σε υψηλής έντασης άσκηση	-Χωρίς φαρμακολογική παρέμβαση -Τυχαιοποίηση ως προς πρόγραμμα αυξημένης ή κανονικής/μέτριας έντασης άσκηση (πρόγραμμα για 3 εβδομάδες, 3 φορές	3 εβδομάδες	<p>-Επίπεδα pNFL και κυνορενίνης (KYN) και του παραγώγου του κυνορενικού οξυ (KA) πριν (t₀), αμέσως μετά (t₁) και 3 ώρες μετά (t₂) την πρώτη άσκηση καθώς και 3 εβδομάδες μετά (t₃)</p> <p>-Γνωστική λειτουργία</p>	<p>Τα επίπεδα pNFL: -στην έναρξη της μελέτης, πριν την πρώτη άσκηση, συσχετίστηκαν αρνητικά με απόδοση σε γνωστικές δοκιμασίες ενώ συσχετίστηκαν αρνητικά και με το λόγο KA/KYN και τα επίπεδα KA (KA φαίνεται να έχει προστατευτική δράση) (p=0.029)</p> <p>-μειώθηκαν μετά την οξεία</p>

	-n=34 σε μέτριας έντασης άσκηση	εβδομαδιαίως)		με BICAM στην έναρξη της μελέτης	<p>άσκηση ενώ αυξήθηκε και η KYN οδός προς παραγωγή του μεταβολίτη της KYN, το κινουρενικό οξύ (KA)</p> <p>-μειώθηκαν περισσότερο στο μεγάλης έντασης πρόγραμμα άσκησης συγκριτικά με το κανονικό-μέτριας έντασης (μείωση αμέσως μετά την άσκηση αλλά αύξηση στις 3 ώρες μετά από την κανονικής έντασης άσκηση, μείωση αμέσως μετά αλλά και στις 3 ώρες μετά από τη μεγάλης έντασης άσκηση)</p> <p>Επίσης περισσότερο με την υψηλής έντασης άσκηση, συγκριτικά με την μέτριας έντασης, αυξήθηκαν τα επίπεδα KA</p> <p>-Δεν φάνηκαν να διαφέρουν πολύ στο τέλος του προγράμματος (όχι μακρόχρονη μείωση μετά την άσκηση στις 3 εβδομάδες)</p> <p>APA φαίνεται ότι τα επίπεδα sNFL θα μπορούσαν να είναι δείκτης προγνωστικός καθώς συσχετίστηκε με χειρότερη επίδοση σε γνωστικές δοκιμασίες. Επίσης η άσκηση μείωσε τα επίπεδα pNFL και αύξησε τα επίπεδα KA, αποτέλεσμα όμως που φάνηκε μόνο μετά από οξεία άσκηση και δεν διατηρήθηκε στις 3 εβδομάδες.</p>
Dimethyl Fumarate Treatment in Patients With Primary Progressive Multiple Sclerosis, Hojsgaard Chow H et al, 2021 [76]	<p>PPMS (ηλικίας 18-65 ετών, EDSS 0-6.5 και επίπεδα NFL στο ENY >380ng/l) (μέση ηλικία 54.9 έτη) (n=54) εκ των οποίων οι:</p> <p>-n=27 έλαβαν DMF</p> <p>-n=27 έλαβαν placebo</p> <p>(επίσης χρησιμοποιήθηκε δείγμα προς σύγκριση, ομάδα ελέγχου, με άτομα που είχαν νευρολογικό σύμπτωμα χωρίς βέβαιη νευρολογική νόσο)</p>	Τυχαιοποίηση για λήψη	48 εβδομάδες	<p>-Επίπεδα NFL, MBP, sCD27, CHI3L1 και αντιγόνο ωριμάνσης B Λεμφοκυττάρων-BCMA, sCD14, IgG index, κλάσμα αλβουμίνης στο ENY (στην έναρξη της μελέτης και 48 εβδομάδες μετά)</p> <p>-Κλινική εικόνα (βάδισμα, λειτουργικά συστήματα, EDSS κάθε 24 εβδομάδες, T25FWT, 9HPT, SDWT καθώς επίσης και κλινική εξέταση κάθε 24 εβδομάδες για πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες)</p> <p>-Αιματολογικός έλεγχος κάθε 12 εβδομάδες</p> <p>-MRI εγκεφάλου έως επίπεδο αυχενικού σπονδύλου A2 (αλλαγές στη λευκή ουσία, εστίες, όγκος θαλαμικών περιοχών, νέες ή αυξανόμενες T2 εστίες, εκατοστιαία αλλαγή στον όγκο του εγκεφάλου στην έναρξη της μελέτης και στις 48 εβδομάδες)</p>	<p>-Τα επίπεδα NFL στο ENY δεν διέφεραν στην ομάδα που έλαβε DMF με εκείνη που έλαβε placebo (τόση για μείωση μη στατιστικά σημαντική, p=0.61) όπως και όλες οι άλλες μετρήσεις στο ENY (εξαιρέσει αποτελούν τα επίπεδα MBP που ήταν μειωμένα στην DMF ομάδα)</p> <p>-Τα επίπεδα NFL, sCD27,CHI3L1, BMCA ήταν αυξημένα συγκριτικά με την ομάδα την ομάδα ελέγχου (πλην sCD14)</p> <p>-Δεν ανευρέθηκαν απεικονιστικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων, όπως και στα κλινικά ευρήματα</p> <p>-Ο DMF συσχετίστηκε με αυξημένη συχνότητα ανεπιθύμητων ενεργειών (παρόμοια συχνότητα όμως σοβαρών ανεπιθύμητων ενεργειών)</p> <p>APA φαίνεται από τη μελέτη αυτή, ότι τουλάχιστον όσο αφορά ασθενείς με προϊούσα μορφή της νόσου (PPMS), η χρήση των NFL στο ENY δεν συμβάλει ιδιαίτερα ως προγνωστικός ή θεραπευτικός βιοδείκτης (δεν διέφεραν τα επίπεδα αυτού) στα πλαίσια λήψης DMF. Όλοι οι ασθενείς όμως είχαν αυξημένα επίπεδα NFL στο ENY συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου (ασθενείς που δεν έπασχαν από ΠΣ) (διαγνωστικός βιοδείκτης) (πιθανή χρήση ως θεραπευτικό βιοδείκτη μόνο η MBP που μειώθηκε στην DMF ομάδα). Αν θεωρηθεί όμως ως θεραπευτικός βιοδείκτης, θα συμπεραίναμε πως ο DMF δεν φαίνεται να είναι η κατάλληλη αγωγή σε προϊούσα μορφή.</p>
Comparison of plasma and cerebrospinal fluid neurofilament light in a multiple sclerosis trial, de Flon P et al, 2019 [77]	RRMS (n=75) οι οποίοι έλαβαν rituximab (αλλαγή από 1 ^{ης} γραμμής DMT) (μελέτη STRIX-MS) με σταθερή νόσο, εκ των οποίων οι n=30 συμπεριλήφθηκαν	Rituximab -σε χαμηλές δόσεις (500mg ενδοφλέβια κάθε εξάμηνο για 1 έτος σε άτομα >50ετών, χωρίς σημεία ενεργότητας νόσου) -σε υψηλές δόσεις	-2 έτη αρχική μελέτη (STRIX-MS) -επιπλέον 3 έτη (έως 5 έτη συνολικά δηλαδή) στην επέκτασή της	-Επίπεδα NFL στο πλάσμα και στο ENY ετησίως (στην έναρξη της μελέτης και στα έτη 1,2,3,4,5)	<p>Τα επίπεδα NFL: -στο πλάσμα και στο ENY, συσχετίστηκαν μεταξύ τους (p<0.001) (αύξηση των επιπέδων στο ένα βιολογικό υγρό συσχετίστηκε με αύξηση στο άλλο)</p> <p>-μειώθηκαν με την αγωγή παρουσιάζοντας χαμηλότερη</p>

	στην επέκταση της μελέτης (STRIX-MS extension) (μέση ηλικία περίπου 40 έτη)	(1000mg ενδοφλέβια κάθε εξάμηνο για 1 έτος και έπειτα 1000mg ετησίως για τα υπόλοιπα 2 έτη της μελέτης σε άτομα που δεν πληρούσαν τα κριτήρια χαμηλής δόσης)			ευαισθησία στο πλάσμα συγκριτικά με το ENY (μείωση με την αγωγή δεν ήταν στατιστικά σημαντική ταυτόχρονα στα ίδια στιγμιότυπα και στα δύο βιολογικά υγρά) ΑΡΑ στη συγκεκριμένη μελέτη, φάνηκε ότι τα επίπεδα των NFL στο αίμα (πλάσμα-ορός) αποτελούν πιθανόν βιοδείκτη με χαμηλότερη ευαισθησία συγκριτικά με το ENY.
--	---	--	--	--	---

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η ανίχνευση βιοδεικτών που να επιτελούν διαγνωστικούς, προγνωστικούς και θεραπευτικούς σκοπούς για την πολλαπλή σκλήρυνση αποτελεί σημαντικό στόχο της ερευνητικής κοινότητας. Τα τελευταία χρόνια έχει αναδειχθεί και διερευνηθεί ο ρόλος διάφορων μορίων για τους στόχους αυτούς με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Δύο τέτοια μόρια, που αποτελούν και τον πυρήνα της παρούσας εργασίας-βιβλιογραφικής ανασκόπησης, είναι η μέτρηση των επιπέδων της πρωτεΐνης GFAP και των NFL σε διάφορα βιολογικά υλικά του ανθρώπου με σκοπό την διερεύνηση αυτών ως βιοδείκτες στην πολλαπλή σκλήρυνση. Στην ανασκόπηση αυτή συμπεριλήφθηκαν συνολικά 21 άρθρα που αφορούν μελέτες στα μόρια αυτά (3 για την GFAP και 18 για τα NFL) με μέτρηση των επιπέδων αυτών τόσο στο ENY όσο και στο αίμα.

Η πρωτεΐνη GFAP μελετήθηκε περισσότερο στο ENY (2 από τις 3 μελέτες) με μόλις 1 μελέτη που συμπεριλήφθηκε στην ανασκόπηση να αφορά μέτρηση στον ορό, με έμμεσα μάλιστα αποτελέσματα καθώς αφορούσε πρωταρχικά μελέτη σχετικά με NMOSD. Συνοπτικά η GFAP φαίνεται να αποτελεί **διαγνωστικό** βιοδείκτη για την ΠΣ με αυξημένα επίπεδα αυτής στο ENY (αλλά και στο αίμα) συγκριτικά με υγιή άτομα. Όσο αφορά το ρόλο της ως **προγνωστικό** βιοδείκτη, τα επίπεδα αυτής συσχετίστηκαν με τη βαρύτητα των νευρολογικών ελλειμμάτων και τη δυσλειτουργία και αναπηρία των ασθενών και με την κλίμακα EDSS (σε αντίθεση με τα NFL) ενώ μετρήθηκε σε πιο αυξημένους τίτλους στο ENY σε ασθενείς με προϊούσα μορφή της νόσου συγκριτικά με υποτροπιάζουσα μορφή. Έτσι, φαίνεται να συσχετίζεται με την ενεργότητα, βαρύτητα (κλινική κυρίως) αλλά και εξέλιξη της ΠΣ (π.χ. διερεύνηση για πιθανή μετάπτωση σε SPMS). Σε αντίθεση με τα NFL, η GFAP δεν συσχετίστηκε με την κλινική φάση της νόσου και δεν αυξήθηκε στη φάση των υποτροπών αναδεικνύοντας έτσι τα διάφορα παθοφυσιολογικά μονοπάτια της νόσου. Πολλά μονοπάτια που αφορούν τη πρωτεΐνη αυτή παραμένουν αδιερεύνητα με το ερευνητικό ενδιαφέρον να είναι μεγάλο προς την κατεύθυνση αυτή. Η περαιτέρω ανάλυση του GFAP σε ENY αλλά κυρίως σε αίμα (ορός και πλάσμα) με τον σχεδιασμό μεγαλύτερων κλινικών μελετών (μεγαλύτερο δείγμα ατόμων), με τυχαίοποιημένα πρωτόκολλα, χρήση ομάδας ελέγχου και εικονικών φαρμάκων, και η συσχέτιση των επιπέδων

της GFAP με κλινικές, απεικονιστικές και θεραπευτικές παραμέτρους, θα θέσουν τα θεμέλια για την μεγαλύτερη ανάδειξη ή μη της πρωτεΐνης αυτής ως βιοδείκτη στην πολλαπλή σκλήρυνση.

Από την άλλη, ένας αρκετά εκτενέστερα μελετημένος βιοδείκτης αποτελεί η μέτρηση των επιπέδων των νευροϊνιδίων (κυρίως της ελαφράς αλύσου – NFL) σε διάφορα βιολογικά υλικά του ανθρώπου (έχει μελετηθεί κυρίως σε ENY, αίμα – ορό και πλάσμα, ενώ τα τελευταία χρόνια μελετάται στο σίελο, ακόμη και στα δάκρυα). Συμπεράσματα για τα επίπεδα των NFL στην παρούσα εργασία, αντλούνται από 18 μελέτες που δημοσιεύθηκαν την τελευταία πενταετία. Επιγραμματικά, τα επίπεδα NFL στις μελέτες αυτές κατείχαν διαγνωστικό, προγνωστικό και θεραπευτικό ρόλο. Όσο αφορά τη συμβολή τους στο **διαγνωστικό** σκέλος, τα επίπεδα NFL ήταν αυξημένα σε όλους τους ασθενείς με ΠΣ (ανεξάρτητα από την πορεία και τον τύπο της νόσου, ήταν όμως περισσότερο αυξημένα σε περίπτωση RRMS) συγκριτικά με τον υγιή πληθυσμό, ενώ συνέβαλαν στη διάκριση ασθενών με PML και υποτροπή της νόσου (πιο αυξημένα σε PML κατά 8 περίπου φορές). Ως προγνωστικός βιοδείκτης (ενεργότητα, πορεία και εξέλιξη της νόσου), τα επίπεδα NFL συσχετίστηκαν με απεικονιστική ενεργότητα (επιδείνωση στην MRI – εστίες και ατροφία εγκεφαλικού παρεγχύματος), επιδεινωμένο γνωστικό επίπεδο και χειρότερη απόδοση σε νευροψυχιατρικές δοκιμασίες, με αυξημένη συχνότητα υποτροπών (και πρόβλεψη αυτών), αυξήθηκαν ιδιαίτερα στη φάση οξείας υποτροπής ενώ συνέβαλαν και σε πρόβλεψη (ακόμη και μακροπρόθεσμη) ενεργότητα νόσου. Σε αντίθεση με την GFAP, τα νευροϊνίδια δεν συσχετίστηκαν ιδιαίτερα με την κλίμακα EDSS ούτε με την ηλικία των ασθενών. Τέλος, στο **θεραπευτικό** σκέλος, τα επίπεδα των NFL φαίνεται πως συσχετίζονται με την ανταπόκριση στην θεραπευτική αγωγή (μειώθηκαν σε ασθενείς που λάμβαναν θεραπευτική αγωγή και που είχαν βελτιωμένη κλινική και απεικονιστική εικόνα – χρήση για παρακολούθηση ανταπόκρισης στην αγωγή, κυρίως σε RRMS) και πιθανών συμβάλλουν στην πρόβλεψη και διάγνωση ανεπιθύμητων ενεργειών της αγωγής (π.χ. σε πολύ αυξημένα επίπεδα στην περίπτωση PML σε ασθενείς υπό NTZ, ενώ αυξημένα επίπεδα συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο PML). Απαιτούνται βέβαια περαιτέρω μελέτες για την πλήρη αποσαφήνιση του ρόλου των NFL ως βιοδείκτη στην ΠΣ και για τυχόν περιορισμούς που τυχόν υπάρχουν σε μία τέτοια περίπτωση. Επιπλέον απαιτείται εκτενής μελέτη των βιοδεικτών αυτών για την διερεύνηση των επιπέδων τους σε δείγματα αίματος (ορού και πλάσματος) ή σε άλλα εύκολα προσβάσιμα βιολογικά υλικά, διότι για ανάλυση ENY απαιτείται ΟΝΠ, μία σχετικά επεμβατική πρακτική που απαιτεί ιδιαίτερες συνθήκες και δεν δύναται να πραγματοποιείται με την ίδια συχνότητα και ευκολία.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Racke MK, Frohman EM, Frohman T. Pain in Multiple Sclerosis: Understanding Pathophysiology, Diagnosis, and Management Through Clinical Vignettes [Internet]. Vol. 12, *Frontiers in Neurology*. Frontiers Media SA; 2022. Available from: <http://dx.doi.org/10.3389/fneur.2021.799698>
2. Cotsapas C, Mitrovic M, Hafler D. Multiple sclerosis [Internet]. *Neurogenetics, Part II*. Elsevier; 2018. p. 723–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-64076-5.00046-6>
3. Reich DS, Lucchinetti CF, Calabresi PA. Multiple Sclerosis [Internet]. Longo DL, editor. Vol. 378, *New England Journal of Medicine*. Massachusetts Medical Society; 2018. p. 169–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra1401483>
4. Dobson R, Giovannoni G. Multiple sclerosis – a review [Internet]. Vol. 26, *European Journal of Neurology*. Wiley; 2018. p. 27–40. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/ene.13819>
5. Alroughani R, Yamout B. Multiple Sclerosis [Internet]. Vol. 38, *Seminars in Neurology*. Georg Thieme Verlag KG; 2018. p. 212–25. Available from: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0038-1649502>
6. Thompson AJ, Baranzini SE, Geurts J, Hemmer B, Ciccarelli O. Multiple sclerosis [Internet]. Vol. 391, *The Lancet*. Elsevier BV; 2018. p. 1622–36. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)30481-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30481-1)
7. Andravizou A, Dardiotis E, Artemiadis A, Sokratous M, Siokas V, Tsouris Z, Aloizou AM, Nikolaidis I, Bakirtzis C, Tsivgoulis G, Deretzi G, Grigoriadis N, Bogdanos DP, Hadjigeorgiou GM. Brain atrophy in multiple sclerosis: mechanisms, clinical relevance and treatment options. *Auto Immun Highlights*. 2019;10(1):7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13317-019-0117-5>
8. Dardiotis E, Tsouris Z, Aslanidou P, Aloizou AM, Sokratous M, Provas A, Siokas V, Deretzi G, Hadjigeorgiou GM. Body mass index in patients with Multiple Sclerosis: a meta-analysis. *Neurol Res*. 2019;41(9):836-46. Available from <http://dx.doi.org/10.1080/01616412.2019.1622873>
9. Tsivgoulis G, Katsanos AH, Grigoriadis N, Hadjigeorgiou GM, Heliopoulos I, Papathanasopoulos P, Kilidireas C, Voumvourakis K, Dardiotis E. The Effect of Disease Modifying Therapies on Disease Progression in Patients with Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2015;10(12):e0144538. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0144538>

10. Filippi M, Bar-Or A, Piehl F, Preziosa P, Solari A, Vukusic S, et al. Multiple sclerosis [Internet]. Vol. 4, Nature Reviews Disease Primers. Springer Science and Business Media LLC; 2018. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41572-018-0041-4>
11. Kamm CP, Uitdehaag BM, Polman CH. Multiple Sclerosis: Current Knowledge and Future Outlook [Internet]. Vol. 72, European Neurology. S. Karger AG; 2014. p. 132–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1159/000360528>
12. Siokas V, Katsiardanis K, Aloizou AM, Bakirtzis C, Liampas I, Koutlas E, Rudolf J, Ntinoulis K, Kountouras J, Dardiotis E, Deretzi G. Impact of Body Mass Index on the Age of Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis Onset: A Retrospective Study. *Neurol Int.* 2021;13(4):517-26. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/neurolint13040051>
13. Dardiotis E, Nousia A, Siokas V, Tsouris Z, Andravizou A, Mentis AA, Florou D, Messinis L, Nasios G. Efficacy of computer-based cognitive training in neuropsychological performance of patients with multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *Mult Scler Relat Disord.* 2018;20:58-66. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msard.2017.12.017>
14. Hadjigeorgiou GM, Kountra PM, Koutsis G, Tsimourtou V, Siokas V, Dardioti M, Rikos D, Marogianni C, Aloizou AM, Karadima G, Ralli S, Grigoriadis N, Bogdanos D, Panas M, Dardiotis E. Replication study of GWAS risk loci in Greek multiple sclerosis patients. *Neurol Sci.* 2019;40(2):253-60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10072-018-3617-6>
15. Siokas V, Tsouris Z, Aloizou AM, Bakirtzis C, Liampas I, Koutsis G, Anagnostouli M, Bogdanos DP, Grigoriadis N, Hadjigeorgiou GM, Dardiotis E. Multiple Sclerosis: Shall We Target CD33? *Genes (Basel).* 2020;11(11). Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/genes11111334>
16. Sokratous M, Dardiotis E, Bellou E, Tsouris Z, Michalopoulou A, Dardioti M, Siokas V, Rikos D, Tsatsakis A, Kovatsi L, Bogdanos DP, Hadjigeorgiou GM. CpG Island Methylation Patterns in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis. *J Mol Neurosci.* 2018;64(3):478-84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s12031-018-1046-x>
17. Sokratous M, Dardiotis E, Tsouris Z, Bellou E, Michalopoulou A, Siokas V, Arseniou S, Stamati T, Tsivgoulis G, Bogdanos D, Hadjigeorgiou GM. Deciphering the role of DNA methylation in multiple sclerosis: emerging issues. *Auto Immun Highlights.* 2016;7(1):12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s13317-016-0084-z>
18. Dendrou CA, Fugger L, Friese MA. Immunopathology of multiple sclerosis [Internet]. Vol. 15, Nature Reviews Immunology. Springer Science and Business Media LLC; 2015. p. 545–58. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nri3871>

19. Howard J, Trevick S, Younger DS. Epidemiology of Multiple Sclerosis [Internet]. Vol. 34, Neurologic Clinics. Elsevier BV; 2016. p. 919–39. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ncl.2016.06.016>
20. Sospedra M, Martin R. Immunology of Multiple Sclerosis [Internet]. Vol. 36, Seminars in Neurology. Georg Thieme Verlag KG; 2016. p. 115–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0036-1579739>
21. Garg N, Smith TW. An update on immunopathogenesis, diagnosis, and treatment of multiple sclerosis [Internet]. Vol. 5, Brain and Behavior. Wiley; 2015. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/brb3.362>
22. Riedhammer C, Weissert R. Antigen Presentation, Autoantigens, and Immune Regulation in Multiple Sclerosis and Other Autoimmune Diseases [Internet]. Vol. 6, Frontiers in Immunology. Frontiers Media SA; 2015. Available from: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2015.00322>
23. Calabresi P, Schiess N. Multiple Sclerosis [Internet]. Vol. 36, Seminars in Neurology. Georg Thieme Verlag KG; 2016. p. 350–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0036-1585456>
24. Daroff R, Bradley W. Bradley's neurology in clinical practice. 7th ed. Philadelphia, Pa.: Elsevier/Saunders; 2016. Chapter: 80. Multiple Sclerosis and Other Inflammatory Demyelinating Diseases of the Central Nervous System; pp.1159-1174
25. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: An expanded disability status scale (EDSS) [Internet]. Vol. 33, Neurology. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health); 1983. p. 1444–1444. Available from: <http://dx.doi.org/10.1212/wnl.33.11.1444>
26. Cohen M, Bresch S, Thommel Rocchi O, Morain E, Benoit J, Levraut M, et al. Should we still only rely on EDSS to evaluate disability in multiple sclerosis patients? A study of inter and intra rater reliability [Internet]. Vol. 54, Multiple Sclerosis and Related Disorders. Elsevier BV; 2021. p. 103144. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msard.2021.103144>
27. sen sedat. NEUROSTATUS AND EDSS CALCULATION WITH CASES [Internet]. Archives of Neuropsychiatry. Turk Noropsikiyatri Dernegi; 2018. Available from: <http://dx.doi.org/10.29399/npa.23412>
28. Brownlee WJ, Hardy TA, Fazekas F, Miller DH. Diagnosis of multiple sclerosis: progress and challenges [Internet]. Vol. 389, The Lancet. Elsevier BV; 2017. p. 1336–46. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30959-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30959-X)
29. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria [Internet]. Vol. 17, The

- Lancet Neurology. Elsevier BV; 2018. p. 162–73. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30470-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30470-2)
30. Γρηγοριάδης Νικόλαος, Βουμβουράκης Κωνσταντίνος, Ηλιόπουλος Ιωάννης, Κυλιντηρέας Κωνσταντίνος, Παπαθανασόπουλος Παναγιώτης, Πελίδου Ερριέττα-Συγκλητή, Χατζηγεωργίου Γεώργιος. Συστάσεις για τη διαχείριση των τροποποιητικών της νόσου παραγόντων στην πολλαπλή σκλήρυνση. *Νευροανοσολογία*, 2019;1(1):6-15
 31. Sailer M, Lindquist S, Sickert A, Lamprecht J. Multiple Sklerose: Neurorehabilitation und symptomatische Therapie [Internet]. Vol. 58, Die Rehabilitation. Georg Thieme Verlag KG; 2019. p. 339–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1055/a-0755-1398>
 32. Aronson JK, Ferner RE. Biomarkers—A General Review [Internet]. Vol. 76, Current Protocols in Pharmacology. Wiley; 2017. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/cpph.19>
 33. Wishart DS, Bartok B, Oler E, Liang KYH, Budinski Z, Berjanskii M, et al. MarkerDB: an online database of molecular biomarkers [Internet]. Vol. 49, Nucleic Acids Research. Oxford University Press (OUP); 2020. p. D1259–67. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkaa1067>
 34. Chen XH, Huang S, Kerr D. Biomarkers in clinical medicine. *IARC Sci Publ.* 2011;(163):303-22. PMID: 22997869.
 35. Califf RM. Biomarker definitions and their applications [Internet]. Vol. 243, Experimental Biology and Medicine. SAGE Publications; 2018. p. 213–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/1535370217750088>
 36. Coon KD, Dunckley T, Stephan DA. Biomarker identification in neurologic diseases: improving diagnostics and therapeutics [Internet]. Vol. 4, Expert Review of Molecular Diagnostics. Informa UK Limited; 2004. p. 361–75. Available from: <http://dx.doi.org/10.1586/14737159.4.3.361>
 37. Jeromin A, Bowser R. Biomarkers in Neurodegenerative Diseases [Internet]. *Advances in Neurobiology*. Springer International Publishing; 2017. p. 491–528. Available from: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-57193-5_20
 38. Barro C, Zetterberg H. The blood biomarkers puzzle – A review of protein biomarkers in neurodegenerative diseases [Internet]. Vol. 361, *Journal of Neuroscience Methods*. Elsevier BV; 2021. p. 109281. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneumeth.2021.109281>
 39. Teunissen CE, Verheul C, Willemse EAJ. The use of cerebrospinal fluid in biomarker studies [Internet]. *Cerebrospinal Fluid in Neurologic Disorders*. Elsevier; 2018. p. 3–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-804279-3.00001-0>

40. Chase Huizar C, Raphael I, Forsthuber TG. Genomic, proteomic, and systems biology approaches in biomarker discovery for multiple sclerosis [Internet]. Vol. 358, Cellular Immunology. Elsevier BV; 2020. p. 104219. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cellimm.2020.104219>
41. El Ayoubi NK, Khoury SJ. Blood Biomarkers as Outcome Measures in Inflammatory Neurologic Diseases [Internet]. Vol. 14, Neurotherapeutics. Springer Science and Business Media LLC; 2016. p. 135–47. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s13311-016-0486-7>
42. Housley WJ, Pitt D, Hafler DA. Biomarkers in multiple sclerosis [Internet]. Vol. 161, Clinical Immunology. Elsevier BV; 2015. p. 51–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2015.06.015>
43. Mirzaii-Dizgah M-H, Mirzaii-Dizgah M-R, Mirzaii-Dizgah I. Serum and Saliva Myelin Basic Protein as Multiple Sclerosis Biomarker [Internet]. Basic and Clinical Neuroscience Journal. Negah Scientific Publisher; 2021. Available from: <http://dx.doi.org/10.32598/bcn.2021.950.2>
44. Ziemssen T, Akgün K, Brück W. Molecular biomarkers in multiple sclerosis [Internet]. Vol. 16, Journal of Neuroinflammation. Springer Science and Business Media LLC; 2019. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12974-019-1674-2>
45. Gul M, Azari Jafari A, Shah M, Mirmoenei S, Haider SU, Moinuddin S, et al. Molecular Biomarkers in Multiple Sclerosis and Its Related Disorders: A Critical Review [Internet]. Vol. 21, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2020. p. 6020. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21176020>
46. Jafari A, Babajani A, Rezaei-Tavirani M. Multiple Sclerosis Biomarker Discoveries by Proteomics and Metabolomics Approaches [Internet]. Vol. 16, Biomarker Insights. SAGE Publications; 2021. p. 117727192110133. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/11772719211013352>
47. DiSano KD, Gilli F, Pachner AR. Intrathecally produced CXCL13: A predictive biomarker in multiple sclerosis [Internet]. Vol. 6, Multiple Sclerosis Journal - Experimental, Translational and Clinical. SAGE Publications; 2020. p. 205521732098139. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/2055217320981396>
48. Comabella M, Sastre-Garriga J, Montalban X. Precision medicine in multiple sclerosis [Internet]. Vol. 29, Current Opinion in Neurology. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health); 2016. p. 254–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1097/WCO.0000000000000336>

49. Alonso R, Gonzalez-Moron D, Garcea O. Optical coherence tomography as a biomarker of neurodegeneration in multiple sclerosis: A review [Internet]. Vol. 22, Multiple Sclerosis and Related Disorders. Elsevier BV; 2018. p. 77–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msard.2018.03.007>
50. Varhaug KN, Torkildsen Ø, Myhr K-M, Vedeler CA. Neurofilament Light Chain as a Biomarker in Multiple Sclerosis [Internet]. Vol. 10, Frontiers in Neurology. Frontiers Media SA; 2019. Available from: <http://dx.doi.org/10.3389/fneur.2019.00338>
51. Bittner S, Oh J, Havrdová EK, Tintoré M, Zipp F. The potential of serum neurofilament as biomarker for multiple sclerosis [Internet]. Vol. 144, Brain. Oxford University Press (OUP); 2021. p. 2954–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awab241>
52. Kouchakim E, Dashti F, Mirazimi SMA, Alirezaei Z, Jafari SH, Hamblin MR, et al. Neurofilament light chain as a biomarker for diagnosis of multiple sclerosis. EXCLI Journal; 20:Doc1308; ISSN 1611-2156 [Internet]. 2021; Available from: <https://www.excli.de/index.php/excli/article/view/3973>
53. Barro C, Chitnis T, Weiner HL. Blood neurofilament light: a critical review of its application to neurologic disease [Internet]. Vol. 7, Annals of Clinical and Translational Neurology. Wiley; 2020. p. 2508–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/acn3.51234>
54. Sun M, Liu N, Xie Q, Li X, Sun J, Wang H, et al. A candidate biomarker of glial fibrillary acidic protein in CSF and blood in differentiating multiple sclerosis and its subtypes: A systematic review and meta-analysis [Internet]. Vol. 51, Multiple Sclerosis and Related Disorders. Elsevier BV; 2021. p. 102870. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msard.2021.102870>
55. Middeldorp J, Hol EM. GFAP in health and disease [Internet]. Vol. 93, Progress in Neurobiology. Elsevier BV; 2011. p. 421–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pneurobio.2011.01.005>
56. Abdelhak A, Foschi M, Abu-Rumeileh S, Yue JK, D'Anna L, Huss A, et al. Blood GFAP as an emerging biomarker in brain and spinal cord disorders [Internet]. Nature Reviews Neurology. Springer Science and Business Media LLC; 2022. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41582-021-00616-3>
57. Rosengren LE, Lycke J, Andersen O. Glial fibrillary acidic protein in CSF of multiple sclerosis patients: relation to neurological deficit [Internet]. Vol. 133, Journal of the Neurological Sciences. Elsevier BV; 1995. p. 61–5. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/0022-510x\(95\)00152-r](http://dx.doi.org/10.1016/0022-510x(95)00152-r)

58. Malmestrom C, Haghighi S, Rosengren L, Andersen O, Lycke J. Neurofilament light protein and glial fibrillary acidic protein as biological markers in MS [Internet]. Vol. 61, Neurology. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health); 2003. p. 1720–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1212/01.wnl.0000098880.19793.b6>
59. Aktas O, Smith MA, Rees WA, Bennett JL, She D, Katz E, et al. Serum Glial Fibrillary Acidic Protein: A Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder Biomarker [Internet]. Vol. 89, Annals of Neurology. Wiley; 2021. p. 895–910. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/ana.26067>
60. Fissolo N, Pignolet B, Rio J, Vermersch P, Ruet A, deSèze J, et al. Serum Neurofilament Levels and PML Risk in Patients With Multiple Sclerosis Treated With Natalizumab [Internet]. Vol. 8, Neurology - Neuroimmunology Neuroinflammation. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health); 2021. p. e1003. Available from: <http://dx.doi.org/10.1212/NXI.0000000000001003>
61. Smolders J, Mimpfen M, Oechtering J, Damoiseaux J, Ouweland J, Hupperts R, et al. Vitamin D 3 supplementation and neurofilament light chain in multiple sclerosis [Internet]. Vol. 141, Acta Neurologica Scandinavica. Wiley; 2019. p. 77–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/ane.13185>
62. Kuhle J, Kropshofer H, Haering DA, Kundu U, Meinert R, Barro C, et al. Blood neurofilament light chain as a biomarker of MS disease activity and treatment response [Internet]. Vol. 92, Neurology. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health); 2019. p. e1007–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0000000000007032>
63. Calabresi PA, Arnold DL, Sangurdekar D, Singh CM, Altincatal A, de Moor C, et al. Temporal profile of serum neurofilament light in multiple sclerosis: Implications for patient monitoring [Internet]. Vol. 27, Multiple Sclerosis Journal. SAGE Publications; 2020. p. 1497–505. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/1352458520972573>
64. Kuhle J, Plavina T, Barro C, Disanto G, Sangurdekar D, Singh CM, et al. Neurofilament light levels are associated with long-term outcomes in multiple sclerosis [Internet]. Vol. 26, Multiple Sclerosis Journal. SAGE Publications; 2019. p. 1691–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/1352458519885613>
65. Harris S, Comi G, Cree BAC, Arnold DL, Steinman L, Sheffield JK, et al. Plasma neurofilament light chain concentrations as a biomarker of clinical and radiologic outcomes in relapsing multiple sclerosis: Post hoc analysis of Phase 3 ozanimod trials [Internet]. Vol. 28, European Journal of Neurology. Wiley; 2021. p. 3722–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/ene.15009>

66. Plavina T, Singh CM, Sangurdekar D, de Moor C, Engle B, Gafson A, et al. Association of Serum Neurofilament Light Levels With Long-term Brain Atrophy in Patients With a First Multiple Sclerosis Episode [Internet]. Vol. 3, JAMA Network Open. American Medical Association (AMA); 2020. p. e2016278. Available from: <http://dx.doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.16278>
67. Häring DA, Kropshofer H, Kappos L, Cohen JA, Shah A, Meinert R, et al. Long-term prognostic value of longitudinal measurements of blood neurofilament levels [Internet]. Vol. 7, Neurology - Neuroimmunology Neuroinflammation. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health); 2020. p. e856. Available from: <http://dx.doi.org/10.1212/NXI.0000000000000856>
68. Kuhle J, Nourbakhsh B, Grant D, Morant S, Barro C, Yaldizli Ö, et al. Serum neurofilament is associated with progression of brain atrophy and disability in early MS [Internet]. Vol. 88, Neurology. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health); 2017. p. 826–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0000000000003653>
69. Sejbaek T, Nielsen HH, Penner N, Plavina T, Mendoza JP, Martin NA, et al. Dimethyl fumarate decreases neurofilament light chain in CSF and blood of treatment naïve relapsing MS patients [Internet]. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry. BMJ; 2019. p. jnnp-2019-321321. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/jnnp-2019-321321>
70. Romme Christensen J, Komori M, von Essen MR, Ratzer R, Börnsen L, Bielekova B, et al. CSF inflammatory biomarkers responsive to treatment in progressive multiple sclerosis capture residual inflammation associated with axonal damage [Internet]. Vol. 25, Multiple Sclerosis Journal. SAGE Publications; 2018. p. 937–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/1352458518774880>
71. Hauser SL, Bar-Or A, Cohen JA, Comi G, Correale J, Coyle PK, et al. Ofatumumab versus Teriflunomide in Multiple Sclerosis [Internet]. Vol. 383, New England Journal of Medicine. Massachusetts Medical Society; 2020. p. 546–57. Available from: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1917246>
72. Fox RJ, Raska P, Barro C, Karafa M, König V, Bermel RA, et al. Neurofilament light chain in a phase 2 clinical trial of ibudilast in progressive multiple sclerosis [Internet]. Vol. 27, Multiple Sclerosis Journal. SAGE Publications; 2021. p. 2014–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/1352458520986956>
73. Cortese M, Munger KL, Martínez-Lapiscina EH, Barro C, Edan G, Freedman MS, et al. Vitamin D, smoking, EBV, and long-term cognitive performance in MS [Internet]. Vol.

- 94, Neurology. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health); 2020. p. e1950–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0000000000009371>
74. Hänninen K, Jääskeläinen O, Herukka S, Soilu-Hänninen M. Vitamin D supplementation and serum neurofilament light chain in interferon-beta-1b-treated MS patients [Internet]. Vol. 10, Brain and Behavior. Wiley; 2020. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/brb3.1772>
75. Joisten N, Rademacher A, Warnke C, Proschinger S, Schenk A, Walzik D, et al. Exercise Diminishes Plasma Neurofilament Light Chain and Reroutes the Kynurenine Pathway in Multiple Sclerosis [Internet]. Vol. 8, Neurology - Neuroimmunology Neuroinflammation. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health); 2021. p. e982. Available from: <http://dx.doi.org/10.1212/NXI.0000000000000982>
76. Højsgaard Chow H, Talbot J, Lundell H, Gøbel Madsen C, Marstrand L, Lange T, et al. Dimethyl Fumarate Treatment in Patients With Primary Progressive Multiple Sclerosis [Internet]. Vol. 8, Neurology - Neuroimmunology Neuroinflammation. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health); 2021. p. e1037. Available from: <http://dx.doi.org/10.1212/NXI.0000000000001037>
77. de Flon P, Laurell K, Sundström P, Blennow K, Söderström L, Zetterberg H, et al. Comparison of plasma and cerebrospinal fluid neurofilament light in a multiple sclerosis trial [Internet]. Vol. 139, Acta Neurologica Scandinavica. Wiley; 2019. p. 462–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/ane.13078>