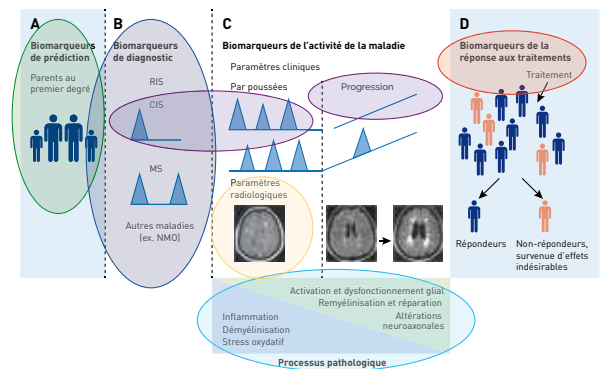


## MARQUEURS BIOLOGIQUES DE SCLÉROSE EN PLAQUES

par Pr **Éric Thouvenot\***, \*\*

**01** Quatre grands types de biomarqueurs sont directement liés à la maladie. Au sein de la population générale, des marqueurs de risque de sclérose en plaques sont bien établis, comme les antécédents familiaux de SEP (A). Les marqueurs diagnostiques de SEP ont évolué régulièrement, maintenant définis par la dernière révision des critères en 2017 (B). Les marqueurs d'activité de la SEP ont un rôle très important dans le pronostic et le choix des traitements (C). L'IRM et les marqueurs biologiques inflammatoires, d'activité immunitaire ou de neurodégénérescence y ont une place de choix. Enfin, des marqueurs de réponse aux traitements sont utiles à l'évaluation des thérapies de la SEP.

### BIOMARQUEURS DE SEP

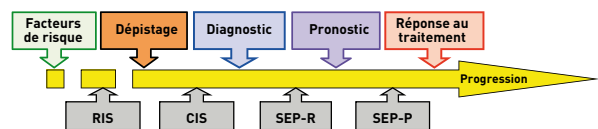


Comabella M, Montalban X. Body fluid biomarkers in multiple sclerosis. *Lancet Neurology*, 2014 ; 13 : 113-26.

### LES BIOMARQUEURS SONT IMPLIQUÉS DANS LA PHYSIOPATHOLOGIE DE LA SEP

- **Sang / LCR**
- **Molécules**
  - Protéines, peptides
  - ARN (microARN)
- **Cellules**
  - Cellules immunitaires
  - Barrière Hémato-encéphalique (BHE)
  - Glie
  - Neurones
- **Marqueurs d'activation immunitaire**
  - cytokines/chémokines (CXCL13)
  - molécules d'adhésion (CD27)
  - Anticorps (Bandes oligoclonales = BOC, chaînes légères libres kappa = CLLk)
- **Marqueurs de rupture de BHE**
  - matrix métalloprotéinases (MMP)
- **Marqueurs de démyélinisation**
  - MBP, MOG...
- **Marqueurs d'activation astrocytaire et microgliale**
  - GFAP, chitinases (CHI3L1, CHI3L2, chitotriosidase)
- **Marqueurs d'atteinte neuronale et axonale**
  - Neurofilaments (NFL, NfH)

### BIOMARQUEURS DE SEP



- **Facteurs de risque de SEP** : des biomarqueurs potentiels ?
- **Dépistage de la SEP** : y a-t-il des candidats ?
- **Diagnostic de SEP** : quels biomarqueurs sont validés ?
- **Pronostic de SEP** : quels biomarqueurs et comment les utiliser ?
- **Réponse au traitement et EIG** : quels marqueurs du risque ?

**03** Selon les phases de la maladie, on pourra analyser les biomarqueurs importants parmi les facteurs de risque, les marqueurs de dépistage, les marqueurs diagnostiques et pronostiques.

Après avoir fait le point sur les différents types de biomarqueurs de SEP connus et leur importance relative à différents stades de la maladie, plusieurs questions apparaissent fondamentales. Nous allons voir ensemble si les facteurs de risque de SEP peuvent constituer des biomarqueurs potentiels, s'il existe des marqueurs de dépistage de cette pathologie, quels marqueurs diagnostiques et pronostiques de SEP sont validés, comment les utiliser en pratique et quels marqueurs prédisent le risque d'effet secondaire grave sous traitement.

\*Service de neurologie, CHU de Nîmes, Hôpital Caremeau, Nîmes, France  
 \*\* Institut de génomique fonctionnelle, UMR5203, INSERM 1191, Université de Montpellier, Montpellier, France

# 04

Les principaux facteurs de risque de SEP sont des facteurs génétiques et environnementaux. L'hérédité au sens large ainsi que de nombreux gènes conditionnent le risque de SEP dans la population. Ces derniers influencent également l'effet de certaines hormones, de l'obésité et de la vitamine D sur le risque de SEP. Tabagisme et infection à EBV, en particulier en cas de mononucléose infectieuse, sont également impliqués. Tous ces facteurs de risque peuvent se combiner de manière synergique et amplifier le risque de la maladie. Ces facteurs de risque sont également impliqués dans l'activité de la maladie, souvent étudiée sous l'angle de la conversion en SEP cliniquement définie (CDMS) après un syndrome cliniquement isolé (CIS). Ce phénomène indique un continuum entre l'intensité du dérèglement immunitaire à l'origine de la SEP et l'activité de la maladie.

Ainsi, on observe une influence du sexe, de l'âge, de l'origine ethnique, de l'infection à EBV, du taux sanguin de vitamine D ou du tabagisme sur les poussées.

# 05

Plus précocement, au stade du syndrome radiologique isolé (RIS) défini uniquement par l'IRM (critères d'Okuda 2009), on observe déjà un intérêt des biomarqueurs à ce stade présymptomatique de la SEP. L'analyse du LCR révèle fréquemment la présence de bandes oligoclonales (BOC), une élévation de *chitinase 3-like protein 1* (CHI3L1) et des neurofilaments dans le LCR. Toutefois, aucun biomarqueur biologique de SEP n'est assez sensible et spécifique pour permettre un dépistage de la maladie à grande échelle.

# 06

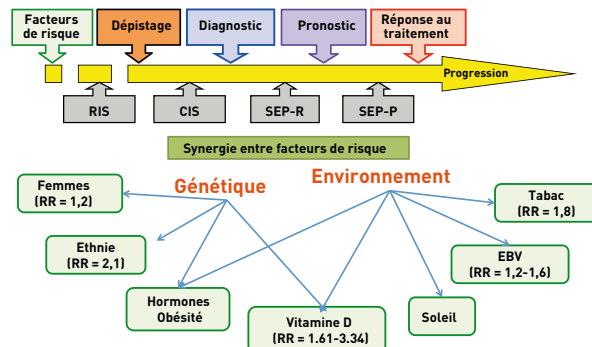
Venons-en maintenant aux marqueurs diagnostiques de SEP. Le mieux caractérisé d'entre eux reste les bandes oligoclonales (BOC).

Une méta-analyse regroupant 71 articles (2 685 CIS) montre l'importance des BOC pour prédire la conversion en CDMS, avec un facteur 10 par rapport à l'absence de BOC. Ainsi, la dernière révision des critères diagnostiques de McDonald a réintégré le LCR dans le diagnostic de SEP comme élément de dissémination temporelle. En effet, la présence de BOC reflète l'activation lymphocytaire B chronique dans les méninges, qui reste rare dans les autres maladies inflammatoires du SNC, associé à une excellente sensibilité (90-95 %) et une grande spécificité (environ 80 %).

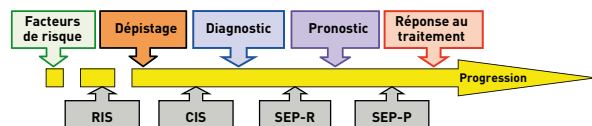
Plus récemment, l'étude des chaînes légères libres kappa (CLLk) dans le LCR a montré une meilleure sensibilité et spécificité que les BOC pour prédire la conversion en CDMS chez les CIS. Il permet en particulier d'obtenir un résultat quantitatif indépendant de l'analyse qualitative des BOC, parfois difficile à analyser.

Ces résultats doivent toutefois être confirmés par d'autres études et le seuil quantitatif d'élévation de CLLk mieux défini.

## MARQUEURS DU RISQUE DE SEP



## DÉPISTAGE DE LA SEP



### • Syndrome radiologiquement isolé : critères d'Okuda 2009

- Pas de trouble neurologique compatible avec la SEP
- IRM : dissémination spatiale (Barkhof-Tintore)

*Okuda DT et al. Radiologically isolated syndrome: 5-year risk for an initial clinical event. PLOS ONE 2014 ; 5 ; 9.*

### • Analyse du LCR :

- Bandes oligoclonales
- Élévation de CHI3L1 et neurofilaments dans le LCR des RIS

*Matute-Blanch E et al. Neurofilament light chain and oligoclonal bands are prognostic biomarkers in radiologically isolated syndrome. Brain. 2018, 1 ; 141 : 1085-93.*

*Thouvenot E et al. Cerebrospinal fluid chitinase-3-like protein 1 level is not an independent predictive factor for the risk of clinical conversion in radiologically isolated syndrome. Mult Scler 2018.*

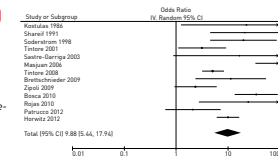
### • Pas de marqueur biologique de dépistage de la SEP non invasif

## BIOMARQUEURS DIAGNOSTIQUES DE SEP

### • Bandes oligoclonales (Méta-analyse)

- 2685 CIS : 68,6 % avec BOC
- Patients CIS avec BOC ont un risque de conversion très élevé (OR = 9,88)

*Dobson R et al. Cerebrospinal fluid oligoclonal bands in multiple sclerosis and clinically isolated syndromes: a meta-analysis of prevalence, prognosis and effect of latitude. JNNP 2013 ; 84 : 909-14.*  
*Thompson A. Et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. Lancet Neurol 2018 ; 17 : 162-73.*

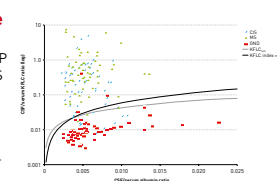


### • Révision des critères de McDonald 2017 : BOC = dissémination temporelle

#### Chaînes légères libres kappa (CLLk)

- Sensibilité 95 % CLLk vs 93 % BOC dans la SEP
- Sensibilité 82 % CLLk vs 72 % BOC dans le CIS
- Spécificité 95 % pour SEP et CIS
- Valide, simple, indépendant de l'évaluateur comparé aux BOC

*Presslauer S et al. Validation of kappa free light chains as a diagnostic biomarker in multiple sclerosis and clinically isolated syndrome: A multicenter study. Mult Scler. 2016, 22 : 502-10.*



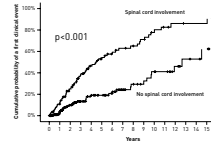
**07** Marqueurs pronostiques de SEP et marqueurs pronostiques aux différents stades de la maladie sont souvent confondus. Ils reflètent globalement l'activité inflammatoire de la SEP (poussées) et la neurodégénérescence (progression du handicap). Dès le stade RIS, on observe des marqueurs épidémiologiques (âge), radiologiques (IRM) ou électrophysiologiques (PEV) prédictifs de conversion en CDMS. BOC et élévation de *neurofilament-light chain* (NF-L) dans le LCR prédisent la conversion en CDMS également. Aucun biomarqueur n'a montré son intérêt à ce jour pour prédire le passage en forme progressive d'emblée au stade RIS.

**08** Au stade CIS, la cohorte barcelonaise a bien démontré l'intérêt des BOC pour prédire la conversion en CDMS, quoique de manière moins spectaculaire que la présence de lésions inflammatoires en IRM. Dans un article regroupant 813 CIS, un taux élevé de CHI3L1 (> 170 ng/ml) dans le LCR est un facteur de risque de conversion en CDMS, mais avec toutefois un poids assez faible (HR = 1,61). Dans cette étude, un taux élevé de CHI3L1 dans le LCR est également associé à un risque de progression de handicap (HR = 3,8) et d'atteinte du niveau de handicap EDSS 3.0. Cette protéine impliquée dans le remodelage de la matrice extracellulaire témoigne de l'intensité de l'inflammation et de l'activation astrocytaire, microgliale et macrophagique. D'autres chitinases (CHI3L2 et chitotriosidase) ont également été associées à un risque de conversion plus important (HR = 2,19 pour CHI3L2).

**09** Plus récemment, CD27, une molécule d'adhésion associée aux lymphocytes B mémoire impliqués dans l'activation des lymphocytes T, a été identifiée comme biomarqueur de SEP progressive. Un taux élevé de CD27 dans le LCR (> 31,4 U/ml) est aussi associé à un taux annualisé de poussées plus élevé et prédit la conversion en CDMS. Les neurofilaments, constituants du cytosquelette des neurones et marqueurs de l'atteinte axonale, ont été de plus en plus étudiés ces dernières années, surtout grâce au développement d'anticorps spécifiques contre neurofilament-light chain (NFL). Dans le LCR, NFL est associé à un risque de conversion en CDMS chez les CIS, mais avec un effet faible comparé aux BOC ou aux données de l'IRM.

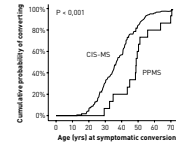
### BIOMARQUEURS PRONOSTIQUES AU STADE RIS

#### Risque d'activité



Okuda DT et al. Radiologically Isolated Syndrome: 5-Year Risk for an Initial Clinical Event. PLOS ONE 2014; 5: 9.

#### Risque de progression



Kantarci et al. Primary Progressive Multiple Sclerosis Evolving From Radiologically Isolated Syndrome. Ann Neurol 2016; 79: 288-94.

#### Facteurs prédictifs de conversion

- Âge jeune
- IRM : charge lésionnelle, lésions infratentorielles et médullaires, lésions actives
- PEV altérés
- Bandes oligoclonales
- Neurofilament-light chain (NFL) LCR
- Pas CHI3L1 LCR

Matute-Blanch E et al. Neurofilament light chain and oligoclonal bands are prognostic biomarkers in radiologically isolated syndrome. Brain 2018; 141: 1085-93.

Thouvenot E et al. Cerebrospinal fluid chitinase-3-like protein 1 level is not an independent predictive factor for the risk of clinical conversion in radiologically isolated syndrome. Mult Scler 2018.

### BIOMARQUEURS PRONOSTIQUES AU STADE CIS

#### Chitinase 3-like protein 1 (CHI3L1) dans le LCR

- LCR de 813 patients CIS
- Analyse multivariée (modèle de Cox)

#### Risque d'activité

- Un taux élevé de CHI3L1 (> 170 ng/ml) dans le LCR est un facteur de risque de conversion en CDMS (HR = 1,61)

#### Risque de progression du handicap

- Un taux élevé de CHI3L1 dans le LCR est un facteur de risque de progression de handicap (HR = 3,8)
- d'apparition d'un handicap précoce (EDSS 3.0)

#### CHI3L2 et chitotriosidase dans le LCR

- LCR de 73 patients névrite optique
- Analyse multivariée (modèle de Cox)
- Un taux élevé de CHI3L2 (>7,23ng/mL) dans le LCR est un facteur de risque de conversion en CDMS (HR=1,95)

	HR [CL]	P
Univariate analysis		
CHI3L2	1.95 [1.35;2.83]	0.00039
Multivariate analysis		
CHI3L2	2.19 [1.38-3.47]	0.00089
MRI	2.90 [1.35;6.23]	0.0065
CL, 95% confidence limits. The increase in HR (hazard ratio) corresponds to a doubling biomarker level.		

Canto E et al. Chitinase 3-like 1: prognostic biomarker in clinically isolated syndromes. Brain 2015; 138: 918-31.

Møllgaard et al. Cerebrospinal fluid chitinase-3-like 2 and chitotriosidase are potential prognostic biomarkers in early multiple sclerosis. Eur J Neurol 2016; 23: 898-905.

### BIOMARQUEURS PRONOSTIQUES AU STADE CIS

#### Risque d'activité

##### CD27 soluble (sCD27) dans le LCR

- sCD27 est une molécule activatrice des lymphocytes B et de la sécrétion d'Ig
- 77 patients CIS, suivi moyen de 54,8 mois
- Un taux élevé de sCD27 prédit la conversion en CDMS
- Les patients avec des taux élevés de sCD27 (> 31,4 U/ml) au moment du CIS ont une TAP 5,5 fois plus élevée que les autres patients

Van der Vuurst de Vries RM et al. Soluble CD27 Levels in Cerebrospinal Fluid as a Prognostic Biomarker in Clinically Isolated Syndrome. JAMA Neurol 2017; 74: 286-92.

#### NFL dans le LCR

- NFL est une molécule du cytosquelette des neurones
- 33 patients CIS-CDMS (conversion)
- 33 patients CIS-CIS (pas de lésion ni de conversion)
- Suivi 5 ans
- Un taux élevé de NFL prédit la conversion en CDMS

Arrambide G et al. Neurofilament light chain level is a weak risk factor for the development of MS. Neurology 2016; 87: 1076-84.

Figure 2 - Time From Clinically Isolated Syndrome to Multiple Sclerosis in Patients With High and Low Soluble CD27 (sCD27) Levels

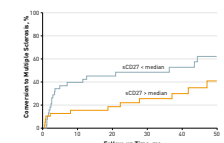
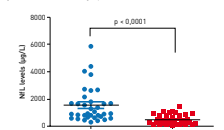


Figure 1 - NFL levels in the 2 CIS groups



Results adjusted for CIS topography and disease-modifying treatment. CDMS = clinically definite multiple sclerosis, CIS = clinically isolated syndrome, NFL = neurofilament light chain.

**10** L'atteinte axonale est également en lien avec la neurodégénérescence. Ainsi, un taux élevé de neurofilament-heavy chain (NFH) dans le LCR est corrélé à la progression de l'EDSS à court terme (3 ans) et à long terme (15 ans).

De plus, l'émergence de techniques de dosage ELISA plus sensibles (électrochemiluminescence et *single molecule array* - Simoa), a permis d'abaisser le seuil de détection de NFL à moins de 1 pg/ml dans le sérum des patients atteints de SEP (sNFL). Dans une série de 581 CIS suivis plus de 3 ans, un taux élevé de NFL dans le sérum est associé aux poussées précédentes, au taux annualisé de poussées avant le prélèvement et dans les 2 ans de suivi. L'importance de l'influence de NFL est surtout visible pour les hauts percentiles (les 5 à 20 % des patients ayant les taux les plus élevés). sNFL est également associé à une progression récente du handicap (EDSS) et au risque de progression de l'EDSS lors du suivi.

**11** En référence à la classification de Lublin définissant les formes de SEP selon la présence d'une maladie active ou d'une maladie progressive, ou de l'association des deux phénomènes, nous pouvons également définir des marqueurs d'activité de la SEP et des marqueurs de progression, car ces phénomènes présents dès le début de la SEP conditionnent le risque de handicap. Au total, nous pouvons dresser un tableau résumé des biomarqueurs sanguins et du LCR les plus importants, où dominent les bandes oligoclonales et NFL.

**12** Les marqueurs de réponse thérapeutique ont été étudiés sous divers aspects. D'un point de vue pharmacogénomique, les interférons bêta ont une efficacité associée à différents biomarqueurs inflammatoires génétiques (HLA DRB1), moléculaires (MMP9, BAFF) ou cellulaires (CD56 bright NK cells) et à des marqueurs neurotrophiques (BDNF). La réponse thérapeutique au natalizumab et au fingolimod est associée au taux de NFL dans le LCR ou le sérum. Toutefois, l'IRM reste l'outil privilégié pour le suivi des patients SEP traités actuellement. Le risque d'effets secondaires graves a également été étudié avec de nombreux traitements. Sous fingolimod, l'immunisation contre VZV est protectrice du risque d'encéphalite à VZV, et la vaccination est préconisée chez les patients séronégatifs. Sous natalizumab, la sérologie JCV et l'index JCV sont prédictifs du risque de leucoencéphalopathie multifocale progressive (LEMP) et ont permis de diminuer ce risque en adaptant le traitement aux différentes situations. La baisse du taux de CD62-L (L-sélectine) reste toutefois controversée dans son rôle annonciateur de LEMP chez les patients sous natalizumab.

### BIOMARQUEURS PRONOSTIQUES AU STADE CIS

#### NFH<sup>SMI35</sup> dans le LCR (ELISA)

- Cohorte suivie 3 ans
- NFH<sup>SMI35</sup> corrélé à la progression de l'EDSS
- Cohorte suivie 15 ans
- NFH<sup>SMI35</sup> corrélé à la progression de l'EDSS

Petzold A et al. Axonal damage accumulates in the progressive phase of multiple sclerosis: three year follow up study. JNNP 2005 ; 76 : 206-11.

#### Intérêt du dosage des neurofilaments par Single Molecule Array (SiMoA)

- Sensibilité des tests pour NFL dans le sérum
  - 0,62 pg/ml Simoa
  - 15,6 pg/ml électrochemiluminescence
  - 78,0 pg/ml ELISA classique
- Étude sur 581 patients
- Suivi médian de 3,1 ans

Disanto G et al. Serum Neurofilament light: A biomarker of neuronal damage in multiple sclerosis. Ann Neurol 2017 ; 81 : 857-70.

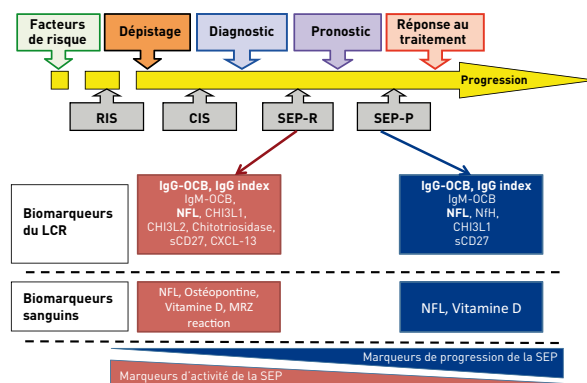
#### Dosage NFL sérique (sNFL)

- Risque d'activité
  - Les taux de NFL dans le sérum sont associés à
    - des poussées précédentes
    - TAP avant prélèvement
    - TAP dans les 2 ans après le prélèvement

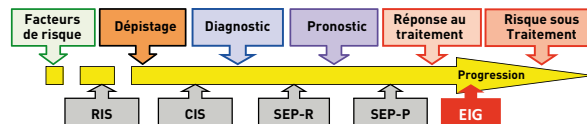
#### Risque de progression du handicap

- Les taux de NFL dans le sérum sont associés à :
  - Progression de l'EDSS récente
  - Risque de progression de l'EDSS lors du suivi

### BIOMARQUEURS PRONOSTIQUES DE SEP



### TRAITEMENTS ET BIOMARQUEURS DE SEP



#### • Marqueurs de réponse au traitement

- Interféron-bêta : MMP9, BDNF, GPC5, HLA-DRB1\*04:01, HLA-DRB1\*04:08, BAFF, Vitamine D, CD56 bright NK cells
- Acétate de glatiramère : BOC IgM, BDNF
- Natalizumab : IgM OB, CHI3L1, NFL dans le LCR
- Fingolimod : NFL dans le sérum

#### • Risque d'EIG

- Interféron-bêta: Nabs
- Fingolimod : Anti-VZV
- Natalizumab : anti-NZ, JCV serology anti-JC virus index, CD62-L
- Tous les immunosuppresseurs : certains agents infectieux selon les traitements (tuberculose, VZV, HBV, HCV, HIV...)

13

Globalement, on peut inclure tous les biomarqueurs de SEP aux différents stades de la maladie selon leur rôle prédictif d'activité ou de progression de la maladie. Dans ce cas, on comprend que les BOC tiennent une place de haute importance dans le diagnostic de la SEP, et l'intérêt de l'émergence récente du dosage sérique des NFL. En effet, la possibilité de suivre ce dernier par des prises de sang itératives devrait permettre de définir le rythme de surveillance et le taux indicatif d'une activité résiduelle de la SEP sous traitement. On observe également que les facteurs environnementaux comme le tabagisme ont une faible influence sur l'activité ou la progression de la maladie.

14

Pour conclure, on peut répondre à certaines questions importantes.

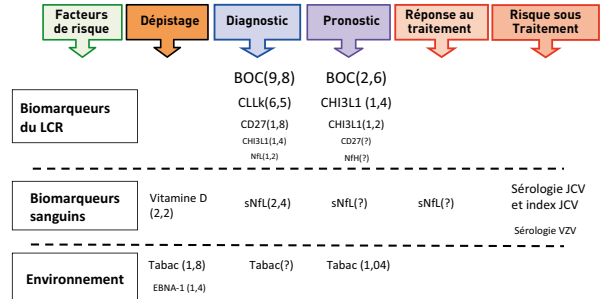
Certains facteurs environnementaux ont un rôle pronostique dans la SEP, notamment des facteurs modifiables dont l'intérêt réside dans la possibilité d'agir sur la maladie.

À ce jour, il n'y a pas de marqueur biologique de dépistage de SEP utilisable en routine.

Les BOC tiennent une place centrale dans le diagnostic de la SEP aux côtés de l'IRM. L'émergence des chaînes légères libres kappa (CLLk) devrait permettre de simplifier et de standardiser cette analyse quantitative en évitant une interprétation subjective du profil des immunoglobulines du LCR. De nombreux marqueurs pronostiques de SEP sont maintenant bien validés avec des niveaux différents dans le LCR (BOC/CHI3L1/NFL/marqueurs lymphocytaires B) et dans le sérum (sNFL). Toutefois, l'utilisation pratique de NFL doit encore être évaluée plus clairement pour définir son utilité dans la prise en charge des patients et de leur traitement.

Pour finir, aucun marqueur pharmacogénomique de réponse thérapeutique n'est utilisé en pratique, mais des marqueurs d'effets indésirables graves sont couramment utilisés pour prédire le risque de complication et adapter les traitements, notamment la sérologie JCV et PCR JCV pour le natalizumab.

### MARQUEURS BIOLOGIQUES DE SEP HIÉRARCHISÉS



→ Biomarqueurs aux différents stades de la SEP (odd ratios)

### À RETENIR : MARQUEURS BIOLOGIQUES DE SEP

- **Facteurs de risque de SEP**
  - Certains facteurs environnementaux ont un rôle pronostique dans la SEP
  - Intérêt des facteurs modifiables : vitamine D et tabagisme
- **Dépistage de la SEP**
  - Pas de marqueur biologique à ce jour
- **Diagnostic de SEP**
  - Place centrale des BOC
  - Émergence des chaînes légères libres kappa [CLLk]
- **Pronostic de SEP**
  - LCR : BOC / CHI3L1 / NFL / marqueurs lymphocytaires B
  - Sérum : sNFL / Utilisation pratique en cours d'évaluation
- **Réponse au traitement et EIG**
  - Pas de marqueur pharmacogénomique en pratique
  - Bilan et surveillance à adapter à chaque traitement
  - Sérologie JCV et PCR JCV pour le natalizumab