

Les neurofilaments plasmatiques comme biomarqueurs pour le suivi longitudinal des porteurs de mutations de *GRN* et *C9orf72*

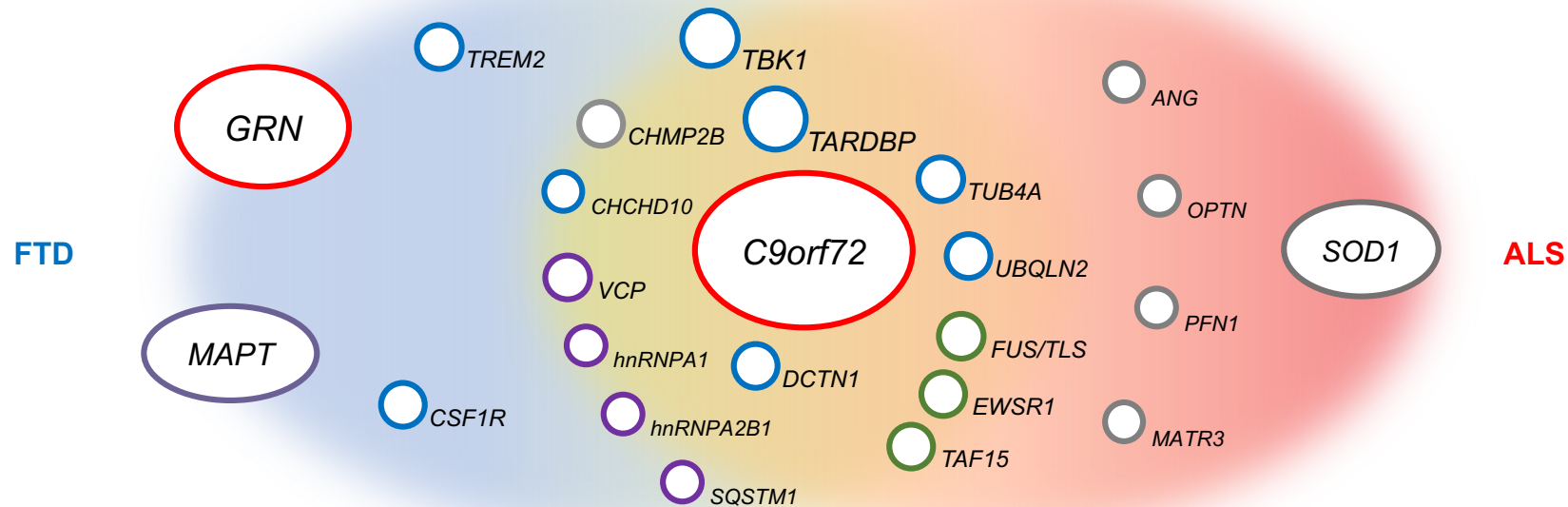
Dario Saracino, MD

Réunion nationale du Réseau des Centres de Competences

25/09/2021

Introduction

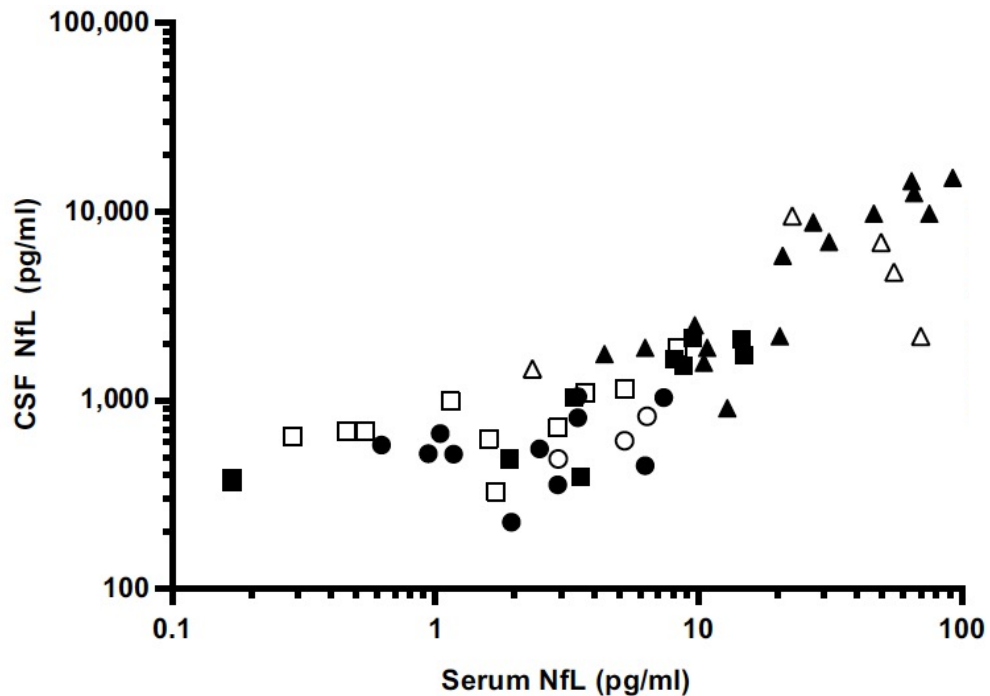
- **C9orf72** et **GRN** sont les deux gènes les plus fréquemment impliqués dans la DFT et, pour **C9orf72**, SLA



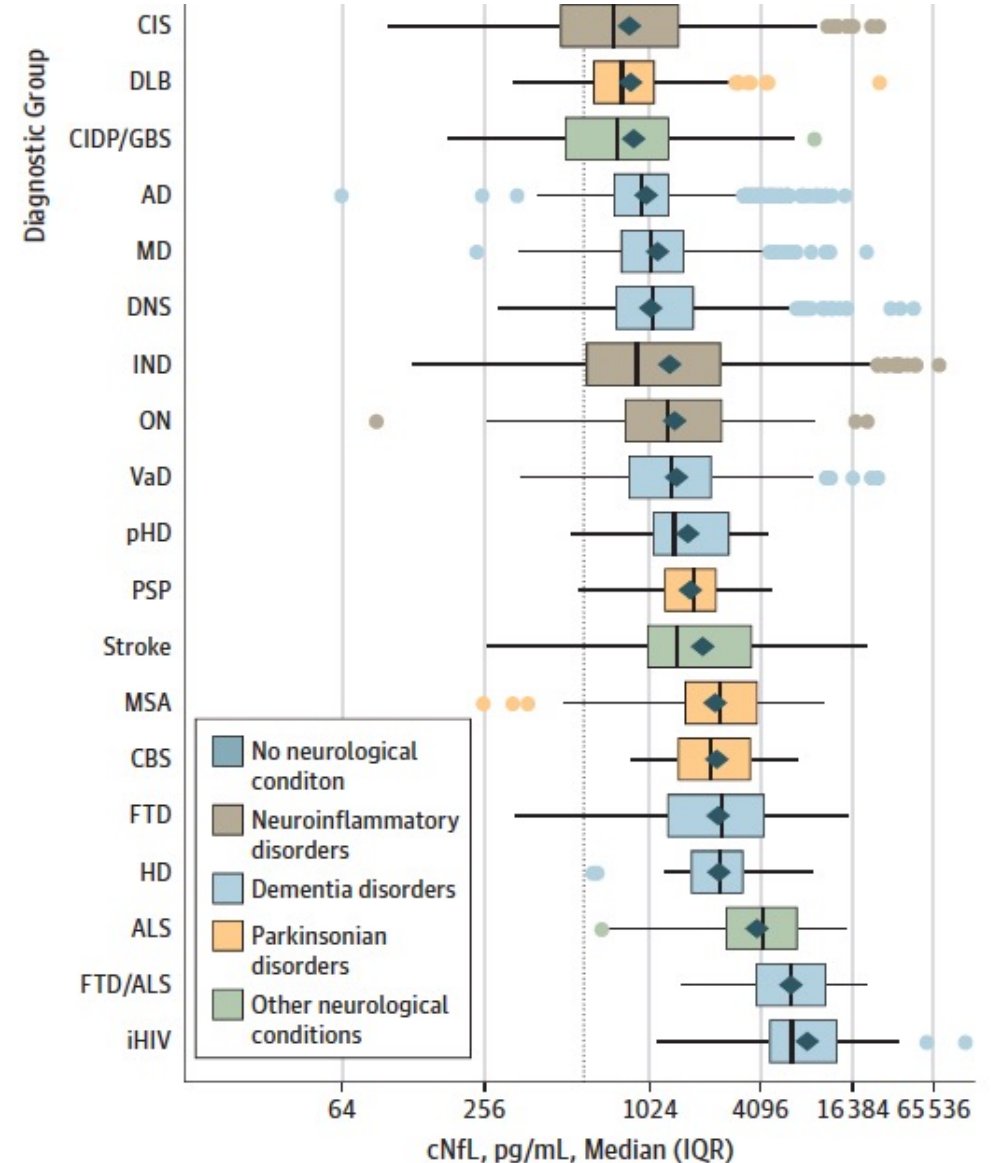
- Des traitements prometteurs spécifiques pour ces formes génétiques sont actuellement en cours d'investigation, notamment durant la **phase présymptomatique**
- Besoin important de **biomarqueurs** pour suivre l'évolution de la maladie pendant la phase préclinique et clinique

Les Neurofilaments dans les maladies neurologiques

- Niveaux de NfL élevés dans le LCR dans de nombreuses maladies neurologiques (vasculaires, traumatiques, inflammatoires, dégénératives ...)
- Bonne corrélation entre valeurs dans le LCR et plasma / sérum



Meeter et al., 2016; Bridel et al., 2019

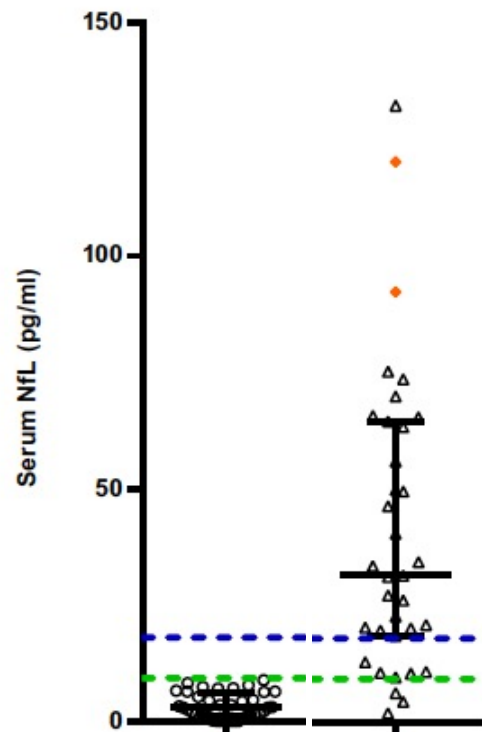


Les Neurofilaments dans les formes génétiques de DFT

RESEARCH ARTICLE

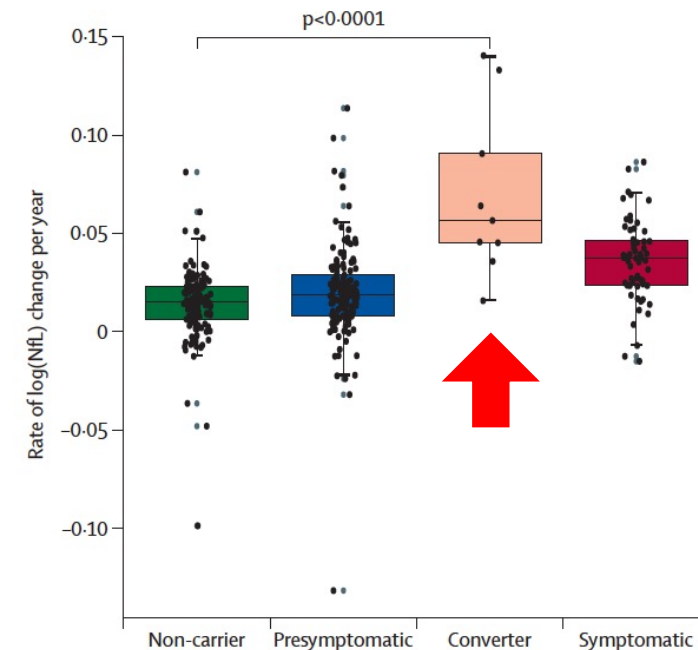
Neurofilament light chain: a biomarker for genetic frontotemporal dementia

Lieke H. Meeter¹, Elise G. Dopfer¹, Lize C. Jiskoot¹, Raquel Sanchez-Valle², Caroline Graff^{3,4}, Luisa Benussi⁵, Roberta Ghidoni⁵, Yolande A. Pijnenburg⁶, Barbara Borroni⁷, Daniela Galimberti⁸, Robert Jr Laforce⁹, Mario Masellis^{10,11}, Rik Vandenberghe^{12,13}, Isabelle Le Ber^{14,15,16}, Markus Otto^{17,18}, Rick van Minkelen¹⁹, Janne M. Papma¹, Serge A. Rombouts^{20,21}, Mircea Balasa², Linn Öijerstedt^{3,4}, Vesna Jelic^{4,22}, Katrina M. Dick²³, David M. Cash^{22,24}, Sophie R. Harding²³, M. Jorge Cardoso^{23,24}, Sebastien Ourselin²⁴, Martin N. Rossor²³, Alessandro Padovani⁷, Elio Scarpini⁸, Chiara Fenoglio⁸, Maria C. Tartaglia²⁵, Foudil Lamari²⁶, Christian Barro²⁷, Jens Kuhle²⁷, Jonathan D. Rohrer²³, Charlotte E. Teunissen²⁸ & John C. van Swieten^{1,29}



Serum neurofilament light chain in genetic frontotemporal dementia: a longitudinal, multicentre cohort study

Emma L van der Ende, Lieve H Meeter, Jackie M Poos, Jessica L Panman, Lize C Jiskoot, Elise G P Dopfer, Janne M Papma, Frank Jan de Jong, Inge M W Verberk, Charlotte Teunissen, Dimitris Rizopoulos, Carolin Heller, Rhian S Convery, Katrina M Moore, Martina Bocchetta, Mollie Neason, David M Cash, Barbara Borroni, Daniela Galimberti, Raquel Sanchez-Valle, Robert Laforce Jr, Fermin Moreno, Matthias Synofzik, Caroline Graff, Mario Masellis, Maria Carmela Tartaglia, James B Rowe, Rik Vandenberghe, Elizabeth Finger, Fabrizio Tagliavini, Alexandre de Mendonça, Isabel Santana, Chris Butler, Simon Ducharme, Alex Gerhard, Adrian Danek, Johannes Levin, Markus Otto, Giovanni B Frisoni, Stefano Cappa, Yolande A L Pijnenburg, Jonathan D Rohrer, John C van Swieten, on behalf of the Genetic Frontotemporal dementia Initiative (GENFI)*



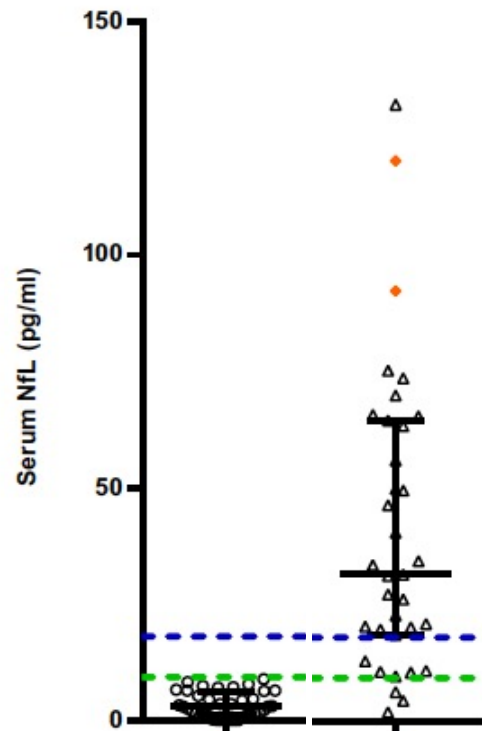
- Augmentation des NfL dans les formes génétiques de DFT et SLA
- Les NfL augmentent chez les porteurs de mutations ~2-5 ans avant la conversion clinique

Les Neurofilaments dans les formes génétiques de DFT

RESEARCH ARTICLE

Neurofilament light chain: a biomarker for genetic frontotemporal dementia

Lieke H. Meeter¹, Elise G. Dopfer¹, Lize C. Jiskoot¹, Raquel Sanchez-Valle², Caroline Graff^{3,4}, Luisa Benussi⁵, Roberta Ghidoni⁵, Yolande A. Pijnenburg⁶, Barbara Borroni⁷, Daniela Galimberti⁸, Robert Jr Laforce⁹, Mario Masellis^{10,11}, Rik Vandenberghe^{12,13}, Isabelle Le Ber^{14,15,16}, Markus Otto^{17,18}, Rick van Minkelen¹⁹, Janne M. Papma¹, Serge A. Rombouts^{20,21}, Mircea Balasa², Linn Öijerstedt^{3,4}, Vesna Jelic^{4,22}, Katrina M. Dick²³, David M. Cash^{22,24}, Sophie R. Harding²³, M. Jorge Cardoso^{23,24}, Sebastien Ourselin²⁴, Martin N. Rossor²³, Alessandro Padovani⁷, Elio Scarpini⁸, Chiara Fenoglio⁸, Maria C. Tartaglia²⁵, Foudil Lamari²⁶, Christian Barro²⁷, Jens Kuhle²⁷, Jonathan D. Rohrer²³, Charlotte E. Teunissen²⁸ & John C. van Swieten^{1,29}

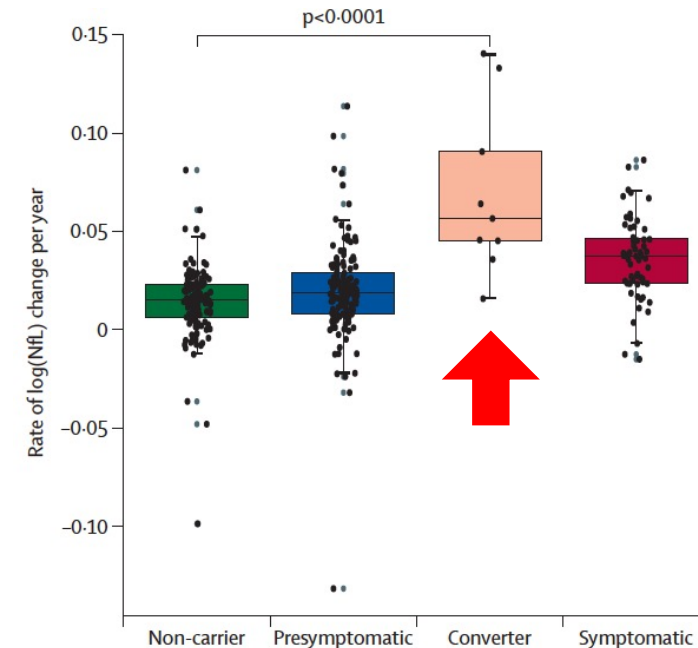


LIMITES:

- ❖ Facteurs de variabilité dans des conditions physiologiques ?
- ❖ Références utilisables pour la pratique clinique ?
- ❖ Absence de seuil pathologique clairement défini

Serum neurofilament light chain in genetic frontotemporal dementia: a longitudinal, multicentre cohort study

Emma L van der Ende, Lieve H Meeter, Jackie M Poos, Jessica L Panman, Lize C Jiskoot, Elise G P Dopfer, Janne M Papma, Frank Jan de Jong, Inge M W Verberk, Charlotte Teunissen, Dimitris Rizopoulos, Carolin Heller, Rhian S Convery, Katrina M Moore, Martina Bocchetta, Mollie Neason, David M Cash, Barbara Borroni, Daniela Galimberti, Raquel Sanchez-Valle, Robert Laforce Jr, Fermin Moreno, Matthias Synofzik, Caroline Graff, Mario Masellis, Maria Carmela Tartaglia, James B Rowe, Rik Vandenberghe, Elizabeth Finger, Fabrizio Tagliavini, Alexandre de Mendonça, Isabel Santana, Chris Butler, Simon Ducharme, Alex Gerhard, Adrian Danek, Johannes Levin, Markus Otto, Giovanni B Frisoni, Stefano Cappa, Yolande A L Pijnenburg, Jonathan D Rohrer, John C van Swieten, on behalf of the Genetic Frontotemporal dementia Initiative (GENFI)*



Les Neurofilaments dans les formes génétiques de DFT

ARTICLE OPEN ACCESS CLASS OF EVIDENCE

Plasma Neurofilament Light for Prediction of Disease Progression in Familial Frontotemporal Lobar Degeneration

Julio C. Rojas, MD, PhD, Ping Wang, MS, Adam M. Staffaroni, PhD, Carolin Heller, BSc, Yann Cobigo, PhD, Amy Wolf, BS, Sheng-Yang M. Goh, BS, Peter A. Ljubenkov, MD, Hilary W. Heuer, PhD, Jamie C. Fong, MS, Joanne B. Taylor, MS, Eliseo Veras, BS, Linan Song, Andreas Jeromin, PhD, David Hanlon, PhD, Lili Yu, Arvind Khinikar, Rajeev Sivasankaran, PhD, Agnieszka Kieloch, Marie-Anne Valentin, Anna M. Karydas,

Correspondence
Dr. Rojas
jrojasmartinez@
memory.ucsf.edu

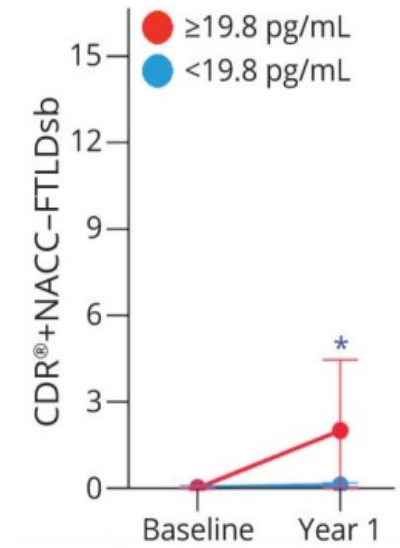
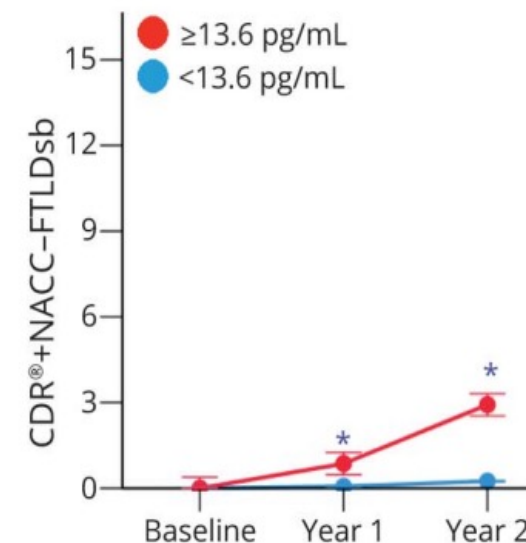
- Récente étude visant à établir le pouvoir pronostic des NfL, sur la base d'un seuil pouvant discriminer les convertisseurs des non-convertisseurs, dans 2 cohortes indépendantes (USA et Europe)
- Différence importante (**>5 pg/ml**) entre les 2 valeurs
- Différences entre les gènes responsables, les phénotypes représentés et /ou l'âge au prélèvement dans les cohortes

Cohorte originale
(ALLFTD)

Patients n=63

Cohorte de
réplication
(GENFI)

Patients n=57



Objectifs de l'étude

Caractérisation des valeurs de NfL plasmatiques sur une cohorte nationale multicentrique, visant à :

- 1) Etudier les facteurs de variabilité des NfL plasmatiques chez les sujets sains pour définir des valeurs de référence appropriées
- 2) Identifier des profils spécifiques au gène causal et au phénotype clinique chez les patients atteints de DFT et SLA génétique, et définir des seuils optimaux
- 3) Etudier les trajectoires longitudinales au cours de la phase présymptomatique pour identifier des porteurs de mutation *GRN* ou *C9orf72* proches de la conversion clinique

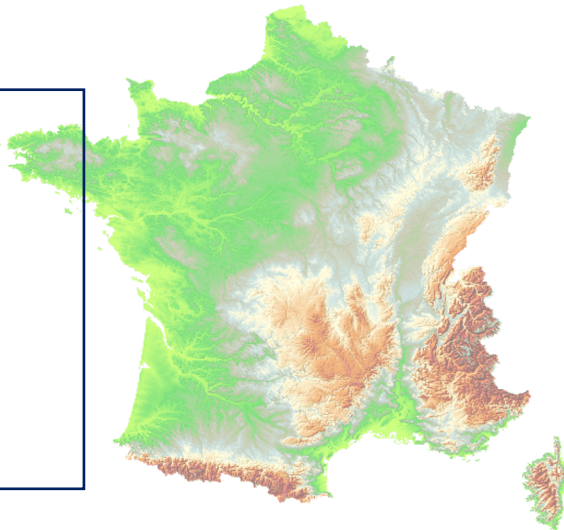
Population étudiée, dosages & analyses

- **Population étudiée:** 668 dosages de NfL effectués (**352** à la baseline et **316** de suivi) sur :

- ❖ 165 contrôles neurologiquement sains
- ❖ 102 patients (*C9orf72* & *GRN*)
- ❖ 85 porteurs au stade présymptomatique (*C9orf72* & *GRN*)

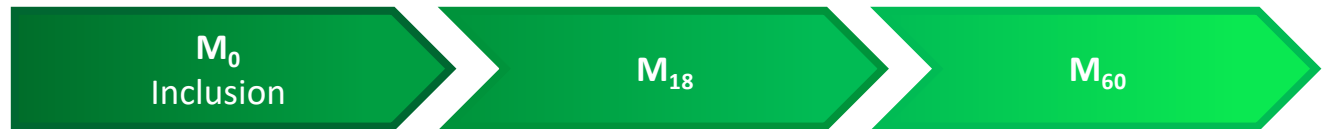
Réseau français sur la
DFT/DFT-SLA génétique
(INSERM 02-59)

- 17 centres participants
- Entre 2010 et 2021



Protocoles multicentriques PREV-DEMALS & Predict-PGRN

PREDICT-PGRN (*GRN* carriers) – NCT04014673 - Start: 2010



PREV-DEMALS (*C9orf72* carriers) – NCT02590276 - Start: 2015



Population étudiée, dosages & analyses

- **Dosages** réalisés au laboratoire du CIMI-Paris / Pitié-Salpêtrière (coll. Karim Dorgham)
- Single Molecule Array, SiMoA[®], Quanterix
- Pratiqués en **dupliquât**, sur 13 plaques. Contrôles intra- et inter-plaque
- Analyses répétées si coefficient de variation (CV) $\geq 15\%$

- **Analyses statistiques** : logiciel R (4.0.3)
- GLM avec l'inclusion de toutes les covariables d'intérêt
- LMEM pour la progression longitudinale
- Index de Youden pour définir les cut-offs optimaux (package *cutpointR*)

NfL chez les contrôles

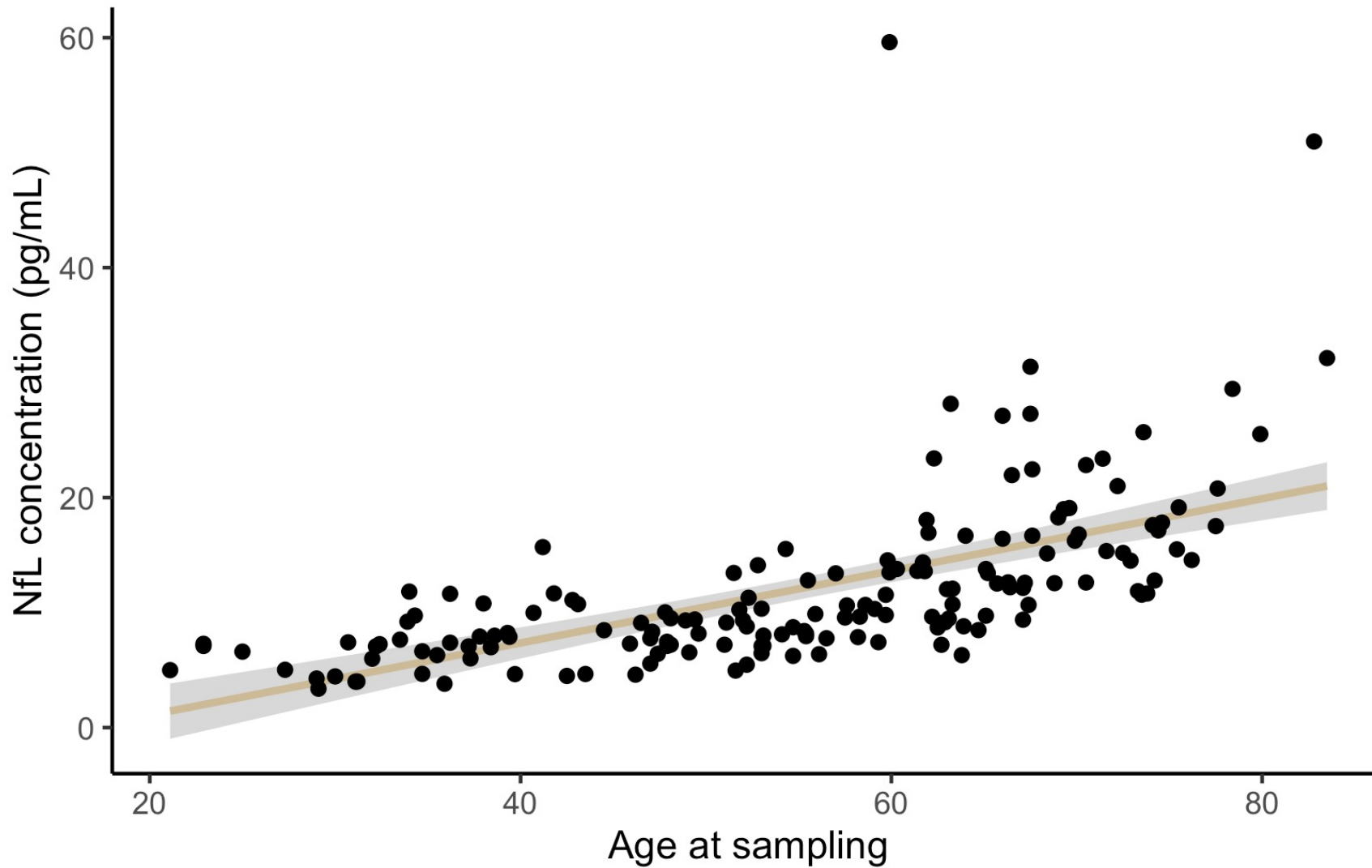
165 sujets sans maladie neurologique

- Recrutés dans le contexte de protocoles de recherche clinique
- Age médian au prélèvement : 56,5 [45,9; 66,3]
- Sexe : 96 F / 69 H
- Toutes classes d'âge représentées (détail sur 6-7^{ème} décade)

Classe d'âge (ans)	N =
< 30	8
30-39,9	25
40-49,9	24
50-54,9	19
55-59,9	20
60-64,9	21
65-69,9	23
> 70	25

NfL chez les contrôles

Médiane : 9,88 pg/mL [7,42; 14,36]



- Les niveaux de NfL ne sont pas influencés par le sexe ($p = 0,729$)
- Forte corrélation entre âge et niveaux de NfL

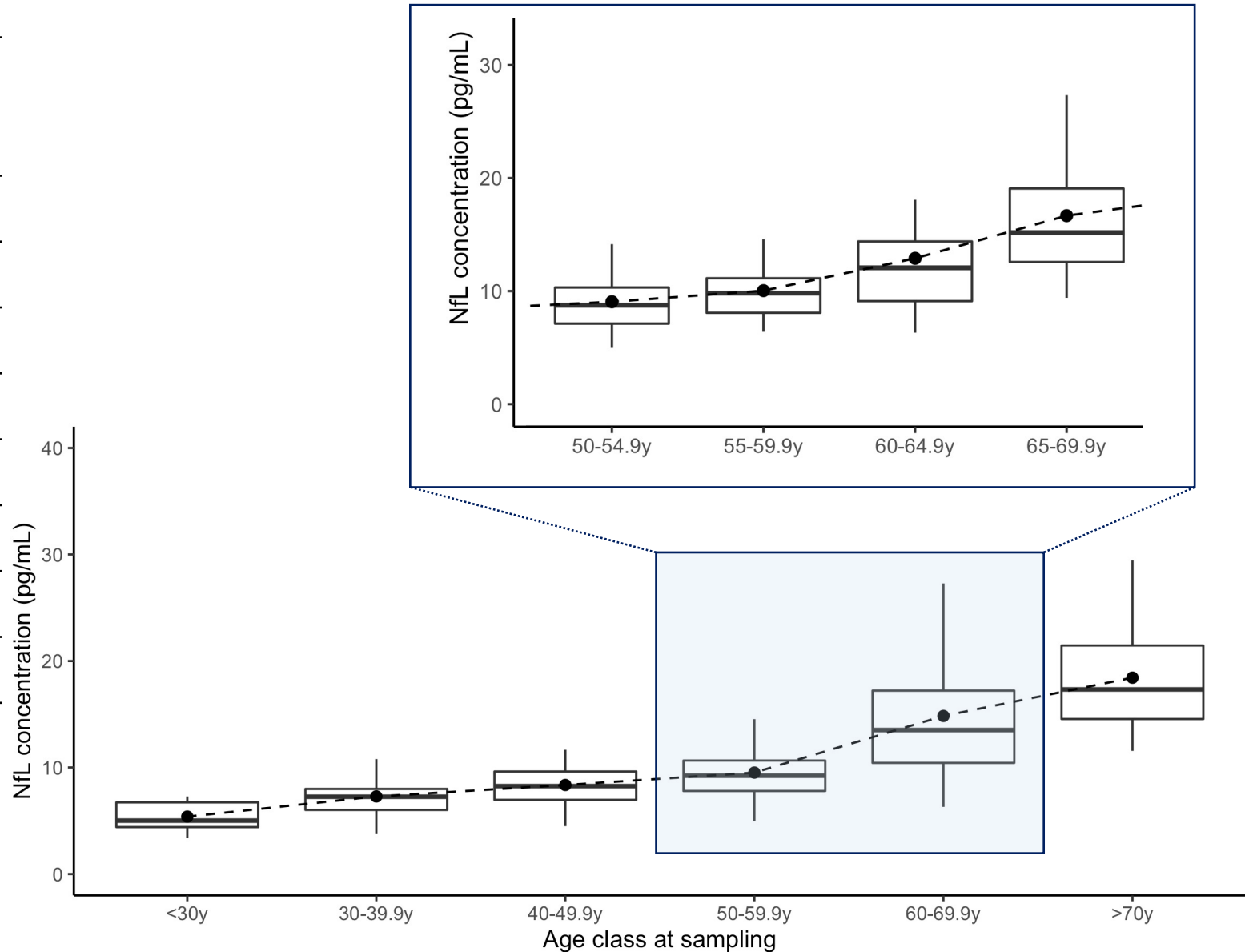
Corrélation de Spearman

$\rho = 0,766$; $p < 0,0001^*$

Valeurs de référence chez les contrôles selon l'âge

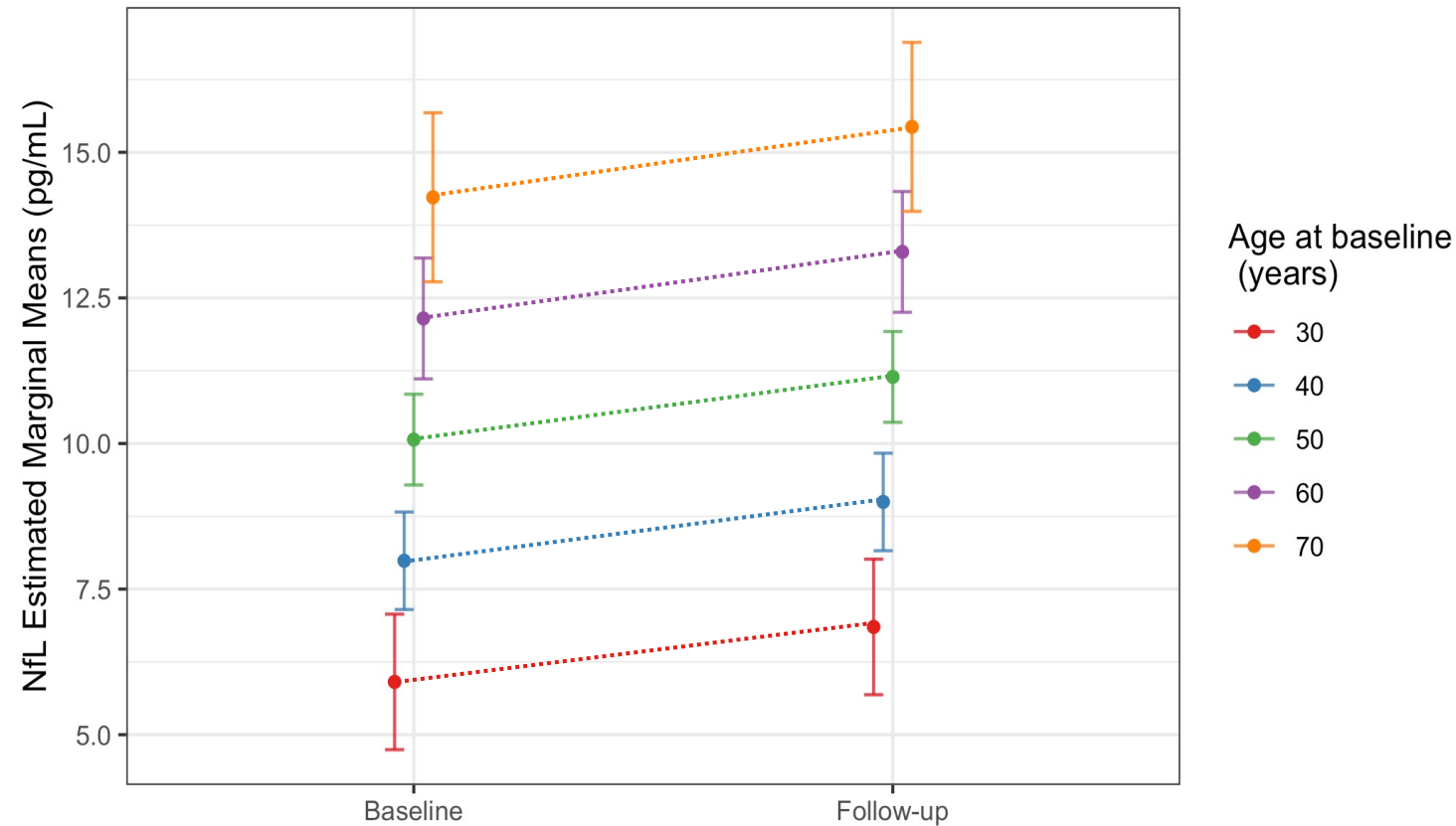
Niveaux de NfL (pg/mL)

Classe d'âge (ans)	N=	25 ^{ème} p	Médiane (50^{ème} p)	75 ^{ème} p
<30	8	4,40	5,01	6,73
30-39,9	25	6,02	7,26	7,99
40-49,9	24	6,96	8,25	9,62
50-54,9	19	7,10	8,73	10,29
55-59,9	20	8,11	9,84	11,86
60-64,9	21	9,09	12,03	14,36
65-69,9	23	12,55	15,14	19,05
≥70	25	14,57	17,52	22,83



Taux annualisé de progression chez les contrôles

N=	64
NfL à baseline, moy (\pmET)	9,37 (\pm 4,20) pg/mL
NfL au follow-up, moy (\pmET)	10,43 (\pm 4,40) pg/mL
Durée du follow-up, moy (\pmET)	3,0 (\pm 1,2) ans
Durée du follow-up, range	1,3 – 6,3 ans



$p_{VISIT} < 0,001^{***}$

- Progression significative chez les contrôles : +1,06 pg/mL pendant 3 ans en moyenne
- Taux annualisé de progression (annualized rate of change, ARC) : +4%/an

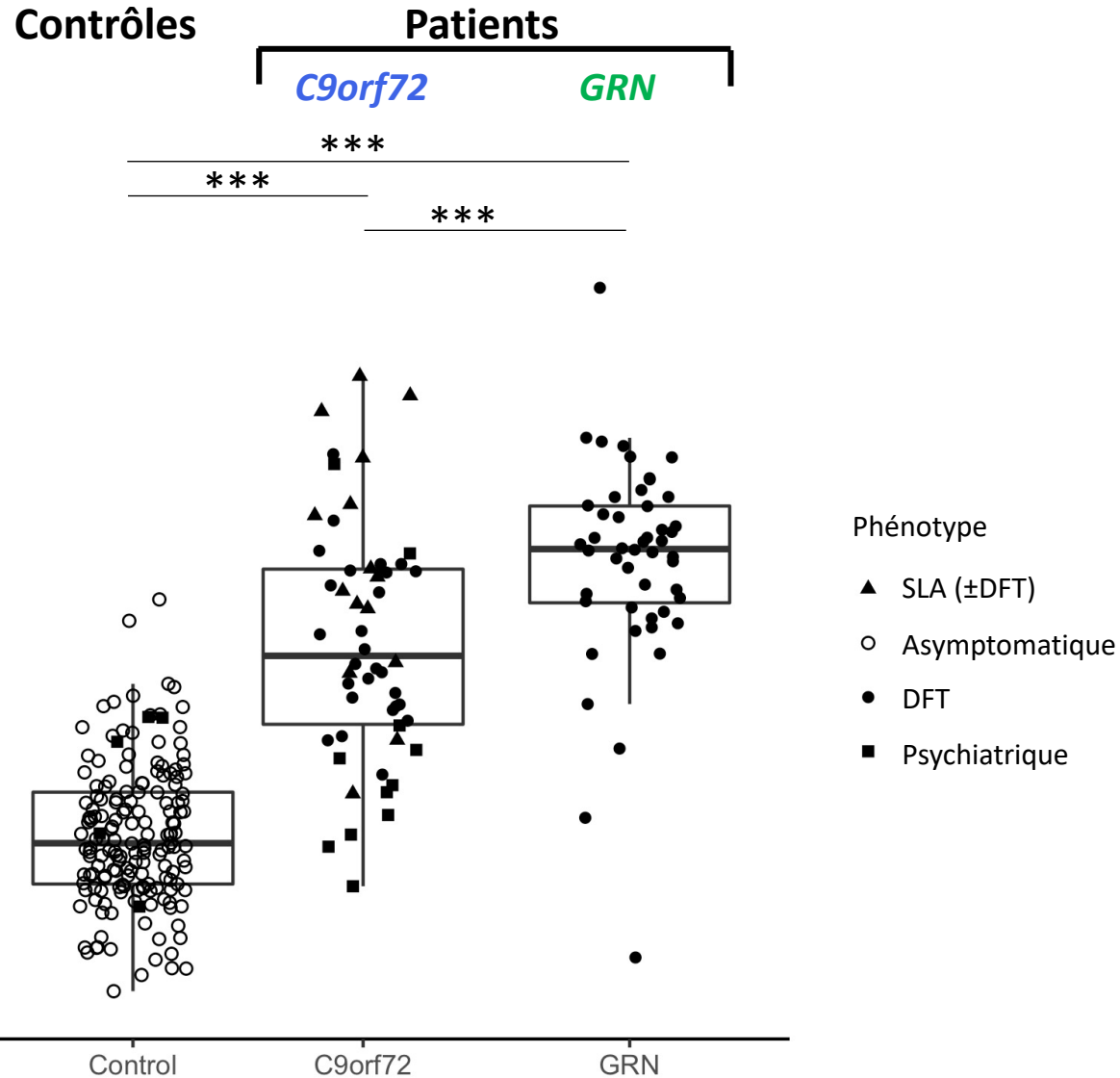
NfL chez les patients avec mutation *C9orf72* et *GRN*

102 patients

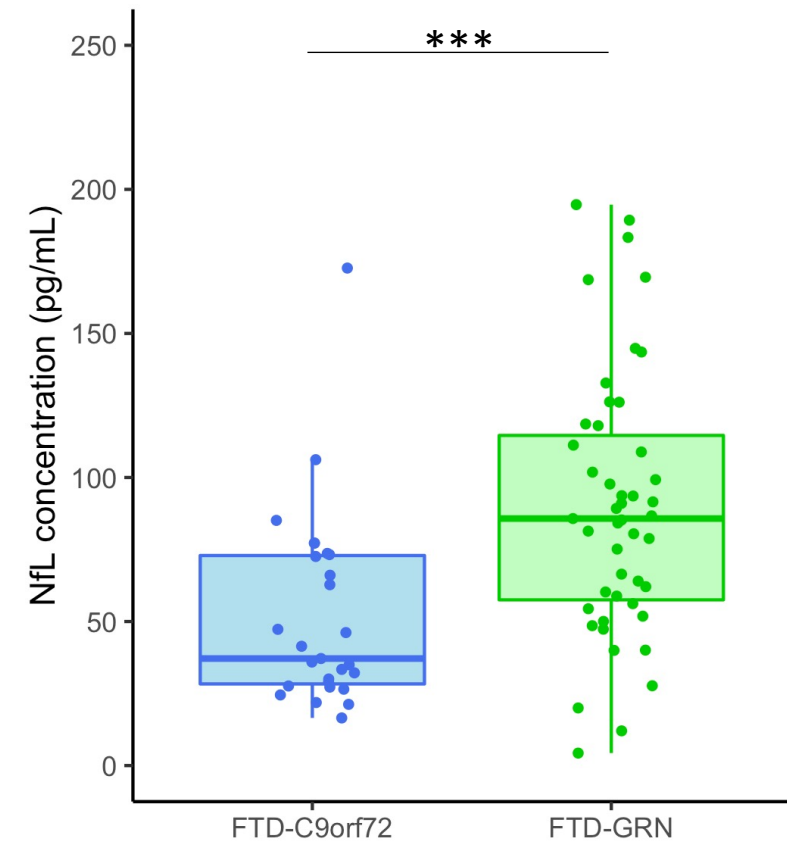
- 48 patients avec mutation de *GRN* : tous DFT
- 54 patients avec expansion de *C9orf72* :
 - 27 DFT, 16 SLA
 - 11 présentations psychiatriques
 - 12 avec formes atypiques, lentement progressives (DFT >14 ans, SLA >7 ans)

	Tous	<i>C9orf72</i>	<i>GRN</i>
N =	102	54	48
Sexe (F/H)	46 / 56	24 / 30	22 / 26
Phénotype			
DFT (N=)	75	27	48
SLA (N=)	6	6	-
DFT/SLA (N=)	10	10	-
Psychiatrique (N=)	11	11	-
Age du début	58,0	58,0	58,0
Médiane [Q1; Q3]	[53,0; 64,8]	[50,3; 67,0]	[54,8; 63,0]
Age au prélèvement	62,9	64,4	62,1
Médiane [Q1; Q3]	[58,3; 69,6]	[58,0; 71,5]	[58,5; 66,2]
Durée de maladie	3,5	5,1*	2,9*
Médiane [Q1; Q3]	[2,3; 5,9]	[2,9; 9,0]	[2,2; 3,5]
Formes lentement progressives	12	12	-

Les niveaux de NfL diffèrent selon le gène



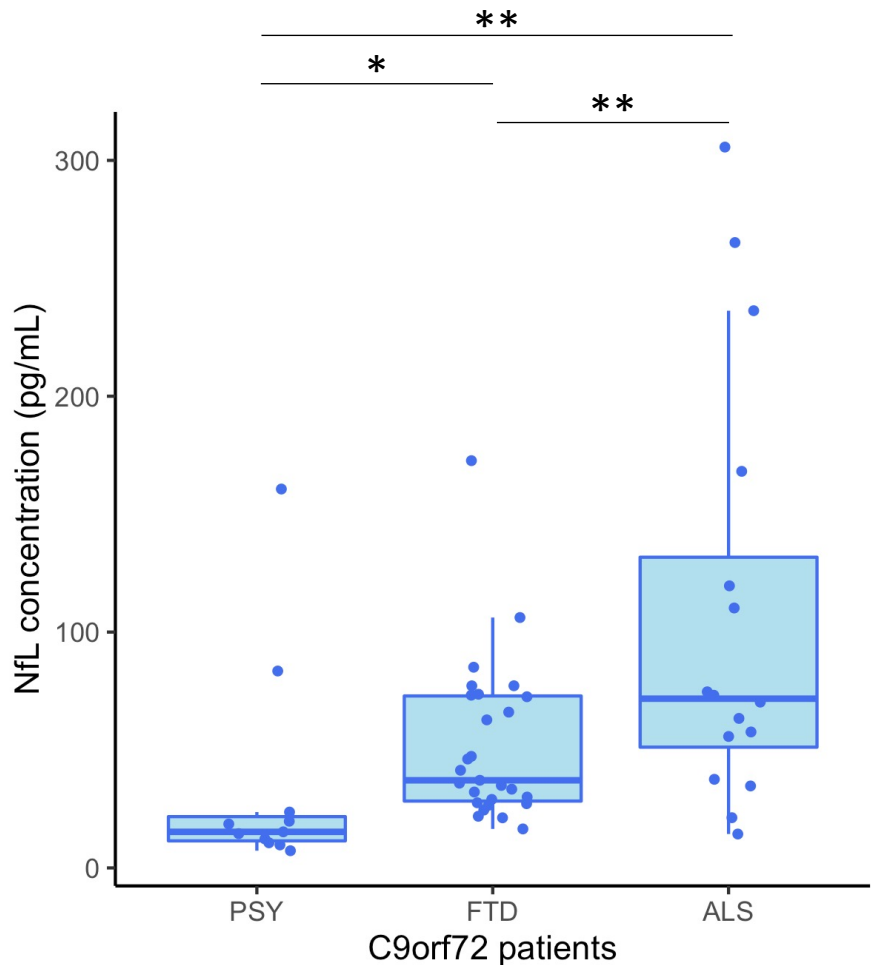
Patients DFT seuls	<i>C9orf72</i>	<i>GRN</i>
N =	27	48
Médiane NfL, pg/mL	37,16	86,21



- Importance de stratifier selon le gène

Le phénotype influence les niveaux chez les patients *C9orf72*

Phénotype	Psychiatrique	DFT	SLA
N =	11	27	16
Médiane NfL, pg/mL	15,30	37,16	71,76



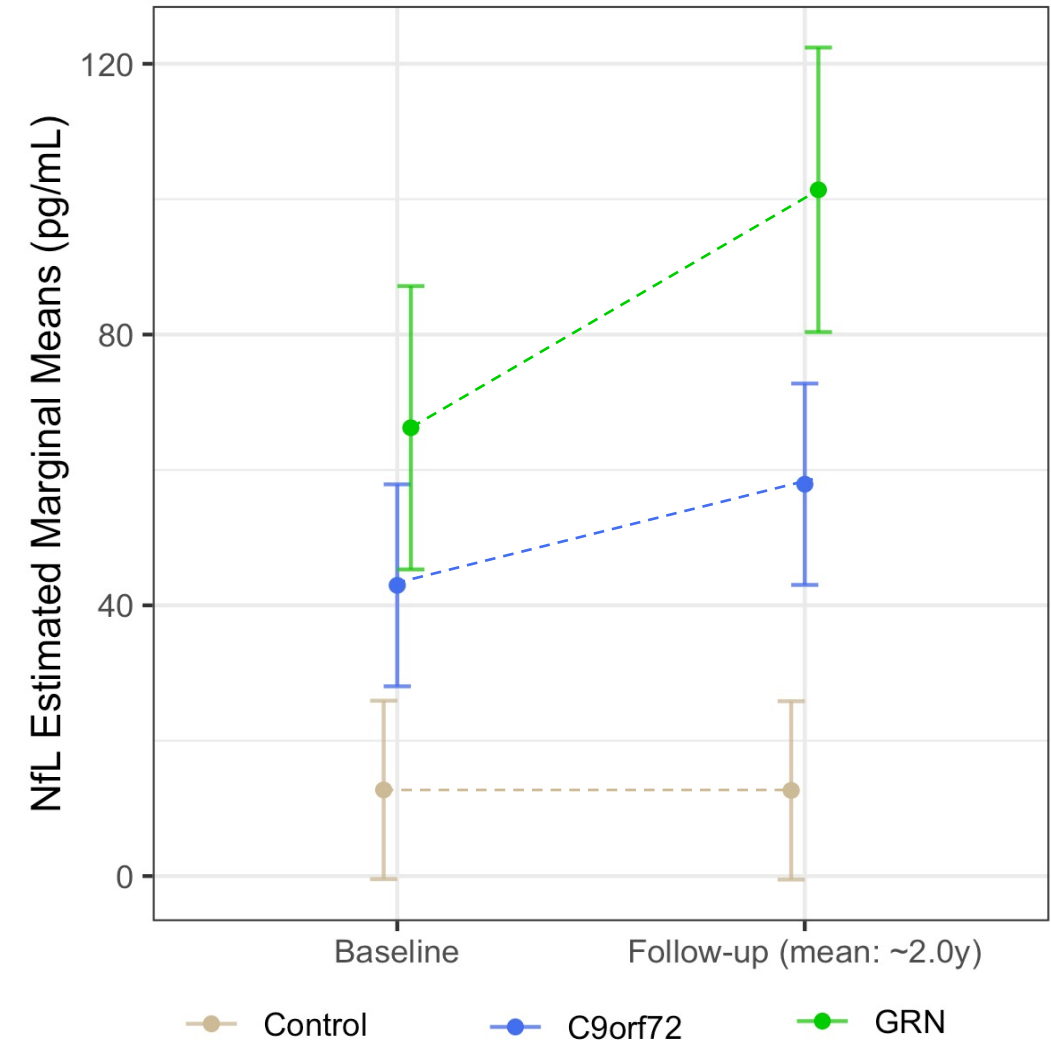
- Le phénotype clinique est un déterminant majeur des niveaux de NfL chez les patients *C9orf72*

Taux de progression annualisé chez les patients

	Contrôles	Patients <i>C9orf72</i>	Patients <i>GRN</i>
N=	36	27	13
NfL à baseline, moy (±ET), pg/mL	11,06 (± 4,51)	43,63 (± 38,39)	65,54 (± 43,00)
Durée du follow-up, moy (±ET), ans	2,1 (± 1,3)	2,0 (± 1,3)	2,1 (± 1,1)
Taux de progression, moy (±ET), pg/mL	0,46 (± 1,54)	10,79 (± 17,08)	19,51 (± 31,12)
Taux de progression annualisé (ARC)	+4,2%	+24,7%	+29,3%



- Progression plus importante que chez les contrôles, différente selon le gène



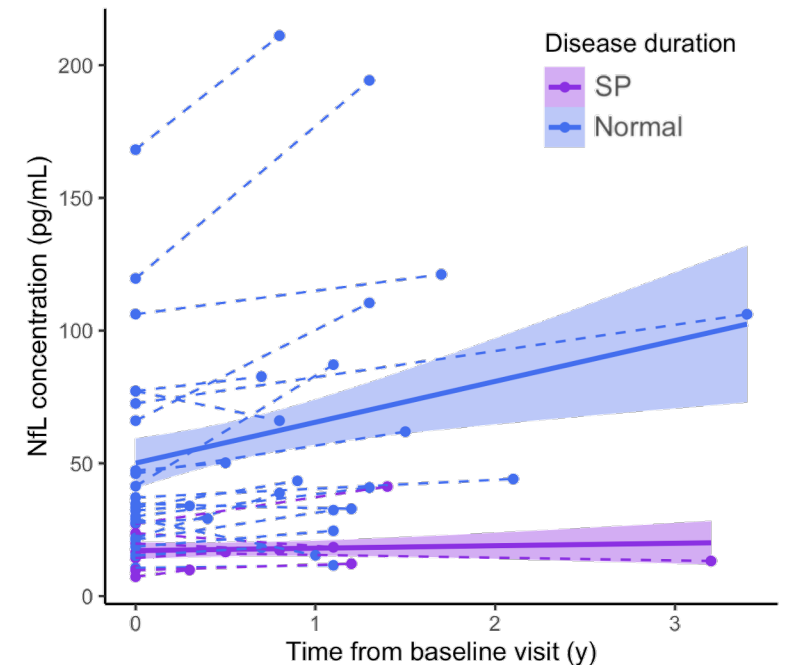
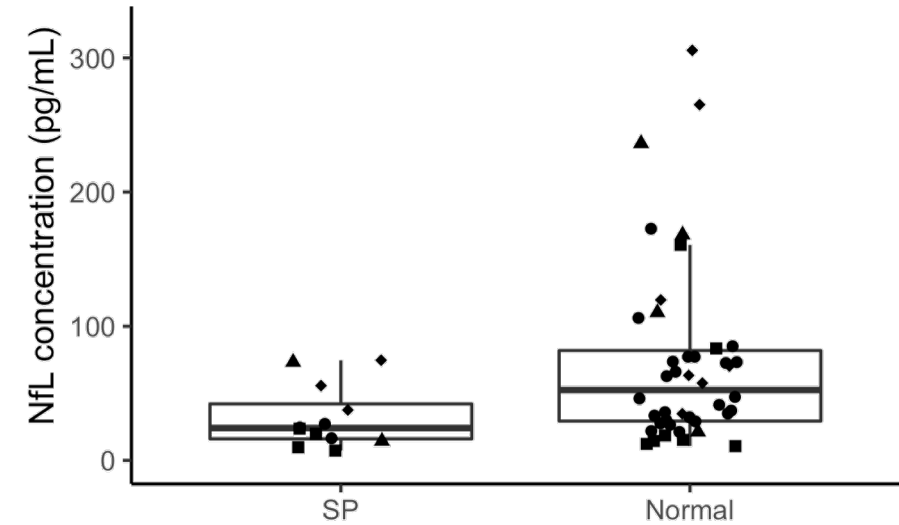
$p_{ARC} < 0,0001^{***}$

NfL chez les patients *C9orf72* d'évolution lente

- Durée d'évolution : >14 ans (DFT) ou >7 ans (SLA)

	<i>C9orf72</i> Progression lente	<i>C9orf72</i> Progression classique	<i>p</i>
N =	12	42	
Age, moy (± ET)	64,2 (± 8,9)	63,1 (± 10,2)	0,817
Durée évolution, moy (± ET)	14,9 (± 5,7)	4,1 (± 2,3)	<0,0001*
Médiane NfL, pg/mL	24,11	52,47	0,05*
Durée du suivi, moy (± ET)	1,3 (± 0,9)	1,1 (± 0,7)	0,789
Taux de progression annualisé (ARC)	+2,5%	+26,1%	0,05*

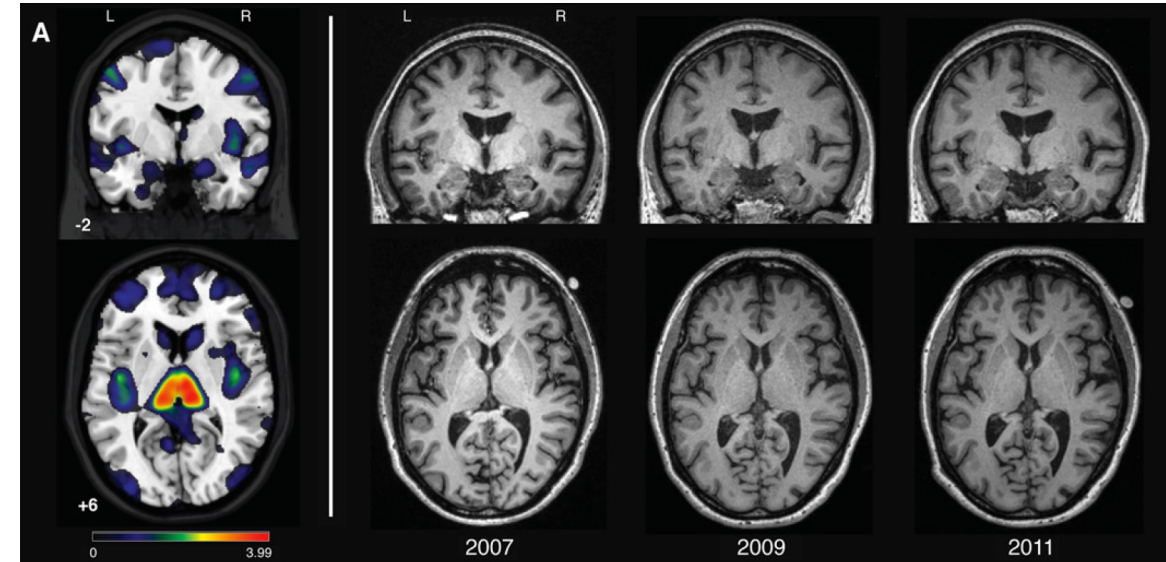
- Valeurs de base et progression beaucoup plus faibles



NfL chez les patients *C9orf72* avec présentations atypiques

1) Patients d'évolution lente

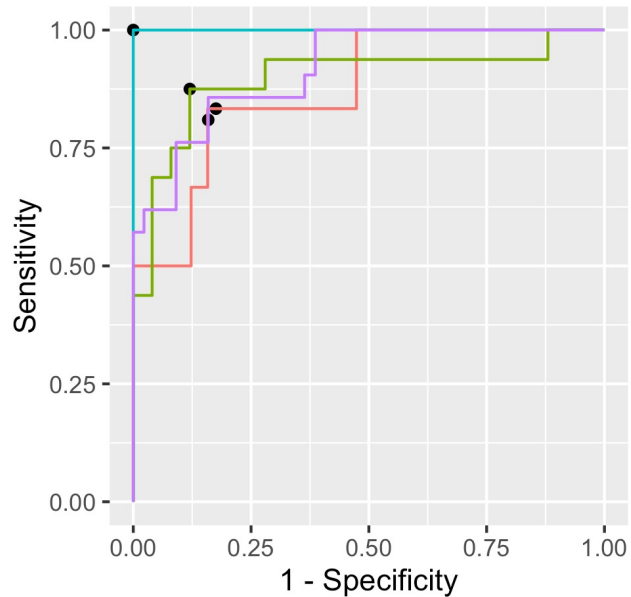
- Dans les formes lentes de DFT (ou "phénocopies" DFT) les marqueurs d'imagerie structurale et fonctionnelle restent stables pendant plusieurs années (*Khan et al., 2012; Valente et al., 2019*)
- Notre étude suggère que le taux de progression des NfL sur 1 an pourrait différencier ces patients de ceux avec une progression habituelle



2) Patients avec présentations psychiatriques

- Les NfL peuvent discriminer les DFT des pathologiques psychiatriques (*Al Shweiki et al., 2019*)
- Dans notre étude, les patients *C9orf72* avec présentations psychiatriques avaient des niveaux de NfL significativement plus bas que ceux avec un variant comportemental de DFT, et **comparables aux patients avec troubles psychiatriques primaires** ($p=0,84$)

Cut-offs optimaux selon gène et âge



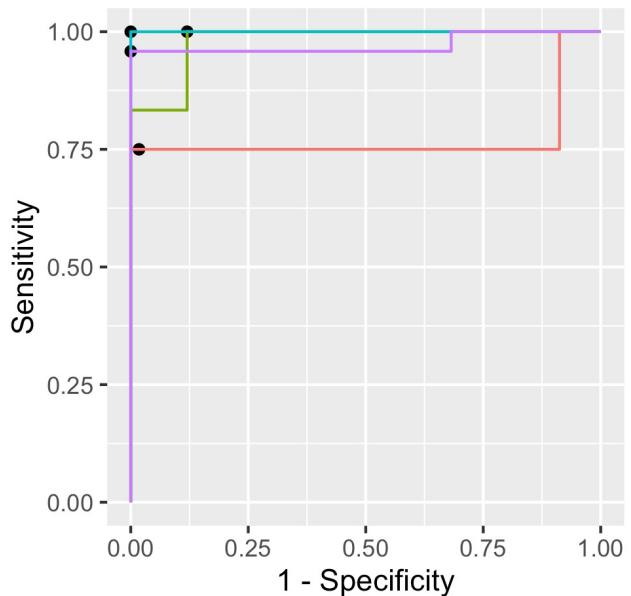
Age class

■ <50y

■ 50-59.9y

■ 60-69.9y

■ >70y



Patients C9orf72

	Cut-off optimal	AUC	Index de Youden	Sensibilité	Spécificité
<50 ans	9,74	0,87	0,67	0,83	0,82
50-59 ans	16,03	1	1	1	1
60-69 ans	20,85	0,92	0,65	0,81	0,84
≥70 ans	26,47	0,90	0,76	0,88	0,88

Patients GRN

	Optimal cut-off	AUC	Index de Youden	Sensibilité	Spécificité
<50 ans	15,70	0,77	0,73	0,75	0,98
50-59 ans	17,77	1	1	1	1
60-69 ans	35,69	0,97	0,96	0,96	1
≥70 ans	27,71	0,98	0,88	1	0,88

NfL chez les porteurs présymptomatiques

Contrôles

Présymptomatiques

Patients

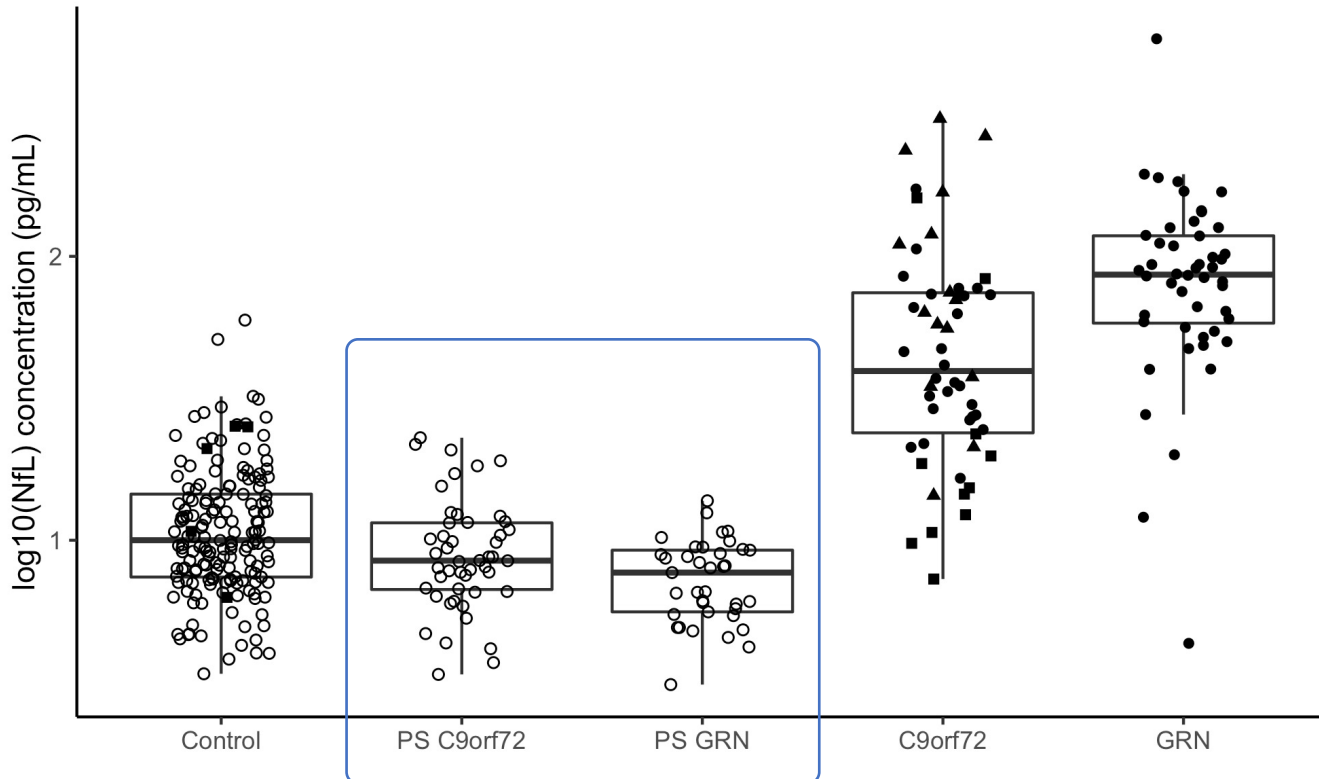
C9orf72

GRN

C9orf72

GRN

**



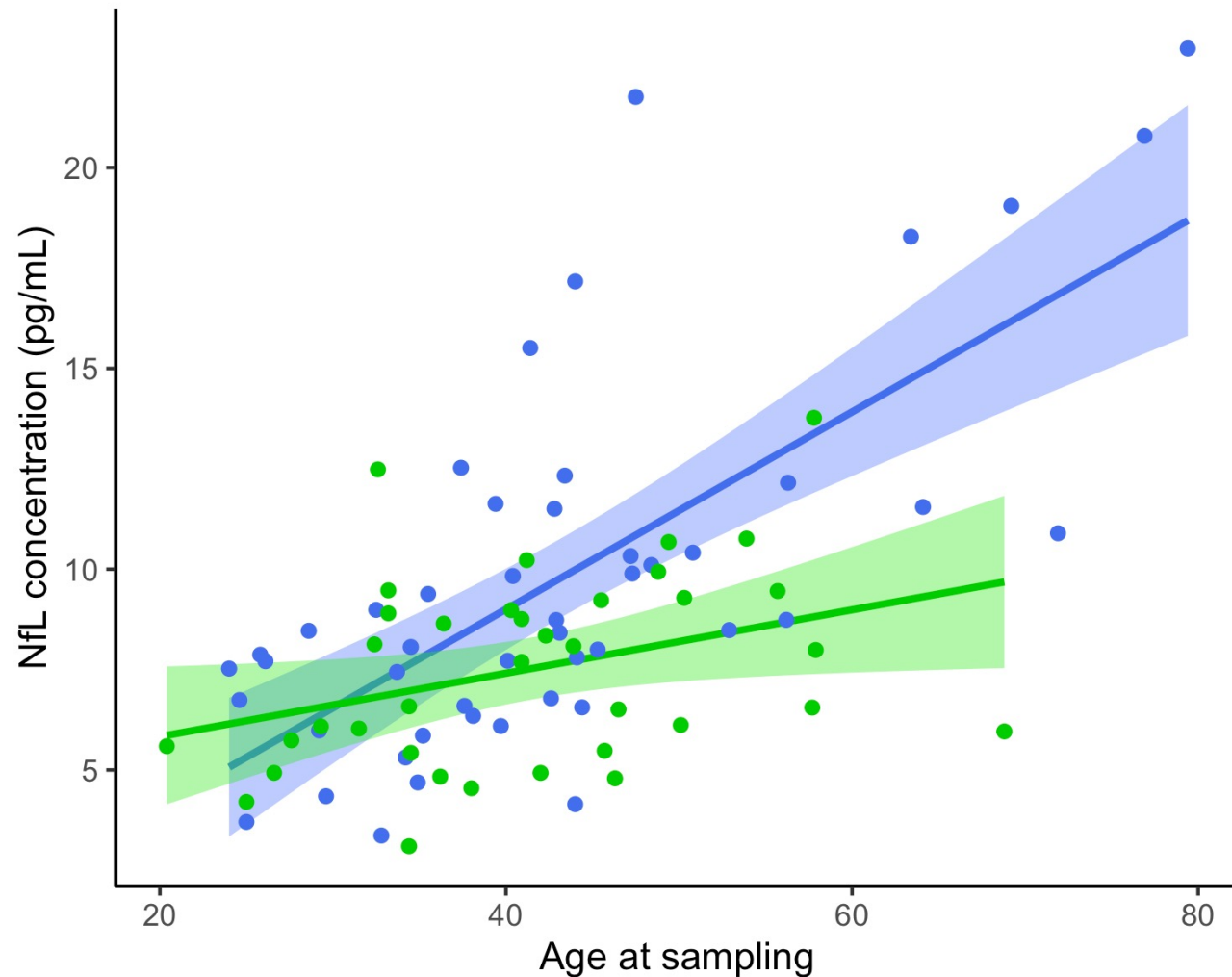
	Tous	<i>C9orf72</i>	<i>GRN</i>
N=	85	48	37
Gender (F/H)	52 / 33	30 / 18	22 / 15
Age à baseline (ans)	41,2	42,0	40,9
Médiane [Q1; Q3]	[34,2; 47,5]	[34,4; 47,4]	[33,2; 48,8]
Age à baseline, range	20,4-79,4	24,0-79,4	20,4-68,8
Médiane NfL (pg/mL)	8,08	8,48*	7,70*

$p = 0,004^*$

- 4 sujets : conversion à l'état prodromal pendant le suivi (CDR®+NACC-FTLD = 0.5)

NfL chez les porteurs présymptomatiques

Présymptomatiques *C9orf72* et *GRN*



	Tous	<i>C9orf72</i>	<i>GRN</i>
N=	85	48	37
Gender (F/H)	52 / 33	30 / 18	22 / 15
Age à baseline (ans)	41,2	42,0	40,9
Médiane [Q1; Q3]	[34,2; 47,5]	[34,4; 47,4]	[33,2; 48,8]
Age à baseline, range	20,4-79,4	24,0-79,4	20,4-68,8
Médiane NfL (pg/mL)	8,08	8,48*	7,70*

Corrélations de Spearman

Porteurs *C9orf72* :

$\rho = 0,672$; $p < 0,0001$ *

Porteurs *GRN* :

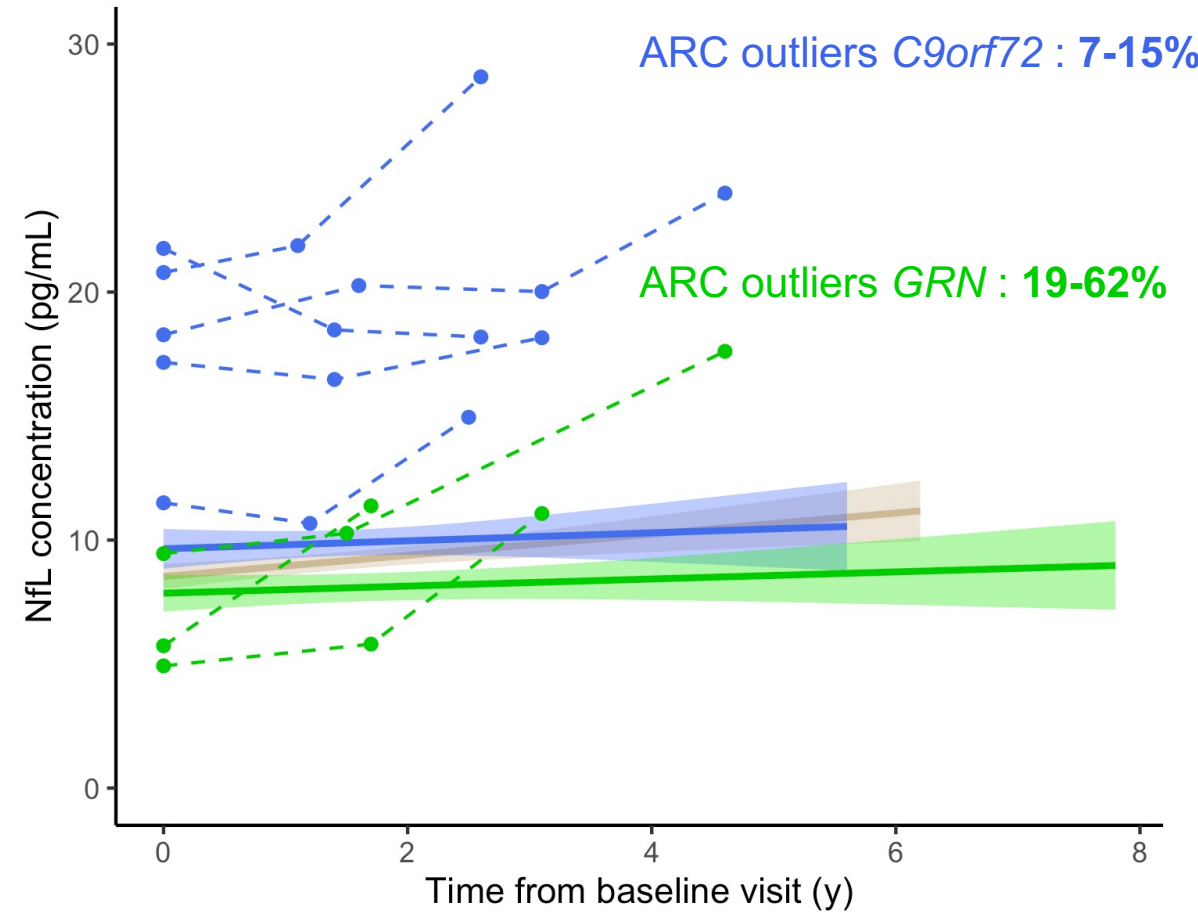
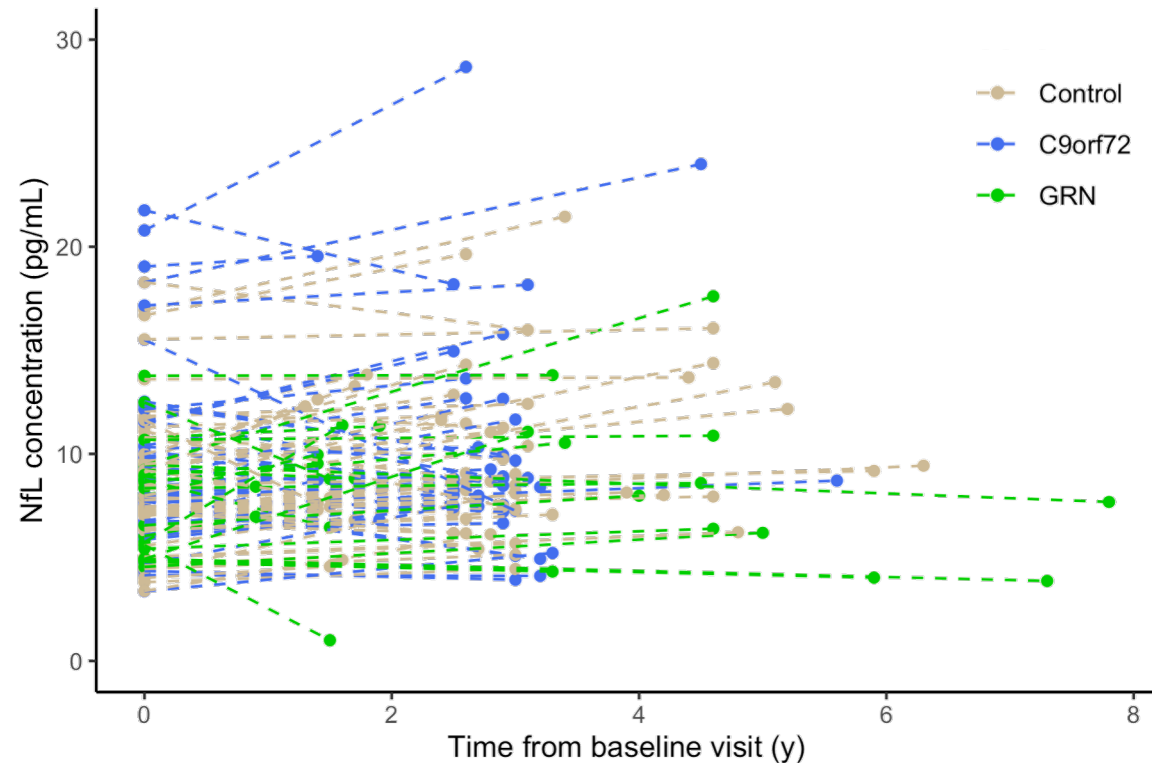
$\rho = 0,341$; $p = 0,036$ *

$p = 0,004$ *

- Niveaux de NfL en moyenne plus élevés, et plus progressifs avec l'âge, avec mutations *C9orf72*

NfL chez les porteurs présymptomatiques

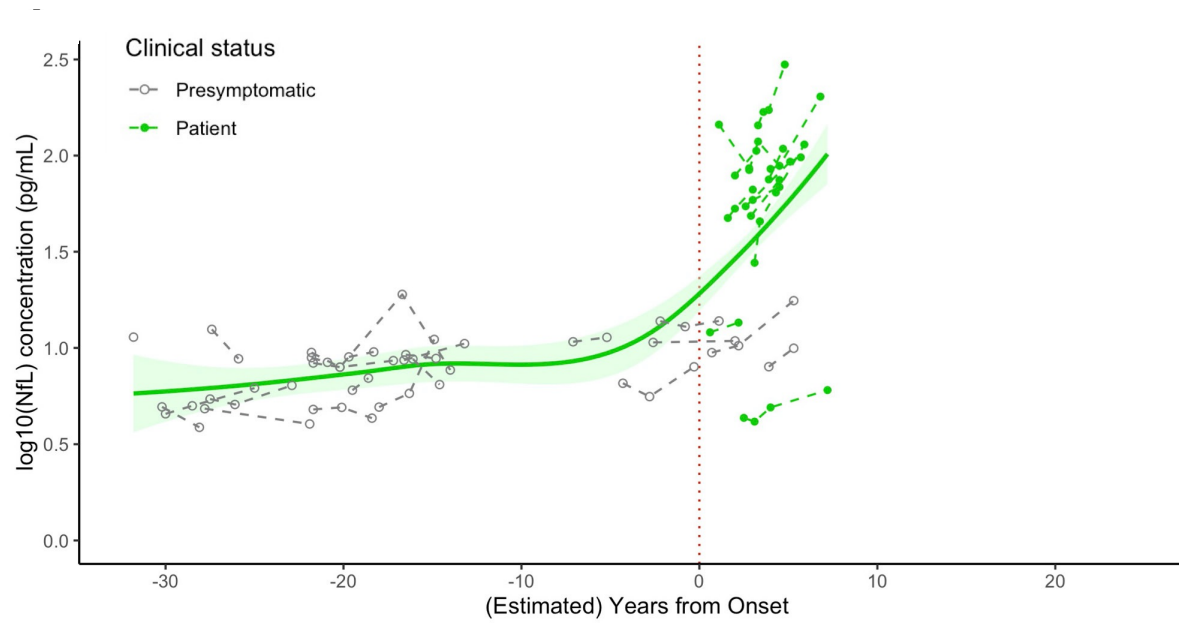
	Contrôles	PS <i>C9orf72</i>	PS <i>GRN</i>
N=	58	43	23
Durée du follow-up, moy (\pm ET), ans	3,0 (\pm 1,1)	2,8 (\pm 0,6)	3,2 (\pm 2,0)
Taux de progression (ARC)	+3,9%	+3,2%	+3,3%



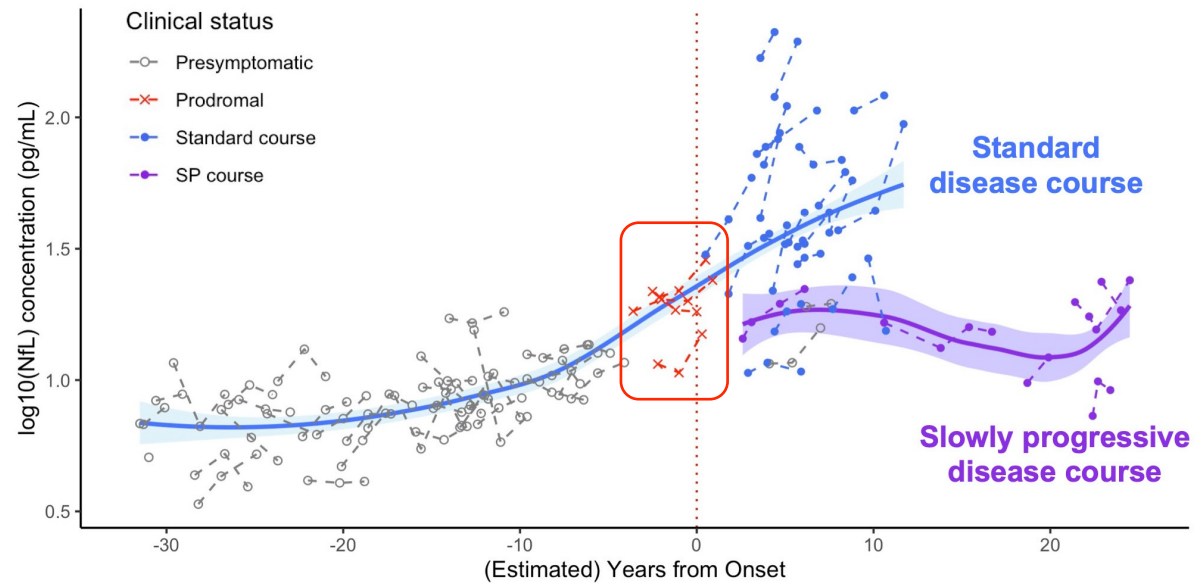
- 4/5 *C9orf72* outliers montraient des **signes prodromaux pendant le follow-up**
- Un d'entre eux développait une **SLA** 3 ans après

Trajectoires des NfL selon le gène responsable

GRN



C9orf72



Conclusions

- ❖ En conditions physiologiques, les niveaux de NfL plasmatiques sont fortement influencés par l'**âge** : valeurs de référence variables en fonction de la **classe d'âge** concernée
- ❖ Le **taux annualisé de progression** estimé chez les contrôles est environ **+4%**
- ❖ Des causes génétiques différentes produisent **trajectoires de NfL différentes** : à considérer pour les essais thérapeutiques
- ❖ NfL comme marqueurs d'**agressivité de maladie** (sévérité du phénotype et vitesse de progression)
- ❖ Définition de **cut-offs et de taux de progression adaptés** en fonction du gène impliqué et de l'âge, pour pouvoir identifier les **porteurs présymptomatiques proches** de la conversion
- ❖ Question ouverte pour les outliers sans notion de conversion : **phase préclinique plus précoce ?**

Merci pour votre attention !

Isabelle LE BER
Daisy RINALDI
Marion HOUOT
Fabienne CLOT
Armelle RAMETTI-LACROUX

CIMI Paris
Karim DORGHAM

Banque ADN et cellules
Ludmila JORNEA
Philippe MARTIN-HARDY
Sylvie FORLANI

Le réseau français sur la DFT/DFT-SLA
génétique



Investigateurs des protocoles
PREV-DEMALS & Predict-PGRN

Equipe BTN, Institut du Cerveau ICM
(Paris Brain Institute)
Agnès CAMUZAT
Mathieu BARBIER
A. BRICE / A. DURR / G. STEVANIN

Equipe ARAMIS, Institut du Cerveau ICM
(Paris Brain Institute)
Baptiste COUVY-DUCHESNE
O. COLLIOT / S. DURRLEMAN

Equipe IM²A – Pitié-Salpêtrière
CIC – Pitié-Salpêtrière