

Huntingtons

Sjukdomsmarkörer för **Huntingtons sjukdom**



Proteiner i ryggmärgsvätska avslöjar sjukdomsmekanismer och möjliggör mätning av sjukdomsaktivitet vid Huntingtons sjukdom. I denna artikel berättar **Valter Niemelä**, neurolog vid Akademiska sjukhuset, om resultaten från sin avhandling.

Huntingtons sjukdom är en autosomalt dominant nedärvd sjukdom där ett utökat antal CAG-repetitioner (>35) i huntingtingenen orsakar dysfunktion och skada på hjärnans nervceller. Symtomen visar sig vanligen i yngre medelålder och är framskridande tills patienten har hjälpbehov vid alla dagliga uppgifter och dör i förtid. Det rör sig om nedsatt viljestyrd rörelseförmåga samt uppkomst av karakteristiska ofrivilliga rörelser (chorea), kognitiv svikt och psykiatriska symtom. Gentest används för att fastställa diagnos vid misstänkta symtom, och erbjuds individer som har släkting med sjukdomen och önskar veta om de bär sjukdomsanlaget (prediktivt gentest). Debutålder inträffar i genomsnitt tidigare ifall antalet CAG är stort, men stor variation förekommer på individnivå. Även vilken typ av symtom som dominerar och förloppshastighet varierar. Det finns inga bromsmediciner ännu men ett flertal lovande kliniska prövningar pågår där nivåer av det muterade proteinet huntingtin minskar.¹ Idag används Unified Huntington's Disease Rating Scale (UHDRS) för att skatta symtomens svårighetsgrad men skalan är undersökerberoende och har andra begränsningar såsom till exempel patientens dagsform. Robusta biomarkörer som objektivt kan mäta sjukdomsaktivitet bör kunna komplettera

UHDRS-skalan och därmed underlätta kliniska läkemedelsstudier. Vissa biomarkörer kan vara direkt kopplade till sjukdomsmekanismer, varför deras upptäckt potentiellt blottar angreppspunkter för läkemedelsutveckling.

I min avhandling som blev färdig i slutet på 2019 har jag fokuserat på att finna sjukdomsmarkörer i ryggmärgsvätska hos de patienter som vi följer på Akademiska sjukhuset. Tack vare att min bihandledare Jimmy Sundblom hade skapat en biobank och påbörjat provtagning kunde jag fortsätta inkludera patienter, skatta symtomens svårighetsgrad med UHDRS-instrumenten för kognitiv- och motorisk funktion samt ADL. Insjuknade patienter och friska kontrollpersoner inkluderades, men även presymtomatiska anlagsbärare för att kunna påvisa tidiga biokemiska förändringar som kan bidra till sjukdomsdebuten.

NEUROFILAMENT LIGHT FÖR ATT MÄTA SJUKDOMSAKTIVITETEN VID HUNTINGTONS SJUKDOM

Neurofilament light (NFL) har sedan en längre tid kunnat mätas i ryggmärgsvätska hos patienter där man misstänker skada i centrala nervsystemet. Proteinets finns anrikat i nervcellernas utlöpare (axon) i den vita substansen. Därmed har det visat sig avspegla skadan

		p-värde**	p-värde*	p-värde	Korrelation (Spearman r)
YKL-40	TMS	0.028	0.018	0.0001	0.67
	Stroop interferens	0.002	0.006	0.0003	-0.72
	TFC	0.13	0.14	0.001	-0.59
sCD27	TMS	0.52	N/A	0.21	0.27
	Stroop interferens	0.25	N/A	0.078	-0.38
	TFC	0.12	N/A	0.66	-0.10
NfL	TMS	0.006	0.0001	< 0.0001	0.83
	Stroop interferens	0.069	0.001	< 0.0001	-0.83
	TFC	0.003	0.0003	0.0002	-0.67
total-tau	TMS	0.044	0.033	0.001	0.60
	Stroop interferens	0.096	0.12	0.001	-0.61
	TFC	0.24	0.23	0.007	-0.50
fosfo-tau	TMS	0.037	0.027	0.002	0.57

1. Tabellen är översatt och ursprungligen från referens nr 6. Förklaringar: NfL=neurofilament light; sCD27=löslig CD27 receptor; YKL-40/Chitinase 3 Like-1 (CHI3L1); TMS=Total Motor Score är en skala som används för att mäta graden av motoriska avvikelser; TFC=Total Functional Capacity, är en skala som mäter patientens vardagliga funktionsnivå; Stroop interferens är ett av de kognitiva mätinstrument som är validerat vid Huntingtons sjukdom.

* justerat för ålder.

** justerat för Disease burden score = (CAGn-35,5) x ålder.



Studier på preparat som sänker huntingtinnivåer har börjat använda sig av NfL-mätning samtidigt med administrering av läkemedel som ges intratekalt vid lumbalpunktion.

vid sjukdomar som drabbar företrädesvis vita substansen. Förhöjda nivåer har uppmätts vid bland annat amyotrofisk lateral skleros och multipel skleros. Vitsubstansförändringar förekommer faktiskt redan innan sjukdomsdebut vid Huntingtons sjukdom. Radu Constantinescu, neurolog på Sahlgreiska Universitetssjukhuset, var först att mäta NfL på patienter med Huntingtons

sjukdom där han fann förhöjda nivåer jämfört med friska individer.² Vi fann i likhet med andra forskargrupper förhöjda nivåer hos patienterna, men även hos presymtomatiska anlagsbärare och ytterst starka samband med sjukdomens symtom enligt UHDRS (korrelationskoefficienter $r > 0,8$).³ Analyserna gjordes med immunbaserad metod (ELISA) i samarbete med professorerna Kaj Blen-

now och Henrik Zetterberg vid Sahlgreiska Universitetssjukhuset. Vi fann dessutom att fosfo-tau och total-tau var kopplade till symtomen, men dessa nivåer stiger inte så tidigt som NfL gör, det vill säga i det presymtomatiska stadiet. Vid analys av upprepade provtagningar efter cirka 1–3 år kunde vi se att NfL-nivåerna hade en stigande trend med bibehållna skillnader mellan grupperna. Detta skilde sig från den mindre förutsägbara utveckling vi kunde se för de båda formerna av tau. Studier på preparat som sänker huntingtinnivåer har börjat använda sig av NfL-mätning samtidigt med administrering av läkemedel som ges intratekalt vid lumbalpunktion. Det är också lovande att NfL visar liknande resultat i blod, vilket förstås skulle förenkla provtagningen avsevärt.⁴ Blodbaserad NfL-analys har nu dessutom börjat erbjudas som en kliniskt tillgänglig analys på olika sjukhuslaboratorier i Sverige. När verksamma bromsläkemedel finns tillgängliga uppstår frågan om och när man ska börja behandla presymtomatiska anlagsbärare. De flesta tror att tidig bromsbehandling kommer vara av störst nytta och i en optimal situation kan man tänka sig att behandling av anlagsbärare hindrar sjukdomsdebut. Möjligen kan NfL monitoreras regelbundet för att se när nervskada börjar ske och därmed motivera beslut att initiera behandling.

INFLAMMATORISK AKTIVITET STÖDS AV FLERA SJUKDOMSMARKÖRER

Huntingtinproteinet uttrycks inte bara i nervceller utan i alla kroppens vävnader. Det är sedan tidigare känt att det medfödda immunförsvaret har en förändrad funktion vid Huntingtons sjukdom och astrocytdysfunktion tros bidra till neurodegenerationen. Vi fann i likhet med andra forskargrupper att proteinet YKL-40 (även kallat *Chitinase 3 Like-1 – CHI3L1*) som utsöndras från aktiverade astrocyter (och är en del av det medfödda immunförsvaret) var starkt kopplat till symtomen men tycks stiga först sent i sjukdomsförloppet. Därremot saknas nästan helt studier som visar att det förvärvade immunförsvaret spelar en roll i sjukdomsprocessen. Löslig CD27-receptor (sCD27) representerar T-cellsaktivering i det förvärvade immunförsvaret. sCD27 kan mätas i



Detta talar för en tidig T-cellsmedi- erad inflammatorisk process som inte tidigare rapporterats vid Huntingtons sjukdom.

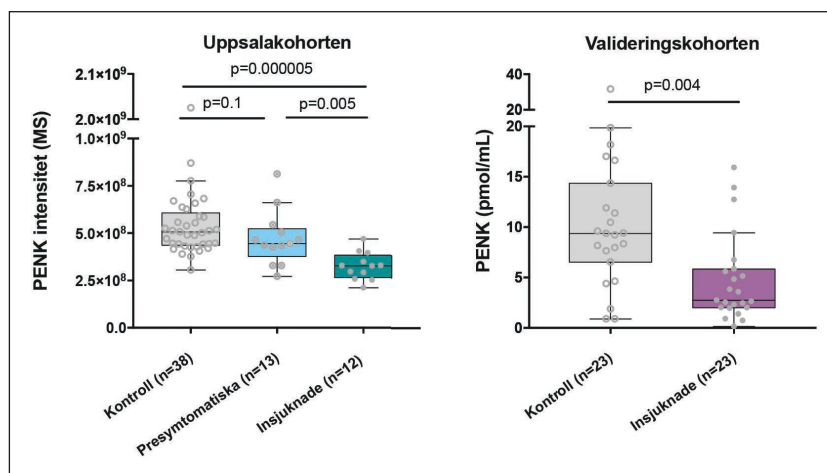
ryggmärgsvätska med ELISA och är en lovande markör eftersom den är markant förhöjd hos patienter med inflammation eller infektion i nervsystemet, men är omätbar/låg hos individer utan dessa sjukdomar.⁵ Vi analyserade sCD27 hos huntingtonpatienterna och fann att nivåerna var förhöjda redan på anlagsbärrastadiet och att nivåerna var högst hos de insjuknade patienterna.⁶ Detta talar för en tidig T-cellsmediert inflammatorisk process som inte tidigare rapporterats vid Huntingtons sjukdom. Dock saknades samband med symptomets svårighetsgrad och fyndet behöver bekräftas i större studier. Vid explorativ proteomikanalys identifierade vi även flera immunkomponenter som var kopplade till symptomen och/eller sjukdomsstadie, däribland IL-6 samt flera faktorer ur komplementsystemet.

NIVÅER AV PROENKEFALIN SJUNKER I TAKT MED SJUKDOMSFÖRLOPPET

Vi utförde explorativ masspektrometri-analys i samarbete med professor Jonas Bergqvist och forskare Ganna Shev-

chenko på Institutionen för Kemi vid Uppsala universitet. I denna fann vi olika proteiner med koppling till sjukdomsstadie. Särskilt proteinet proenkefalin hade tydligt lägre nivåer hos insjuknade patienter och korrelerade starkt med symptomets svårighetsgrad.⁷ Proenkefalin bedömde vi var särskilt intressant på grund av en koppling till känd patofysiologi. Detta hormon produceras nämligen i stor utsträckning av de nervceller som drabbas först vid Huntingtons sjukdom, de så kallade medium spiny-neuronen i striatum. Vi gick vidare och verifierade att resultatet stämde genom att analysera prover från patienter från Karolinska och Sahlgrenska Universitetssjukhuset. Vid denna sista analys kunde exakt kvantifiering utföras genom att tillsätta en intern standard (en syntetisk peptid ur proenkefalin).

Proenkefalin klyvs och bildar enkefaliner som modulerar bland annat målriktat beteende och central upplevelse av smärta. Det är därför intressant att notera symptomet apati som ofta är ut-



Figur 2. Skillnader i proenkefalin (PENK) nivå mellan kontrollindivider, presymtomatiska anlagsbärrare och insjuknade patienter. Till vänster är ursprungliga studiegruppen från Akademiska sjukhuset i Uppsala med relativa nivåer mellan grupperna. Till höger är absolut kvantifierade PENK-nivåer i valideringskohorten bestående av patienter från Karolinska och Sahlgrenska Universitetssjukhuset. P-värden är justerade för ålder.

talat vid sjukdomen. Det är däremot inte är säkert klarlagt om patienterna har begränsad smärtupplevelse, även om mindre studier talar för det. Sammantaget är proenkefalin en lovande biomarkör för graden av dysfunktion och degeneration av medium spiny-neuronen som vi vet skadas tidigt i sjukdomsförloppet.



VALTER NIEMELÄ
Neurolog, PhD, Neurologikliniken,
Akademiska sjukhuset & Institutionen för
Neurovetenskap; Neurologi, Uppsala universitet
valter.niemela@neuro.uu.se

REFERENSER

1. Niemelä V, Petersén Å, Loutfi G, Svenningsson P, Paucar M. Huntingtons sjukdom – kliniska prövningar inger nu optimism - Vanligaste formen av ärftlig neurodegenerativ sjukdom i västvärlden ger svåra symptom och förtidig död [Recent advances in Huntington's disease] Lakartidningen 2020; 117.
2. Constantinescu R, Romer M, Oakes D, et al. Levels of the light subunit of neurofilament triplet protein in cerebrospinal fluid in Huntington's disease. *Parkinsonism & related disorders* 2009; 15:245-8.
3. Niemelä V, Landtblom AM, Blennow K, et al. Tau or neurofilament light-Which is the more suitable biomarker for Huntington's disease? *PLoS one* 2017; 12:e0172762.
4. Byrne LM, Rodrigues FB, Blennow K, et al. Neurofilament light protein in blood as a potential biomarker of neurodegeneration in Huntington's disease: a retrospective cohort analysis. *The Lancet Neurology* 2017; 16:601-9.
5. Feresiadou A, Nilsson K, Ingelsson M, et al. Measurement of sCD27 in the cerebrospinal fluid identifies patients with neuroinflammatory disease. *J Neuroimmunol* 2019; 332:31-6.
6. Niemelä V, Burman J, Blennow K, et al. Cerebrospinal fluid sCD27 levels indicate active T cell-mediated inflammation in premanifest Huntington's disease. *PLoS one* 2018; 13:e0193492.
7. Niemelä V, Landtblom AM, Nyholm D, et al. Proenkephalin Decreases in Cerebrospinal Fluid with Symptom Progression of Huntington's Disease. *Movement disorders: Official journal of the Movement Disorder Society*. 2020.