

Perinatal hjärnskada

Nya behandlingsmetoder för att skydda den omogna hjärnan

Framsteg inom neonatologin innebär att flertalet barn som föds så tidigt som vid 24 graviditetsveckor överlever men tyvärr på bekostnad av en hög risk att utveckla motoriska och kognitiva handikapp. I denna artikel av professor **Henrik Hagberg**, överläkare i fostermedicin och professor **Carina Mallard**, båda verksamma vid Sahlgrenska akademien, Göteborgs universitet, belyses denna problematik och nya möjligheter att skydda den omogna hjärnan.

Under de senaste decennierna har den perinatale dödligheten sjunkit till rekordlåga tal i Sverige men risken för cerebral pares (CP) är oförändrad. Cerebral pares är den vanligaste orsaken till svåra handikapp hos barn och drabbar 2/1 000 födda och prevalensen i samhället är 1/400. Cerebral pares innebär inte bara stort lidande för de drabbade och deras familjer utan även mycket stora kostnader för hälso- och sjukvård och samhället. År 2010 skattades kostnaden till 1 miljon dollar att ta hand om ett fall med cerebral pares vilket sannolikt är en underskattning¹.

Etiologin bakom CP är komplex och multifaktoriell där ofta flera samverkande faktorer är av betydelse. I en del fall där hjärnskadan är orsakad av till exempel svåra CNS-missbildningar eller vid genetiska sjukdomar är det i dag inte möjligt att erbjuda patienten kausal behandling. Däremot har vi under de senaste tio åren varit med om att utveckla effektiv hjärnskyddande behandling för fullgångna nyfödda barn som utvecklat hypoxisk ischemisk encefalopati (HIE) efter svår asfyxi (kombination av syrebrist och nedsatt blodförsörjning) och vi är hoppfulla att forskning kommer att leda till att neuroprotektion är möjlig även vid extrem förtidsbörd.

SKADEUTVECKLING MED FÖRSENING


HIE efter svår asfyxi under förlossningen utgör alltså ett problem i såväl utvecklingsländer som i västvärlden med en

frekvens på 1–3/1 000. Asfyxi (med påföljande cerebral hypoxi-ischemi (HI) orsakar ungefär en fjärdedel av CP hos fullgångna barn enligt västsvenska studier². Enligt nyligen publicerade imagingstudier har majoriteten nyfödda med encefalopati tecken på hjärnskada under utveckling i grå och vit substans, vilket talar för en akut process under/efter förlossningen åtkomlig för intervention.

Detta antagande stöds av experimentella studier där skadeutvecklingen inte sker under asfyxin utan med en förse- ning. Randomiserade studier utförda under de senaste åren visar att kylbehandling av nyfödda barn med HIE asfyxi signifikant minskar hjärnskadorna och ökar antalet överlevande barn utan neurologiska handikapp³. Även om kylbehandling bara räddar ett barn av åtta från att utveckla CP så är detta ett stort genombrott och starkt stöd för att hjärnprotektion efter asfyxi är en klinisk realitet.

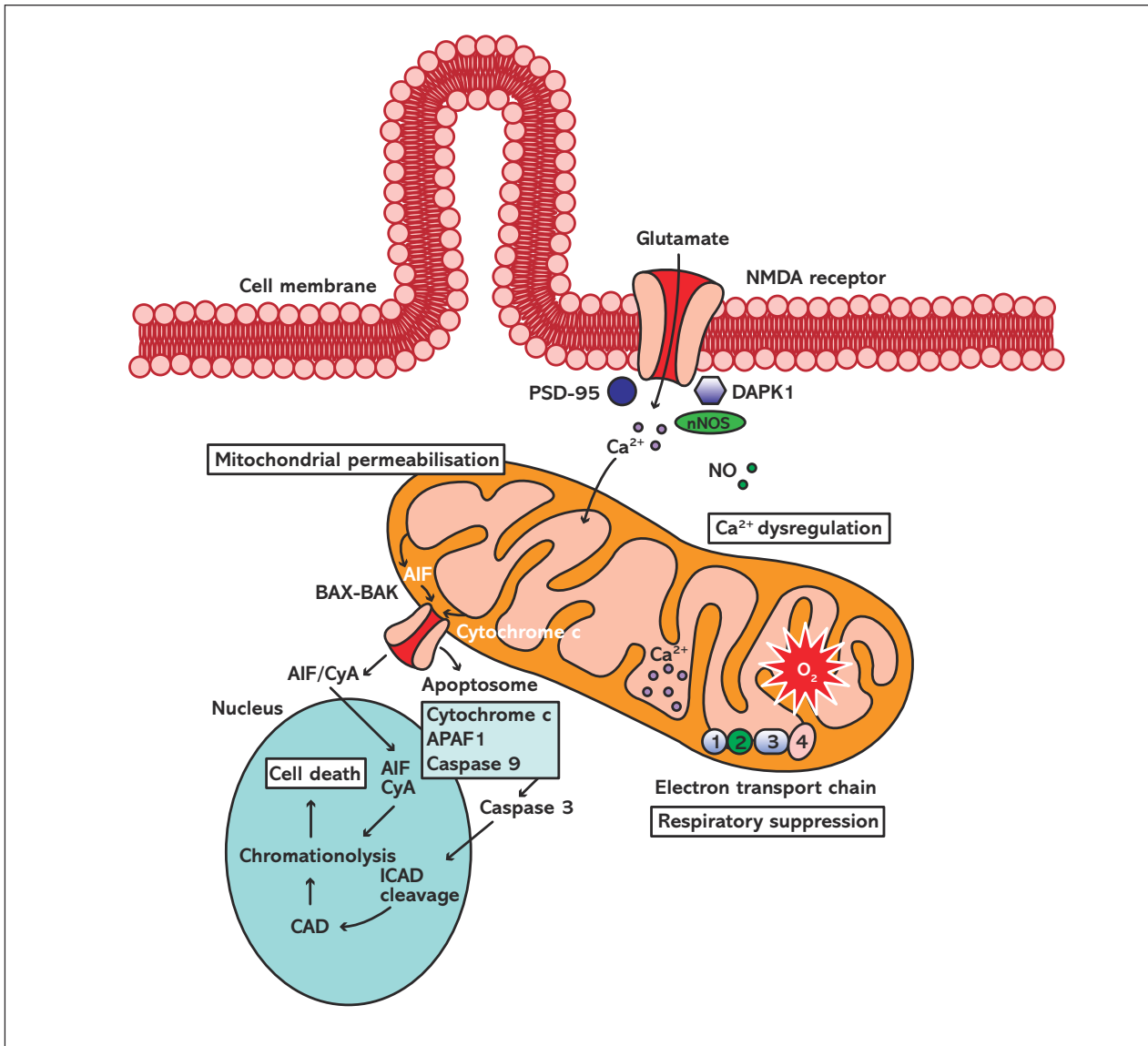
HJÄRNSKADA HOS FÖR TIDIGT FÖDDA

Incidensen för förtidsbörd ökar i hela västvärlden och varierar mellan 5 procent och 12 procent i olika länder. Risken för CP ökar vid förtidsbörd och vid födsel tidigare än 28 graviditetsveckor är risken 80 gånger högre att utveckla CP jämfört med förlossning i fullgången tid. Trots att förtidsbördsfrekvensen är 5–6 procent i Sverige står denna grupp för 40 procent av alla fall med CP. Dessutom utvecklar barn som föds extremt för tidigt av kognitiva och neuropsykiatriska



"Neuroinflammation spelar en central roll i de skador som uppstår i den omogna hjärnan oberoende av den initiala utlösande orsaken."

MITOKONDRIEN HAR EN CENTRAL ROLL VID PERINATAL CELLSKADA



Figur 1. Höga glutamathalter extracellulärt under den tidiga reperfusionen efter hypoxi-ischemi (HI) aktiverar extrasynaptiska NMDA-receptorer vilket leder till intracellulär ackumulering av Ca^{2+} och kväveoxid (NO). Under dessa förhållanden kommer mitokondrien att ackumulera Ca^{2+} och producera stora mängder reaktiva syreradikaler (ROS) vilket stör dess Ca^{2+} -reglerande och respiratoriska kapacitet. I denna situation är mitokondrien känslig för en ökad kvot av pro-/antiapoptotiska BCL2-proteiner och kaspas-2-aktivering, vilket kan leda till öppning av en BAX/BAK-por och mitokondriell permeabilisering med frisättning av cytochrom C och AIF som i sin tur orsakar kaspasaktivering, DNA-degradation och celldöd. Förkortningar: PSD-95 = postsynaptiskt "density" protein 95; nNOS = neuronalt NO-syntas; NO = kväveoxid; AIF = "apoptosis-inducing factor"; CyA = cyclophilin A; CAD = caspase-activated DNase; ICAD = inhibitor of CAD; APAF1 = "apoptotic peptidase activating factor 1".

problem i långt högre utsträckning jämfört med barn som föds efter 37 gestationsveckor.

Orsaken till denna höga handikappsfrekvens är skador i framförallt vit substans (periventrikulär leukomalaci) och subnormal utveckling och tillväxt av neuron och oligodendroglia i såväl vit som grå substans. Det finns ännu inte någon klinisk dokumenterad behandling för barn som föds för tidigt men flera studier pågår.

Vi och andra visade för 25 år sedan att hjärnskyddande behandling efter asfyxi var effektivt i djurförsök⁴ och i dag utgör hjärnskyddande behandling en kliniskt accepterad behandling efter svår förlösningsasfyxi.

Vår målsättning är nu att utveckla nästa generation av hjärnskyddande terapi. I samarbete med King's College i London har vi utvecklat ett forskningsnätverk där vi tillsammans skapat en translationell "pipeline" där framsteg inom

experimentell forskning omsätts i kliniska studier. En sådan utveckling kräver dock en fördjupad förståelse rörande hjärn-skademekanismer, liksom prekliniska studier och ”proof-of-concept”-studier i stordjursmodeller. Här nedan följer en uppdatering av hjärn-skademekanismer som är viktiga i den omogna hjärnan.

TERAPEUTISKT FÖNSTER

Skadan utvecklas med en viss försening (sekundär hjärnskada) efter HI vilket skapar ett terapeutiskt fönster efter perioden med hypoxi-ischemi varierande från några timmar till åtminstone ett dygn. Många interventioner är effektiva i detta terapeutiska intervall i djurmodeller. Mekanismerna bakom sekundär hjärnskada inkluderar glutamataktivering av glutamatreceptorer på neuron och oligodendrogliala prekursorer (OPCs), vilket resulterar i ökat intracellulärt Ca^{2+} och ackumulering av fria radikaler inklusive kväveoxid.

Mikroglia (hjärnans makrofager) producerar fria radikaler, glutamatagonister och proinflammatoriska cytokiner/chemokiner som bidrar i utveckling av cellskadan. Det är viktigt att poängtera att skademekanismerna i den omogna hjärnan skiljer sig från den vuxna hjärnan, som exempelvis:

- Vissa glutamatreceptorer (NMDA) är mer toxiska i mogen hjärna.
- Apoptotiska (programmerad celledöd) mekanismer inklusive aktivering av kaspaser, translokation av apoptosis-inducing factor (AIF) och frisättning av cytokrom C (cyt C) är mer framträdande i den omogna hjärnan (se nedan).
- Det inflammatoriska svaret är annorlunda med mindre infiltration av polymorfonukleära celler och vissa cytokiner som IL-18 spelar en större roll medan interleukin (IL)-1a/b har en mindre roll i hjärnan under utveckling.
- Den immatura vita substansen är känslig åtminstone delvis relaterat till metabolt aktiva och sårbara oligodendroglia prekursorer.

Av dessa skäl kan inte data från den vuxna hjärnan alltid extrapoleras till den omogna eller vice versa.

MITOKONDRIELL DYSFUNKTION

Mitokondrierna är cellens kraftverk och de står för den huvudsakliga produktionen av ATP och har dessutom en viktig kalciumreglerande funktion. Samtidigt är mitokondrierna sårbara och har visat sig ha en viktig roll i cellskadeprocesser i den omogna hjärnan. Omedelbart efter HI aktiveras glutamatreceptorer och spänningsberoende jonkanaler vilket leder till inflöde av kalcium i cellvattnet och i mitokondrierna (figur 1)⁵.

Samtidigt ackumuleras toxiska fria syreradikaler och kväveoxid. Denna förändrade cellmiljö utsätter mitokondrierna för stress och minskar deras förmåga att bilda ATP och reglera cellens kalciumhalt. De cellulära påfrestningarna kommer även att förändra proteiner som p53, c-jun N-terminalt kinas (JNK) och kaspas-2 vilka ökar kvoten pro-/antiapopto-

tiska Bcl-2-proteiner vilket inducerar Bax/Bak-beroende mitokondriell permeabilisering med utläckage av cytokrom C och apoptosis-inducing factor, vilka aktiverar kaspaser, DNA-degradation och celledöd.

Vi har visat att blockering av mitokondriell permeabilisering är en effektiv neuroprotektiv strategi i den omogna hjärnan, och den mest lovande behandlingen är en kaspas-2-hämmare som förstärker kylbehandlingsens skyddseffekt.

”Vi har visat att blockering av mitokondriell permeabilisering är en effektiv neuroprotektiv strategi i den omogna hjärnan.”

INFLAMMATION BIDRAR TILL SKADOR

För mer än 35 år sedan presenterades de första bevisen för att inflammation är en viktig bidragande faktor till skador i den omogna hjärnan. Man fann att barn som dog med vit substansskada oftare hade haft bakteriella infektioner. Det har senare visat sig att hjärnans mikroglia-celler aktiveras i ett tidigt skede vid vit substansskada och man finner ökat uttryck av proinflammatoriska cytokiner som TNF- α och, i mindre utsträckning, IL-1 β , hos dessa barn⁶.

Experimentella studier har visat att både cerebral HI och systemisk exponering för endotoxiner stimulerar mikroglia i den omogna hjärnan^{7,8}. Det finns också bevis för att perifera inflammatoriska celler infiltrerar den omogna hjärnan vid fosterasfyxi. Således spelar neuroinflammation en central roll i de skador som uppstår i den omogna hjärnan oberoende av den initiala utlösande orsaken.

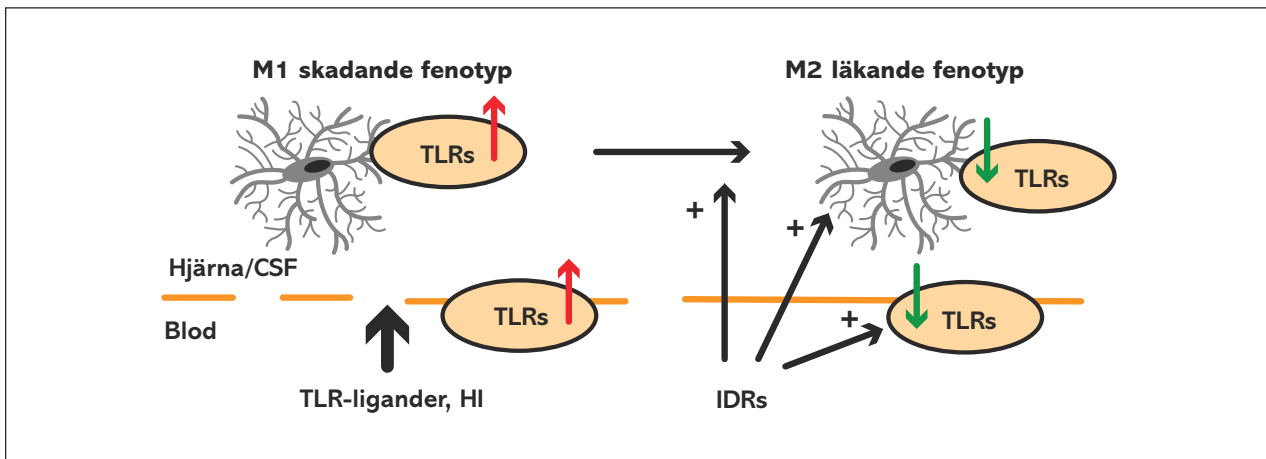
Ikke desto mindre är det viktigt att också poängtera att inflammation kan bidra till läkning och vissa typer av mikroglia-celler har en viktig reparationsfunktion efter skada. Detta stödjer vikten av att förstå rollen av inflammatoriska processer vid olika tidpunkter efter skadan och är förenlig med den mycket varierande effekt generella antiinflammatoriska läkemedel har som neuroprotektiv behandling.

Bredspektrumantibiotika har till exempel gett mycket varierande resultat i olika experimentella djurmodeller. På ett liknande sätt har inhibering av transkriptionsfaktorn NF- κ B, en central mekanism i aktivering av proinflammatoriska cytokiner, visat sig ha negativa effekter under vissa förhållanden.

IDRS VISAR GOD BEHANDLINGSFÖRMÅGA

Vi har nyligen funnit att en ny grupp av substanser, så kallade ”innate defence regulator peptides” (IDRs) visar god behandlingsförmåga hos nyfödda möss med hjärnskada⁹. IDRs är regulatoriska peptider som verkar på det medfödda immunförsvaret genom att selektivt undertrycka proinflammatoriska mekanismer samtidigt som de ökar skyd-

FÖRESLAGEN BEHANDLINGSEFFEKT AV IDR



Figur 2. Proinflammatoriska stimuli i blodet, till exempel endotoxiner som aktiverar "toll-like receptors" (TLRs) eller hypoxi-ischemimimerade (HI) substanser påverkar hjärnan genom att aktivera eller orsaka läckage i blodhjärnbarriären eller i plexus choroideus. Detta leder till en ökad proinflammatorisk inflammation (M1) i hjärnan som kan vara skadande. Genom att behandla med IDR föreslår vi att både den systemiska och centrala inflammationen modifieras och främjar en läkande typ (M2) av inflammation i hjärnan.

dande immunitet¹⁰ (figur 2). Vi fann att behandling med IDR-1018 är effektiv mot både grå och vit substansskada, även när peptiden ges tre timmar efter den initiala expositionen för hypoxi-ischemi.

IDR-1018 hade välgörande effekter genom att minska uttrycket av proinflammatoriska och celldödande gener medan behandlingen främjade neuroprotektiva mekanismer. Dessutom orsakade IDR-1018, i frånvaro av inflammation eller hjärnskada, minimala förändringar i hjärnans genuttryck. Sålunda, till skillnad från andra antiinflammatoriska medel, medför IDR-1018 behandling inte ospecifika effekter på immunitet.

Resultaten tyder därför på att IDR-1018 har liten effekt på friska hjärnor. Detta är viktigt eftersom det i en klinisk situation kan vara svårt att identifiera de barn som kommer att utveckla hjärnskada och det är troligt att även vissa barn som annars hade utvecklats normalt kommer att få behandling.

SAMMANFATTNING

Sammanfattningsvis är perinatal hjärnskada med utveckling av CP och andra neurologiska handikapp ett av de största perinatalmedicinska problemen. Viktiga framsteg har gjorts genom att vi nu förstår att skadorna utvecklas med viss försening och att hjärnskadan efter svår förlossningsasfyxi kan begränsas med kylbehandling. Vi kan dock inte rädda alla barn och är i stort behov av att utveckla effektivare behandlingsstrategier. En ytterligare utmaning är att utveckla effektiv prevention eller behandling av hjärnskada vid extrem prematuritet.

REFERENSER

1. Check-Hayden E. The most vulnerable brains. *Nature* 463:154-6, 2010
2. Himmelmann et al. *Acta Paediatr.* 99:1337,2010

3. Edwards AD et al. *BMJ.* 340:c363,2010

4. Andiné P et al. *Neurosci Lett.* 90:208,1988

5. Hagberg H et al. *Lancet Neurol.* 13: 217 - 232, 2014

6. Kadhim H et al. *Neurology* 56:1278-84, 2001

7. Bona E et al. *Pediatr Res.* 45(4 Pt 1):500-9,1999

8. Dean JM et al. *Ann Neurol.* 70:846-56,2011

9. Bolouri H et al. *Ann Neurol.* 2013 Dec 13. doi: 10.1002/ana.24087.

10. Scott MG et al. *Nature biotech* 25:465-72,2007



HENRIK HAGBERG

professor, Perinatalmedicinskt Centrum, Institutionen för kliniska vetenskaper, Sahlgrenska akademin, Göteborg
henrik.hagberg@obgyn.gu.se



CARINA MALLARD

professor, Perinatalmedicinskt Centrum, Institutionen för fysiologi och neurovetenskap, Sahlgrenska akademin, Göteborg
carina.mallard@neuro.gu.se