

Under de senaste åren har stora framsteg gjorts avseende högkänsliga mätmetoder för proteinkvantifiering i kroppsvätskor. Två nyckelmarkörer för nervcellsskada kan nu mätas i vanliga blodprover. **Henrik Zetterberg**, professor i neurokemi, Göteborgs universitet och University College London, samt klinisk kemist vid Sahlgrenska Universitetssjukhuset, berättar här om nya resultat som indikerar att vanlig generell anestesi kan leda till nervcellspåverkan eller till och med nervcellsskada.

**Neurofilament och tau är** strukturella proteiner i nervcellskott. Det finns tre olika former av neurofilament som brukar kallas light (NFL), medium (NFM) och heavy (NFH), beroende på hur de vandrar i polyakrylamidgeler. Tau kodas av en gen, men alternativ mRNA-splitsning ger 6 olika isoformer och det finns även en hel del fragment och på andra sätt modifierade former av

tensitet. Höga koncentrationer talar för snabb progress, låga talar för ett mindre aggressivt sjukdomsförlopp. Det finns även intressanta skillnader i hur dessa proteiner uttrycks i hjärnvävnad. Grovkalibriga axoner förefaller särskilt rika på NFL medan tunna, icke-myelinerade axoner (de man typiskt ser i grå substans) innehåller mycket tau.

#### MYCKET KÄNSLIG MÄTMETOD

De senaste 5 åren har vi arbetat intensivt med en teknik som kallas Single molecule array (Simoa) på vårt laboratorium. Grundprincipen liknar ELISA; man har en capture-antikropp som fångar in analyten och en detektionsantikropp som binder till en annan del av analyten och är märkt med något som går att mäta. I Simoa används beta-galaktosi-

# Blodmarkörer för hjärnskada

proteinet. Med hjälp av vanlig enzymelinked immunosorbent assay (ELISA) har vi sedan många år kunnat mäta NFL och total tau (alla tau-isoformer) i ryggvätska. Höga koncentrationer talar för att nervcellskott faller sönder. Vid akut nervcellsskada får man en snabb ökning av koncentrationerna (inom några dagar) i ryggvätska och sedan normaliseras de över veckor (tau) till några månader (neurofilament). Vid neurodegenerativa tillstånd är markörerna ökade och indikerar sjukdomsin-

*”Vid neurodegenerativa tillstånd är markörerna ökade och indikerar sjukdomsintensitet.”*

das som omvandlar ett substrat till en fluorescerande produkt som kan mätas. Tricket med Simoa är att capture-antikroppen är konjugerad till små magnetiska kulor. Efter inkubering av tre komponenter (capture-antikroppskonjugerade kulor, själva provet och detektionsantikropp med enzym) drar en magnet ner kulorna i mikrobrunnar (rastret av mikrobrunnar ser ut lite som ett kinesiskt schackbräde i miniatyr). En mikrobrunn har en volym på 50 femtoliter vilket är endast lite större än voly-



## *påvisar nervcellspåverkan vid kirurgi och anestesi*

men av en kula. Efter tillsats av substratet för enzymet sluts mikrobrunnarna med en oljefilm, varefter man filmar hur individuella brunnar börjar lysa om antigen med detektionsantikropp och enzym finns närvarande. Analyten kan mätas både digitalt (man räknar brunn-

nar med lysande kulor dividerat med det totala antalet brunnar med kulor, både lysande och icke-lysande) men även analogt (hur mycket en individuell brunn lyser). På så vis kan man få en signal som kan översättas till ett "average enzyme per bead"-nummer. Uppläg-

get med den i mikrobrunnar "kompartmentaliserade" detektionsreaktionen gör alltså att man kan räkna individuella molekyler, vilket gör metoden mycket känslig.

## ANVÄNDBARA BIOMARKÖRER

Vi har under de senaste åren fört över våra vanliga metoder för NFL och tau (ELISA) till Simoa och på så vis lyckats få metoderna 100–1000 gånger känsligare.<sup>1</sup> Detta har möjliggjort att vi nu kan mäta både NFL och tau i vanliga blodprover. Vi har kunnat visa att hypoxisk hjärnskada efter hjärtstopp leder till en massiv ökning av tau i blodbanan under dygnet omedelbart efter hjärtstopp; graden av tau-ökning korrelerar med klinisk outcome.<sup>2,3</sup> Vid svår traumatisk hjärnskada får man en NFL-stegring i blodet, som når sitt maximum efter några veckor och normaliseras inom några månader.<sup>4</sup> Även här finns en korrelation till outcome. Vid lättare hjärnskada, såsom hjärnskakning, ser man också övergående öknings av tau och NFL i blodbanan.<sup>5</sup> I samtliga våra studier verkar tau vara den snabba markören som stiger inom timmar och snabbt tas bort från blodbanan (halveringstiden är cirka 10 timmar), medan NFL verkar vara långsammare (dess koncentration stiger under veckor och normaliseras inom månader). Vid Alzheimers sjukdom är tau-koncentrationen lätt förhöjd i plasma, men med ett ganska stort överlapp gentemot kontroller.<sup>6,7</sup> Vid Creutzfeldt-Jakobs sjukdom fungerar dock tau i plasma väl som biomarkör.<sup>8,9</sup> För Alzheimers sjukdom verkar NFL i blod vara en lovande markör; vid den svåra ärftliga formen ökar NFL-koncentrationen i blod flerfaldigt under en 10 års-period innan förväntat kliniskt insjuknande<sup>10</sup> och liknande förändringar (om än inte lika tydliga) ses vid den vanliga, sporadiska formen av sjukdomen.<sup>11</sup> Vid övriga neurodegenerativa sjukdomar, såsom pannlobsdemens och atypiska parkinsonliknande sjukdomar är NFL-koncentrationen i blod förhöjd och korrelerar med neurodegenerativa förändringar vid magnetkameraundersökning.<sup>12,13</sup> Vid multipel skleros är NFL-koncentrationen i blod förhöjd vid skov och normaliseras efter insättandet av effektiv behandling.<sup>14,15</sup>

## NERVCELLSSKADA I SAMBAND

### MED ANESTESI

Att vi nu har tillförlitliga och dynamiska blodtester för nervcellsskada har öppnat upp för många spännande stu-

*”I samtliga våra studier verkar tau vara den snabba markören som stiger inom timmar och snabbt tas bort från blodbanan (halveringstiden är cirka 10 timmar), medan NFL verkar vara långsammare (dess koncentration stiger under veckor och normaliseras inom månader).”*

dier som förut inte har varit möjliga. Ett fält av betydande klinisk relevans är hjärnpåverkan i samband med kirurgi och anestesi. Delirium och/eller kognitiv funktionsnedsättning efter kirurgi är ett välkänt problem, men exakt vad det beror på är okänt. Kan det vara så att anestesi påverkar nervcellerna på ett ogynnsamt sätt? Detta har vi med hjälp av markörerna ovan undersökt i samarbete med ett australiensiskt forskarlag.<sup>16</sup> Trettio patienter (60 år och äldre) som skulle genomgå kirurgi (ortopedisk kirurgi i 23 fall, hjärtkirurgi i 6 fall och matstrupskirurgi i ett fall) inkluderades i en studie där plasmaprover togs innan anestesi inleddes (generell anestesi med propofolinduktion och därefter inhalationsanestesi eller fortsatt propofolinfusion, ibland kompletterat med fentanyl) och därefter 30 minuter, 6 timmar, 24 timmar och 48 timmar efter avslutad kirurgi. Både tau och NFL ökade i plasma efter kirurgin och ökningarna var inte oväsentliga: 67 procent (95% konfidensintervall 45% till 89%) för NFL och så mycket som 257 procent (95% konfidensintervall 154% till 361%) för tau. Detta är mycket mer än vad man ser efter hjärnskakning, men mindre än vad vi såg efter hjärtstopp. Studien var för liten för att undersöka vilken klinisk betydelse detta hade och det gick inte att avgöra exakt vad som orsakade ökningarna (anestesi, vilket kan tyckas mest sannolikt, eller något annat relaterat till kirurgin), men det är svårt att tolka fynden på något annat sätt än att nervcellerna påverkades ogynnsamt av proceduren.

Mer forskning behövs men under 2018 siktar vi på att ha plasma-NFL-metoden uppsatt i klinisk laboratorierutin.

## REFERENSER:

1. Andreasson U, Blennow K, Zetterberg H. Update on ultrasensitive technologies to facilitate research on blood biomarkers for central nervous system disorders. *Alzheimers Dement (Amst)* 2016; 3:98-102.
2. Randall J, Mortberg E, Provuncher GK, Fournier DR, Duffy DC, Rubertsson S, Blennow K, Zetterberg H, Wilson DH. Tau proteins in serum predict neurological outcome after hypoxic brain injury from cardiac arrest: results of a pilot study. *Resuscitation* 2013; 84(3):351-356.
3. Mattsson N, Zetterberg H, Nielsen N, Blennow K, Dankiewicz J, Friberg H, Lilja G, Insel PS, Rylander C, Stammet P, et al. Serum tau and neurological outcome in cardiac arrest. *Ann Neurol* 2017; 82(5):665-675.
4. Shahim P, Gren M, Liman V, Andreasson U, Norgren N, Tegner Y, Mattsson N, Andreassen N, Ost M, Zetterberg H, et al. Serum neurofilament light protein predicts clinical outcome in traumatic brain injury. *Sci Rep* 2016; 6:36791.
5. Shahim P, Tegner Y, Wilson DH, Randall J, Skillback T, Pazooki D, Kallberg B, Blennow K, Zetterberg H. Blood biomarkers for brain injury in concussed professional ice hockey players. *JAMA Neurol* 2014; 71(6):684-92.
6. Zetterberg H, Wilson D, Andreasson U, Minthon L, Blennow K, Randall J, Hansson O. Plasma tau levels in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* 2013; 5(2):9.
7. Mattsson N, Zetterberg H, Janelidze S, Insel PS, Andreasson U, Stomrud E, Palmqvist S, Baker D, Tan Hehir CA, Jeromin A, et al. Plasma tau in Alzheimer disease. *Neurology* 2016; 87(17):1827-1835.
8. Kovacs GG, Andreasson U, Liman V, Regelsberger G, Lutz MI, Danics K, Keller E, Zetterberg H, Blennow K. Plasma and cerebrospinal fluid tau and neurofilament concentrations in rapidly progressive neurological syndromes: a neuropathology-based cohort. *Eur J Neurol* 2017; 24(11):1326-e1377.

9. Thompson AGB, Luk C, Heslegrave AJ, Zetterberg H, Mead SH, Collinge J, Jackson GS. Neurofilament light chain and tau concentrations are markedly increased in the serum of patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease, and tau correlates with rate of disease progression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2018; pii: jnnp-2017-317793. doi: 10.1136/jnnp-2017-317793. [Epub ahead of print].

10. Weston PSJ, Poole T, Ryan NS, Nair A, Liang Y, Macpherson K, Drueyeh R, Malone IB, Ahsan RL, Pemberton H, et al. Serum neurofilament light in familial Alzheimer disease: A marker of early neurodegeneration. *Neurology* 2017; 89(21):2167-2175.

11. Mattsson N, Andreasson U, Zetterberg H, Blennow K, Alzheimer's Disease Neuroimaging I. Association of Plasma Neurofilament Light With Neurodegeneration in Patients With Alzheimer Disease. *JAMA Neurol* 2017; 74(5):557-566.

12. Rohrer JD, Woollacott IO, Dick KM, Brotherhood E, Gordon E, Fellows A, Toombs J, Drueyeh R, Cardoso MJ, Ourselin S, et al. Serum neurofilament light chain protein is a measure of disease intensity in frontotemporal dementia. *Neurology* 2016; 87(13):1329-1336.

13. Rojas JC, Karydas A, Bang J, Tsai RM, Blennow K, Liman V, Kramer JH, Rosen H, Miller BL, Zetterberg H, et al. Plasma neurofilament light chain predicts progression in progressive supranuclear palsy. *Ann Clin Transl Neurol* 2016; 3(3):216-225.

14. Disanto G, Barro C, Benkert P, Naegelin Y, Schadelin S, Giardiello A, Zecca C, Blennow K, Zetterberg H, Leppert D, et al. Serum neurofilament light: a biomarker of neuronal damage in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2017; 81(6):857-870.

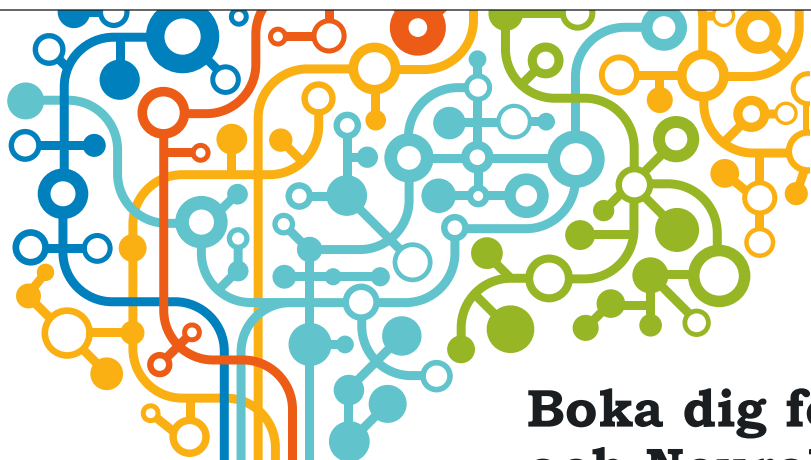
15. Novakova L, Zetterberg H, Sundstrom P, Axelsson M, Khademi M, Gunnarsson M, Malmestrom C, Svenningsson A, Olsson T, Piehl F, et al. Monitoring disease activity in multiple sclerosis using serum neurofilament light protein. *Neurology* 2017; 89(22):2230-2237.

16. Evered L, Silbert B, Scott DA, Zetterberg H, Blennow K. Association of changes in plasma neurofilament light and tau levels with anesthesia and surgery: results from the CAPACITY and ARCADIAN studies. *JAMA Neurol* 2018, in press.



**HENRIK ZETTERBERG**

Professor neurokemi, Sahlgrenska Akademin och University College London, överläkare klinisk kemi, Sahlgrenska Universitetssjukhuset  
henrik.zetterberg@clinchem.gu.se



**NYHETS  
BREV  
BLÄDDERBAR  
PDF**

## Boka dig för vårt nyhetsbrev och Neurologi i Sverige som blädderbar PDF

Vi skickar sedan flera år tillbaka ett nyhetsbrev där vi länkar de nyheter vi lagt ut på [www.neurologiisverige.se](http://www.neurologiisverige.se) under veckan som gått. Det blir med andra ord en bra sammanfattning av nyhetsflödet inom ert område. Om du vill hålla dig uppdaterad gå du in på webbsidan och anmäl dig i det formulär du hittar under en stor knapp som det står prenumerera på i högerspalten på förstasidan. Där kan du också klicka för om du vill ha tidningen som blädderbar PDF. Om du hellre skickar ett mail med uppgifterna till [redaktionen@pharma-industry.se](mailto:redaktionen@pharma-industry.se) går det lika bra.



Pharma Industry Publishing AB  
Tyra Lundgrens väg 6, 134 40 Gustavsberg  
telefon +46 8 570 10 520  
e-mail: [redaktionen@pharma-industry.se](mailto:redaktionen@pharma-industry.se)  
Hemsida: [www.pharma-industry.se](http://www.pharma-industry.se)