



Analys av biomarkörer *prognos vid ALS*

ALS är ett neurodegenerativt syndrom som innefattar nervcellsöd i hjärnan och ryggmärg vilket resulterar i förlust av viljestyrda rörelser i armar, ben och i huvud- och halsregionen. Intensiv satsning har gjorts för att hitta kliniskt användbara biomarkörer i ryggmärgsvätska och moderna metoder har möjliggjort tillförlitlig analys av biomarkörer som förekommer i förhållandevis låga koncentrationer i blodet. Detta har öppnat upp nya möjligheter till att utforska biomarkörer i blodprover från patienter och i insamlade prover från biobanker. I denna artikel av **Arvin Behzadi**, doktorand vid Umeå universitet, får du veta mer.



i blodet för diagnos och

NEUROFILAMENT VID OLIKA FENOTYPER OCH GENOTYPER AV ALS

Neurofilament utgör nervcellernas intermediärfilament och består av heteropolymerer i form av neurofilament light chain (NFL), neurofilament medium chain och fosforylerad neurofilament heavy chain (pNFH), samt α -internexin i de övre motorneuronen och peripherin i de nedre motorneuronen där neurofilamenten bidrar till nervcellernas stabilitet och flexibla struktur.^{1,2} Även om neurofilament är en ospecifik skademarkör för nervceller så har vi kunnat visa att NFL och pNFH

förekommer i så höga koncentrationer hos patienter med ALS att denna egenskap i sig ger hög area under kurvan (AUC), sensitivitet och specificitet samt hög *positiv* sannolikhet och låg *negativ* sannolikhet för att urskilja patienter med ALS från patienter som har andra neurologiska sjukdomar som kan likna ALS.³ Dessutom har vi kunnat visa en hög negativ korrelation mellan dessa biomarkörer och överlevnad vid ALS³ där man även med måttligt hög AUC kan urskilja ALS-patienter med kort respektive lång överlevnad räknat från patientens debut av pares.³ NFL i *ryggmärgsvätska* upp-

mätt genom ELISA och NFL i plasma uppmätt genom single-molecule array (SIMOA) har visats ha hög korrelation till varandra för patienter med ALS³ vilket är en förutsättning för att man ska kunna använda NFL i blodprov vid longitudinell uppföljning av patienter. Höga värden av NFL och pNFH är förknippat med sämre överlevnad vid ALS.³ I vår studie har vi också kunnat kartlägga uppmätta skillnader av NFL i plasma mellan olika typer av ALS, där patienter med bulbär ALS har visat sig ha högre värden av plasma-NFL och sämre överlevnad jämfört med spinal ALS.³ Vidare har vi kunnat visa att patienter med hexanucleotide repeat expansion i chromosome 9 open reading frame 72-genen (*C9orf72HRE*) har högre värden av plasma-NFL och sämre överlevnad jämfört med patienter med mutation i superoxide dismutase 1-genen (*SOD1*).³ Vid analys på subgruppsnivå har vi även kunnat visa att ALS-patienter som är homozygot eller heterozygot anlagsbärare av mutationer i *SOD1* D90A har lägre plasma-NFL jämfört med ALS-patienter med andra *SOD1*-mutationer som inkluderats i studien.³



Fördröjning med bara några enstaka månader kan möjligtvis vara till nackdel för studier där man vill kartlägga skillnader i terapeutisk effekt, med tanke på den relativt korta överlevnaden för flertalet patienter med ALS.

NFL, som utgör ett mått på nervskada, har visat sig stiga innan patienter får symtom förknippade med ALS och har även relativt stabila värden under ALS-patientens sjukdomsförlopp efter symtomdebut.⁴ Detta fenomen ger NFL en särskild egenskap att man vid ett provtagningstillfälle efter att patienten fått debut av pares kan göra en uppskattning av ALS-patientens prognos räknat från symtomdebut där vi kunnat visa högre korrelation mellan plasma-NFL och överlevnad från symtomdebut, jämfört med den kliniska skattningsskalan ALS functional rating scale revised (ALSFRS-R) som har lägre korrelation till ALS-patientens överlevnad från symtomdebut när den är gjord i nära anslutning till provtagningstillfället för plasma-NFL.³ Även om ALSFRS-R progression rate (Δ FS) som mäter en funktionsförlust över en viss tid har i vår studie visat sig ha högre korrelation till patientens överlevnad från symtomdebut jämfört med plasma-NFL och ALSFRS-R,³ har Δ FS nackdelen att man behöver uppskatta patientens ALSFRS-R vid två tillfällen. Detta kan komma att ge en fördröjd estimering av prognos och inkludering till kliniska studier om man använder sig av Δ FS, då risken finns att man förlorar dyrbar tid vid inväntandet av det andra tillfället för klinisk bedömning av sjuk-

domens förväntade prognos. Detta till skillnad från användningen av plasma-NFL och andra kliniska parametrar som genomförs vid ett provtagningstillfälle tidigt i sjukdomsförloppet. Fördröjning med bara några enstaka månader kan möjligtvis vara till nackdel för studier där man vill kartlägga skillnader i terapeutisk effekt, med tanke på den relativt korta överlevnaden för flertalet patienter med ALS.

ALS-patienter med frontotemporal demens eller patienter som enbart debuterat med frontotemporal demens innan debut av pares utgör en särskild grupp av patienter, där den kliniska skattningsskalan Edinburgh Cognitive and Behavioural ALS Screen (ECAS) har fått en betydande roll vid bedömning av ALS-patienters kognitiva funktioner.⁵ Precis som plasma-NFL, som har en negativ korrelation till ALSFRS-R och en positiv korrelation till Δ FS,³ skulle det finnas fördelar med att finna biomarkörer associerade till psykiatriska symtom såsom affektabilitet och biomarkörer förknippade med förlust av kognitiva funktioner såsom försämrat icke-verbalt minne och som går att mäta i blodprov samt korreleras till ECAS. Man har i en tidigare studie kunnat visa att patienter med frontotemporal demens-beteendevariant har högre NFL i blodprov jämfört med patienter med schizofreni, bipolär sjukdom, depression samt kontroller med förhållandevis höga AUC för serum-NFL vid jämförelse mellan frontotemporal demens-beteendevariant och samtliga av dessa grupper.⁶ Denna företeelse skulle kunna öppna upp möjligheten för läkare inom psykiatri att i framtiden ta blodprov för att mäta NFL för att öka den differentialdiagnostiska träffsäkerheten och remittera dessa patienter till neurologmottagning i ett tidigare skede vid misstanke om frontotemporal demens.

ANDRA BIOMARKÖRER

Vi har kunnat visa högre koncentration av plasma-NFL hos patienter med ALS jämfört med patienter med andra motorneuronsjukdomar där vi inkluderat patienter med spinobulbär muskelatrofi, primär lateralskleros och progressiv spinal muskelatrofi i denna patientgrupp och där gruppen med andra motorneuronsjukdomar i sin tur också visat sig ha högre värden av plasma-NFL än patienter med andra neurologiska sjukdomar som ingått i studien.³ Plasma-NFL kan i praktiken komma att vara svårt att använda i ett kliniskt sammanhang för att urskilja ALS från andra motorneuronsjukdomar tidigt i sjukdomsförloppet. Trots att ALS, primär lateralskleros och progressiv spinal muskelatrofi ur en patofysiologisk synpunkt har stora likheter, kan överlevnaden skilja sig påtagligt,^{7,8} vilket kan vara av stor vikt när man vill utföra kliniska studier och följa upp parametrar som är korrelerade till överlevnad. Det är därför av värde att kunna selektera patienter med korrekt ALS-diagnos vid provtagningstillfället och kunna urskilja ALS-patienter där man kan förvänta sig kort respektive lång överlevnad inför inkludering till kliniska studier. α -internexin och peripherin skulle tillsammans med NFL eller pNFH potentiellt kunna komma att ha en roll vid framtida bedömningar av patienter där man kan komma att få ett mer specifikt mått på övre och nedre motorneuronskada jämfört med NFL och pNFH. Att finna patofysiologiskt helt unika biomarkörer för olika mo-

torneuronsjukdomar efter patientens debut av pares kan vara svårt med tanke på att så många olika proteiner läcker ut från nervceller vid nervcellsdöd. Det kan komma att finnas möjligheter att kombinera olika biomarkörer inom en biomarkörpanel för ALS för att bättre karaktärisera dessa patienter utifrån biomarkörprofil, utöver att beakta klinisk fenotyp och genetisk mutation, vid bedömning av patienter och för eventuell inkludering till kliniska studier, samt för att urskilja dessa patienter från andra neurologiska sjukdomar som kan likna ALS. Tre exempel på andra biomarkörer som har väckt intresse inom ALS-forskning är ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase isozyme L1 (UCHL1), transmembrane glycoprotein non-metastatic melanoma protein B (GPNMB) och chitotriosidase 1 (CHIT1).^{9,10}



Biomarkörer som kan ge indikation på synapsdysfunktion samt dysreglering av metabolism tidigt i sjukdomsförloppet eller till och med innan symtomdebut för exempelvis kända anlagsbärare kan komma att utgöra intressanta forskningsområden inom ALS.

FRAMTIDEN FÖR BIOMARKÖRER INOM ALS OCH ANDRA NEUROLOGISKA SJUKDOMAR

Att mäta biomarkörer för nervcellsskada i blodet för kartläggning av patienternas biomarkörprofil och fenotyp kan komma att ha en betydande roll för studiedesign och vid inkludering till kliniska studier och för kvantifiering av terapeutisk effekt vid kliniska läkemedelsprövningar. Blodprov kan även möjliggöra den praktiska fördelen att uppföljning med tätare intervall blir enklare jämfört med lumbalpunktion vid longitudinella studier där det ingår flera provtagningstillfällen. Däremot kan biomarkörer som stiger vid nervcellsskada anses vara relativt sena tecken på pågående sjukdom. Biomarkörer som kan ge indikation på synapsdysfunktion samt dysreglering av metabolism tidigt i sjukdomsförloppet eller till och med innan symtomdebut för exempelvis kända anlagsbärare kan komma att utgöra intressanta forskningsområden inom ALS. Detta bör utforskas som ett komplement till analys av ovannämnda biomarkörer. Plasma-NFL skulle möjligtvis kunna introduceras inom primärvården där nivåer över ett visst gränsvärde skulle kunna utgöra en viktig hörnpelare och även skulle kunna vara föremål för utveckling av framtida standardiserade vårdförlopp för motorneuronsjukdomar och andra neurologiska sjukdomar. Sammantaget kan känsliga analysmetoder som kan mäta koncentrationer av biomarkörer på ett tillförlitligt sätt i blo-

det och blodprover i biobanker underlätta upptäckten av nya och i framtiden kliniskt användbara biomarkörer för neurologiska sjukdomar.

REFERENSER

1. Fuchs E & Cleveland DW. A structural scaffolding of intermediate filaments in health and disease. *Science* 1998; 279:514-519, doi:10.1126/science.279.5350.514.
2. Zhao J & Liem RKH. α -Internexin and Peripherin: Expression, Assembly, Functions, and Roles in Disease. *Methods Enzymol* 2016; 568:477-507, doi:10.1016/bs.mie.2015.09.012.
3. Behzadi A, et al. Neurofilaments can differentiate ALS subgroups and ALS from common diagnostic mimics. *Sci Rep* 2021; 11:22128, doi:10.1038/s41598-021-01499-6.
4. Benatar M, Wu J, Andersen PM, Lombardi V & Malaspina A. Neurofilament light: A candidate biomarker of presymptomatic amyotrophic lateral sclerosis and phenoconversion. *Ann Neurol* 2018; 84:130-139, doi:10.1002/ana.25276.
5. Abrahams S, Newton J, Niven E, Foley J & Bak TH. Screening for cognition and behaviour changes in ALS. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener* 2014; 15:9-14, doi:10.3109/21678421.2013.805784.
6. Al Shweiki MHDR, et al. Neurofilament light chain as a blood biomarker to differentiate psychiatric disorders from behavioural variant frontotemporal dementia. *J Psychiatr Res* 2019; 113:137-140, doi:10.1016/j.jpsychires.2019.03.019.
7. Tartaglia MC, et al. Differentiation Between Primary Lateral Sclerosis and Amyotrophic Lateral Sclerosis: Examination of Symptoms and Signs at Disease Onset and During Follow-up. *Arch Neurol* 2007; 64:232-236, doi:10.1001/archneur.64.2.232.
8. Kim WK, et al. Study of 962 patients indicates progressive muscular atrophy is a form of ALS. *Neurology* 2009; 73:1686-1692, doi:10.1212/WNL.Ob013e3181c1dea3.
9. Oeckl P, et al. Proteomics in cerebrospinal fluid and spinal cord suggests UCHL1, MAP2 and GPNMB as biomarkers and underpins importance of transcriptional pathways in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathol* 2019; 139:119-134, doi:10.1007/s00401-019-02093-x.
10. Steinacker P, et al. Chitotriosidase as biomarker for early stage amyotrophic lateral sclerosis: a multicenter study. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener* 2021; 22:276-286, doi:10.1080/21678421.2020.1861023.



Foto: PATRIK HJELT

ARVIN BEHZADI
Doktorand, Institutionen för klinisk vetenskap,
Neurovetenskaper, Umeå universitet
arvin.behzadi@umu.se