

Måling av total a-synuclein i spinalvæske

Parkinsons sykdom er den mest vanlige bevegelsesforstyrrelsen på verdensbasis. Sykdommen innebærer et markant tap av dopaminerge nevroner som forårsaker de ulike motoriske og ikke-motoriske symptomene som kjennetegner Parkinsons sykdom. Den underliggende årsaken til selve nedbrytingen av disse cellene er derimot fortsatt uklar. Det er store utfordringer knyttet til diagnose, behandling og forståelsen av Parkinsons sykdom. Fremdeles baseres diagnose hovedsakelig på klinisk observasjon, og misdiagnosering forekommer. En biokjemisk diagnosetest er nyttig for å kunne stille en mer nøyaktig diagnose. Det er også stor variasjon i sykdomsprogresjonen, og biomarkører som kan spore patologiske endringer og gi informasjon om forventet sykdomsforløp vil kunne gi mer målrettet behandling og oppfølging.

I 2012 ble arbeid påbegynt med å utvikle en test (ELISA) for å kunne måle proteinet alfa-synuclein i spinalvæske. Dette proteinet er hovedbestanddelen i aggregatene som hopper opp i nevronene hos Parkinsons pasienter, og som det antas at er en av årsakene til at disse cellene dør. Målet med å lage denne ELISA'en er å undersøke om det er forskjell i total alfa-synuclein konsentrasjon mellom nydiagnostiserte Parkinson pasienter og friske kontroller for å undersøke alfa-synuclein sitt potensiale som diagnosemarkør. Vi vil også måle total alfa-synuclein konsentrasjon i spinalvæske tatt av de samme pasientene på oppfølgingsbesøk etter 3, 5, og 7 år for å se på alfa-synuclein konsentrasjonene i sammenheng med sykdomsprogresjonen for å kunne vurdere alfa-synuclein som progresjonsmarkør.

I 2013 var prosjektets fokus å fortsette utviklingen og optimaliseringen av ELISA-metoden. Vi møtte på noen utfordringer i slutten av 2012, så i 2013 gikk ressursene til å løse problemet. Vi gikk fra å ha en ferdig utviklet test klar for siste validering til å oppleve uventet høyt bakgrunnsignal som overskygget signalet fra spinalvæsken. Flere mulige ting som kunne tenkes å være årsak til det høye bakgrunnsignalet ble testet og vi kunne etterhvert utelukke en rekke faktorer som f.eks buffere, utstyr, det destillerte vannet, inkubering osv. Vi mistenkte en stund at problemet lå hos sekundærantistoffet fordi problemene oppstod kort etter innkjøp av en ny lot. Vi så at ved bruk av det ny-innkjøpte sekundærantistoffet ble bakgrunnsignalet veldig høyt uavhengig av konsentrasjonen til primærantistoffet. Vi rensset opp sekundærantistoffet vha flere ulike metoder uten å oppnå like gode resultater som før problemene oppstod og konkluderer med at samspill mellom flere faktorer forårsaket den høye bakgrunnen.

I ferden av feilsøking prøvde vi også nylanserte antistoffer og nye kombinasjoner av primær- og sekundær antistoff, og da ble det funnet en kombinasjon som ser ut til å fungere veldig bra. Metoden har blitt testet og viser seg å være spesifikk for a-synuclein (gir ingen signal for β - og γ -synuclein), har god sensitivitet (deteksjonsgrense ca 1,4 pg/ml) og god linearitet på

CSF fortyninger (det viser at signalet er uavhengig av prøvematriksen). Det kan også utelukkes at signal oppstår pga heterofile antistoffer i prøven. Nå gjenstår bare å teste ferske, nye lots av disse antistoffene, for å forsikre seg at systemet er stabilt og foreta siste validering.

I neste omgang skal det utvikles en ELISA-test som er spesifikk for *oligomer* alfa-synuclein (dvs flere alpha-synuclein monomerer sammensatt til løselige fibriler). Samme analyseplattform skal benyttes, og testing av antistoffer og optimalisering skal settes i gang om kort tid.

Midlene fra dere ble brukt til innkjøp av MSD ELISA plater, kjemikalier, antistoffer og diverse laboratoriemateriell.

Johannes Lange/Marthe Førland

Norsk Kompetansetjeneste for Bevegelsesforstyrrelser (NKB)

Stavanger Universitetssykehus