**Forskningsrapport för 2019 - Elisabet Ihse**

Precis som andra år vill jag börja även detta år med att tacka för ert stöd och tro på min forskning. Det betyder väldigt mycket för mig.

Som jag berättade i förra årets rapport har min roll ändrats en del, då jag numera inte endast arbetar med forskning på Uppsala Universitet för att försöka förstå hur ATTR amyloidos uppkommer, utan sedan början av förra året är anställd av Akademiska sjukhuset till största delen. Jag har därmed större roll i att driva den dagliga diagnostiska verksamheten vi bedriver och att utveckla den. Den forskning jag bedriver har därmed också skiftat mer mot att utveckla diagnostiken, istället för att fokusera enbart på att undersöka de två olika fibrilltyperna (typ A och B).

Under 2019 har jag framförallt fokuserat på ett projekt som går ut på att försöka kunna diagnosticera ATTR amyloidos genom ett blodprov. Idag krävs det ju i de flesta fall, som ni vet, att man tar en biopsi, dvs ett vävnadsprov, för att kunna ställa diagnosen ATTR amyloidos. Även om bukfettsbiopsi är en relativt enkel procedur jämfört med att ta en biopsi från tex tarmen eller hjärtat, så är det fortfarande en knepigare metod än ett blodprov skulle vara. Det är också väldigt beroende på erfarenheten av den läkare som tittar på provet i mikroskop om man får en korrekt diagnos eller inte, då det många gånger kan vara väldigt svårt att se om det finns amyloid i provet.

Tanken bakom blodprovet jag försöker utveckla är att det kanske är så att det finns små TTR-aggregat (eller missformat TTR med en struktur liknande den som finns i amyloid) som cirkulerar i blodet hos ATTR amyloidos patienter, men inte hos friska individer. Om det är så, så skulle man kunna ställa diagnos med hjälp av ett blodprov om man kan hitta ett sätt att mäta aggregaten. Hur man ska göra det är däremot inte lätt och olika forskningsgrupper håller just nu att prova olika sätt. Ett av sätten är att använda antikroppar. Antikroppar är molekyler som vårt immunsystem bildar för att skydda sig mot olika bakterier och virus. Det gör de genom att binda till olika molekyler på ytan på bakterier eller virus. Kroppens immunsystem är så smart designat att oavsett vilka molekyler som bakterierna eller virusen har på sin yta, kan immunsystemet bilda antikroppar som binder till just de ytmolekylerna. Dvs antikroppar kan fås att binda till precis vilka molekyler som helst, hur de än är utformade.

Det faktum att antikroppar kan utvecklas till att binda vilka molekyler som helst utnyttjas ofta inom både diagnostik och forskning, då man genom att använda antikroppar som binder till just den molekyl man är intresserad av, kan upptäcka om den molekylen finns i ett vävnadsprov eller blodprov. Vi har utvecklat många olika antikroppar mot TTR, som binder till olika delar av TTR eller olika former som TTR kan anta. De allra flesta antikroppar vi har utvecklat mot TTR genom åren binder både till aggregerat /missformat TTR och normalt TTR, vilket inte fungerar att använda eftersom normalt TTR finns hos alla personer. En av alla dessa antikroppar binder dock enbart till aggregerat/missformat och inte TTR i vanlig form. Vi hoppas nu på att kunna använda denna antikropp för att mäta ifall små aggregat/missformat TTR cirkulerar i blodet.

För att detektera saker i blod använder man sig ofta av en metod som kallas för ELISA, som förenklat kan förklaras på följande vis (se förklarande bild också). Man placerar blodet i små brunnar på en platta som binder till proteiner. Efter ett tag när proteinerna har bundit tvättar man bort allt som inte bundit. Sedan tillsätter man sin antikropp, som man har märkt med ett blått färgämne. Efter ett tag tvättar man brunnen igen och sköljer därmed bort alla antikroppar som inte lyckats binda till något. Man kommer då se en blå färg i de brunnar där det som antikroppen binder fanns i blodet, medans brunnar som inte innehöll ngt som antikroppen kunde binda till, inte kommer ha ngn färg alls, eftersom all antikropp där har blivit borttvättad.

Eftersom vi inte använt vår antikropp med just denna metod innan, ville vi först kontrollera att antikroppen verkligen endast band till aggregerat/missformat TTR och inte vanligt TTR även i denna metod. Vi började därför med att testa ELISAn på material som vi visste innehöll ATTR amyloid, samt TTR som vi visste hade sin naturliga form. Vi tog därför små bitar av vävnad som innehåller ATTR amyloid och löste upp vävnadsbitarna, så att det blev som en vätska (och därmed påminde mer om ett blodprov). Vi köpte också in en lösning som vi visste innehöll endast vanligt TTR. Vi kunde då se att vår antikropp band endast till brunnarna som innehöll vävnadsproverna med TTR amyloid och inte brunnarna med normalt TTR, genom att det blev blåfärgat i endast de förstnämnda plattorna.

De experiment vi hittills gjort är endast ett första steg, då vi inte vet om det cirkulerar aggregerat/missformat TTR i blodet på patienter. Och även om det gör det, vet vi inte om det har just en sådan form och struktur att vår antikropp kommer binda till det. Det kan ju hända att det är små skillnader vilken form och struktur sådana kringcirkulerande molekyler har jämfört med den form och struktur de får när de väl ligger på plats i amyloida aggregaten i vävnaden.

Nästa steg är därför att testa vår metod på blodprov från ATTR amyloidos patienter samt personer som inte har ATTR amyloidos, för att se om vår ELISA kommer kunna visa skillnad på de två. Blodprov kommer samlas in under 2020, och sedan testas.

Om det skulle visa sig att det test vi nu håller på att utveckla kan se skillnad på blod från ATTR amyloidos patienter och blod från friska individer, kommer vi även att vilja undersöka om man kan se skillnader i koncentrationen av dessa aggregat/missformat TTR över tid i osymptomatiska individer. I så fall skulle man kanske kunna avgöra vilka som är på väg att utveckla sjukdomen, så att man därmed kan sätta in behandling fort. Metoden skulle möjligen också kunna användas för att se hur pass effektiv en behandling är genom att undersöka hur mycket mängden aggregerat/missformat TTR minskar i blodet när en behandling sätts in.

Så metoden har stora möjligheter om den skulle fungera. Förhoppningsvis vet vi snart om den gör det eller ej.



**Förklaring av ELISA-metoden**. **A)** Bilder på en ELISA platta med små brunnar (ca 1 cm i diameter), före och efter att vår antikropp används. I nedre bilden kan man se hur olika brunnar har antingen ingen färg alls eller olika stark färg beroende på hur mycket aggregerat/missformat TTR det innehåller. **B)** Schematisk bild på en ELISA-brunn sett från sidan, där man kan se att många olika proteiner binder till botten av brunnen men vår antikropp endast binder till aggregerat TTR.