**Diagnostik av och manifestationer vid transtyretin-amyloidos**

Per Westermark

Rudbecklaboratoriet, Uppsala universitet och Akademiska sjukhuset

**Diagnos av transtyretin-amyloidos**

Ärftlig amyloidos (FAP) beroende på mutation i genen för transtyretin (TTR), där aminosyran valin har bytts ut mot metionin, finns som två former, som vi kallat typ A och typ B. Amyloidens fibriller av typ B innehåller bara hela TTR-molekyler medan bitar av TTR (fragment) dominerar inlagringarna vid typ A. Typ B patienter får i allmänhet sjukdomen vid yngre år och har främst nervsymtom (polyneuropati) medan patienter med typ A insjuknar vid högre ålder. Den viktigaste skillnaden mellan de två typerna är att typ A patienter har en tendens att utveckla problematiska och ökande hjärtinlagringar, som dessutom kan byggas på vidare efter levertransplantation. Huruvida de två typerna svarar olika på annan behandling är ännu okänt. Emellertid är det uppenbart att det är viktigt att kunna diagnostisera dessa två olika amyloidosformer och även ställa diagnos tidigt under sjukdomen. Mycket av vårt arbete har varit och är därför att förbättra diagnostiska metoder. Vi har utvecklat den metod som idag används för att bestämma typ A och typ B amyloid med hjälp av en biopsi från underhudens fettvävnad. En sådan biopsi tas ofta med en hudstans. Avgörande om amyloidos föreligger eller inte sker med hjälp av mikroskopi och bestämning av amyloidtyp med hjälp av elektrofores och speciella antikroppar. Metoden är känslig men när endast mycket små amyloidinlagringar finns kan det vara svårt eller omöjligt att avgöra fibrilltyp. Vi är i färd med att studera möjligheten att använda andra antikroppar, som vi utvecklar, direkt på amyloid som placerats på objektglas för mikroskopi. Vi hoppas hitta en antikropp som reagerar specifikt bara med den ena amyloidformen. Detta arbete pågår.

 Det är alltmer tydligt att diagnosen amyloidos måste ställas så tidigt som möjligt för att de moderna behandlingarna ska ha maximal effekt. Helst ska man ställa diagnosen innan sjukdomen brutit ut, d.v.s. innan amyloidfibriller har bildats. Detta är ännu inte möjligt men experiment med möss har visat att innan riktig amyloid har bildats kan aggregat av TTR upptäckas i vissa vävnader. Vi har börjat testa biopsier tagna från underhudens fettvävnad för att se om sådana tidiga inlagringar kan påvisas. För dessa studier har vi preparerat små fettvävnadbitar för elektronmikroskopi, som tillåter en förstoring mycket högre än vanlig mikroskopi. Ultratunna snitt behandlas sedan med speciell antikropp, som binder TTR och antikropp som bundits till amyloid eller förstadier kan sedan påvisas i elektronmikroskopet med mycket små guldpartiklar, som i sin tur binder sig till antikroppen. Vi kan tydligt urskilja de två typerna elektronmikroskopiskt (se bild).

Elektronmikroskopiska snitt från två olika biopsier med TTR-amyloid, till vänster typ A och till höger typ B. Snitten har behandlats med antikropp mot TTR och sedan med speciella guldpartiklar som binder sig till antikroppen. Typ A fibriller är korta och ligger huller om buller medan typ B fibriller finns som parallella buntar. Fibrillerna ses som tunna grå streck och guldpartiklarna som små prickar. Diametern hos guldpartiklarna är 0,00001 mm.



Med denna teknik har vi också kunnat se ytterst tunna pålagringar på fettcellerna av ett material som också binder antikroppen men som inte har tydlig fibrillstruktur. Vi arbetar efter hypotesen att detta material kan vara förstadier till amyloid. Arbetet fortsätter.

 I föregående års ansökan redogjorde jag för ett projekt att utnyttja den amyloidbildande förmågan hos TTR för att ta fram ett känsligt test att tidigt diagnostisera TTR. Idén går ut på att till ett vävnadsprov tillsätta TTR eller fragment av TTR, som får bygga på befintlig minimal amyloid i ett provrör till dess att synliga inlagringar har bildats. Detta arbete, som sker i samarbete med Torleif Härds grupp i Uppsala, har visat sig behäftat med vissa svårigheter, som hänger ihop med dålig löslighet hos fragment. Vi har emellertid inte gett upp detta projekt och testar ytterligare fragment.

**Lumbal spinal stenos**

Förträngning av ryggmärg och nerver i ländryggen (lumbal spinal stenos) är ett inte ovanligt tillstånd, som ibland ger svåra besvär fr.a. från benen. Tillståndet har sannolikt flera olika orsaker. Vi misstänker att lumbal spinal stenos kan uppkomma genom amyloidinlagringar av typ A, både vid FAP och hos personer utan mutation men med TTR-amyloidos. En studie, som vi planerat under ganska lång tid har nu startat. Den är ett samarbete mellan Svante Berg (ortoped, Stockholm Spine Center), Per Eldhagen (kardiolog, Karolinska sjukhuset, Stockholm), Ole Suhr (FAP-specialist, Umeå universitetssjukhus) och mig själv.

**Tack**

Det stora engagemang som FAMY, FAMY Norrbotten och stiftelsen Amyl har visat genom åren betyder väldigt mycket för att vår forskning ska kunna genomföras. Det ekonomiska bidraget har stor betydelse! Jag är som alltid imponerad över den energi med vilken föreningarna bedriver sin verksamhet.