

## Forskningsrapport för 2018 - Elisabet Ihse

Jag vill som vanligt börja med att tacka för det förtroende ni har visat mig genom att tilldela anslag till min forskning. Det gläder mig alltid lika mycket, och jag hoppas ni tycker jag har använt er gåva väl även denna gång.

Jag vill sedan berätta att jag sedan årsskiftet nu är anställd av Akademiska sjukhuset istället för Uppsala Universitet. Detta kommer innebära att förutom att studera de två fibrilltyperna som jag hittills gjort, kommer jag nu arbeta mer direkt med utveckling av diagnostiska metoder än tidigare.

För er som inte vet, eller glömt bort, vad ”de två fibrilltyperna” betyder, så innebär det att vi tidigare har visat att de amyloida fibrillerna i ATTR amyloidos kan vara uppbyggda på två olika sätt, antingen av endast helt TTR (kallad fibrilltyp B) eller förutom helt TTR även ett fragment av TTR-molekylen, dvs att en del TTR-molekyler är klivna på mitten och att endast en av de två uppkomna delarna finns i fibrillerna (kallad fibrilltyp A). Vilken fibrilltyp man har är av intresse då det är kopplat till exempelvis om man utvecklar svår hjärtsjukdom eller hur pass bra effekt man får av en levertransplantation. Vi försöker nu förstå varför det finns två olika fibrilltyper och hur de uppkommer. Svaret på dessa gåtor tror vi kan ge väldigt viktig information hur och varför amyloida fibriller bildas, inte bara från TTR utan även andra proteiner som bildar fibriller i andra amyloida sjukdomar. Sådan kunskap kan förhoppningsvis användas till att utveckla nya och förbättrade läkemedel i framtiden.

I förra årets ansökan och seminarium, berättade jag att vi tänkte göra en studie för att se om fibrilltypen var konstant, eller om den kunde ändras över tid. Vi tror att det faktum att det finns två olika fibrilltyper beror på att det finns två olika sätt som TTR kan bilda amyloida fibriller, men en del andra forskare menar istället att alla fibriller ser lika ut från början och innehåller endast helt TTR, men att med tiden försöker kroppen bryta ner amyloiden, och att det klivna TTR:et (och därmed fibrilltyp A) uppkommer på det sättet. För att avgöra om detta skulle kunna vara fallet har vi under förra året tillsammans med Intissar Anan och Ole Suhr kallat vissa patienter för en ny bukfetts-biopsiering. De patienter vi kallade är sådana där vi har en tidigare biopsi sen många år tillbaka, där fibrilltypen har kunnat bestämmas. Uppslutningen har varit fantastisk och jag vill verkligen tacka alla er som tog besväret och tiden för detta. Det har lett till viktig information och att vi nu är ett steg närmare svaret på mysteriet kring fibrilltypernas förekomst och uppkomst. Vi har nu fått in biopsier från tillräckligt många patienter för att kunna slutföra studien tror vi. Vi har hittills undersökt 8 st patienter, och alla dessa patienter hade fibrilltyp B i både den äldre och den nya bukfettsbiopsin, trots att ca 10 år gått mellan biopsi-tillfällena. Detta talar väldigt tydligt för att det rör sig om två olika mekanismer för hur fibrillerna bildas, inte att en fibrilltyp övergår i en annan.

Under året som gått har jag även arbetat med den studie som jag påbörjade året innan om huruvida de två fibrilltyperna hittas även bland portugisiska patienter. Den mutation som är vanligast hos svenska patienter, Val30Met, finns ju även hos ett stort antal portugisiska patienter, men vi har tidigare inte undersökt fibrilltypen hos dessa. I Portugal använder de biopsier från insidan av läppen istället för bukfettsbiopsier, så detta blev även en studie för att se om de två fibrilltyperna ses i denna typ av vävnad, då vi inte undersökt sådan vävnad förut. Jag har nu analyserat alla biopsier. Som förväntat, då Portugisiska patienter generellt sett är yngre än svenska patienter, hade de allra flesta patienterna fibriller av typ B i sina biopsier, medan några få hade typ A. Jag håller nu på att utvärdera sambandet mellan fibrilltypen hos dessa patienter och deras symptom och ålder vid start av sjukdomen, för att se om vi ser samma samband mellan fibrilltyp och symptom som vi gör i Sverige. Av det jag hittills analyserat tyder allt på att liknande samband finns.

Jag har även arbetat med en studie som undersöker vad som orsakar den klyvning av TTR som ses vid fibrilltyp A. I kroppen finns det mängder med olika protein vars uppgift är att klyva

andra proteiner, dessa kallas enzymer. Det antas att ett eller flera sådana enzymer orsakar klyvningen av TTR, men inget vet riktigt vilket det skulle vara. Det har tidigare visats av andra forskare att man kan få TTR att bilda amyloida fibriller i ett provrör genom att lösa upp det i en sur lösning (lågt pH). När jag gjorde ett sådant experiment märkte jag dock att det under experimentets gång hade bildats fragment som liknar de som hittas i typ A fibriller. Detta var oväntat då jag inte hade tillsatt något annat än TTR och en sur lösning till provröret. Ett vanligt sätt att producera protein är dock att man gör så att speciella ofarliga bakterier producerar stora mängder av TTR och sen försöker man rena bort alla andra molekyler som finns i bakterierna. Provet blir dock aldrig helt rent, utan små rester kan finnas kvar av andra molekyler, tex enzymer, som därmed skulle kunna orsaka klyvningen som jag såg. Förutom enzymer finns det dock en annan sak som kan orsaka klyvning av protein, och det är lågt pH, men det brukar krävas mycket lägre pH (dvs starkare syra) än vad jag hade löst upp TTR:et i för att proteiner ska klyvas/gå sönder. Jag arbetar nu med att försöka förstå vilken av dessa två mekanismer det är som ligger bakom klyvningen av TTR i provröret; antingen små rester av bakterie-enzym eller om det låga pH:et på lösningen jag hade TTR:et i räcker för att åstadkomma en klyvning. Detta experiment är långt ifrån klart än, men de resultat jag har hittills tyder på att det inte är enzymer utan lågt pH som orsakar klyvningen. Om det skulle visa sig vara så är det väldigt intressant, då pH:et på de allra flesta ställen i kroppen är neutralt, dvs vare sig surt eller basiskt. Men det finns ett undantag och det är inuti en viss typ av "bubblor" inuti celler, där pH:et istället är lågt, dvs lösningen som finns i "bubblan" är sur. Om det visar sig att lågt pH orsakar klyvningen av TTR skulle det därmed tyda på att typ A fibriller men inte typ B fibriller bildas i sådana bubblor. Det skulle vara ett stort genombrott då vi idag inte har en aning om var fibrillbildningen sker, om det är inuti eller utanför celler, eller ens om det sker där aggregaten deponeras eller någon annanstans för att sedan transporteras i blodet tills de fastnar i någon annan vävnadstyp än där de först bildades.

För några år sedan kom det in en bukfettsbiopsi till oss för diagnostik från en patient som hade mutationen Glu54Leu. När patientens bukfett analyserades med den metod vi brukar använda för att bestämma fibrilltypen såg vi att det såg annorlunda ut än vi sett för någon annan patient tidigare. Istället för att se *ett* C-terminalt fragment som vi brukar hos typ A patienter, såg vi två fragment, som skilde sig storleksmässigt från det "vanliga" fragmentet. Senare har biopsier inkommit till oss från ytterligare tre patienter med samma mutation, och vi har noterat att alla har det annorlunda mönstret med två fragment. Vi vet ännu inte riktigt vad detta betyder, om det ska ses som en tredje fibrilltyp eller ej, men vi kommer fortsätta våra undersökningar av detta. Vi har tillsammans med Intissar Anan skrivit färdigt ett manuskript av våra fynd, som ska skickas iväg för publicering.

Jag vill också nämna att studien på fibrilltyp inom familjer, som jag tidigare fått anslag för och vars resultat jag skrev om i förra årets redovisning, nu är avslutad och publicerad.

Som avslutning vill jag säga att jag ser framemot forsknings-året som kommer, med min nya arbetsroll där jag kommer vara mer involverad i diagnostikverksamheten.