

# Spinalvæskeproteiners stabilitet – relevant for demensforskning

I Dansk Demens Biobank har vi undersøgt spinalvæskeproteiners stabilitet i forhold til prøvernes brug i forskningsprojekter

Spinalvæskeproteiner er interessante i forbindelse med Alzheimers sygdom og er et redskab til diagnose. Forskningsstudier forudsætter korrekt opbevaring, hvor proteiner beskyttes mod degradering og ændring i struktur.

Dette projekt undersøger, om tilsætning af proteaseinhibitorer og gentagne nedfrysninger og efterfølgende optøninger vil påvirke flere spinalvæskeproteiner bl.a. Amyloid- $\beta$ , Total-Tau, Phosphoryleret-Tau og Cystatin C.

## Materiale og metode

Spinalvæske blev indsamlet fra 10 patienter, der fik foretaget lumbalpunktur i forbindelse med diagnostisk udredning på Rigshospitalet. Spinalvæske fra hver patient blev opsamlet i polypropylenrør, centrifugeret og udportioneret i separate portioner. Halvdelen af portionerne blev tilført proteaseinhibitorer, og herefter blev portionerne delt i tre, der blev udsat for hhv. en, to eller tre nedfrysninger/optøninger inden analysering. Projektet er godkendt af Videnskabsetisk Komité.

Til måling af proteinprofiler benyttes massespektrometri ved SELDI (Surface-enhanced laser desorption/ionization). Der benyttes proteinchips af typen CM10 og IMAC30Ni, hvor 5  $\mu$ l spinalvæske påføres, der udførtes duplikater af samtlige prøver.

Koncentration af proteinerne Amyloid- $\beta$ , Total-Tau, Phosphoryleret-Tau, blev analyseret ved ELISA i et samarbejde med Statens Serum Institut. Analytterne benyttes ved diagnostik af Alzheimers sygdom.

Koncentration af proteinet Cystatin C blev analyseret ved et immunokemisk assay i samarbejde med Lunds Universitetssygehus.

## Statistisk analyse

Der benyttes hhv. parret t-test og ANOVA til at undersøge effekt ved brug af proteaseinhibitorer og effekt ved flere nedfrysninger/optøninger. Ved begge statistiske test fastlægges et 95 % signifikansniveau.

## Resultater

Proteaseinhibitorer påvirker koncentrationen af spinalvæskeproteinet Phosphoryleret-Tau, idet der påvises signifikant forskel mellem de to gruppers resultater. Der påvises ikke signifikant forskel, når der måles Cystatin C, Amyloid- $\beta$  og Total-Tau.

Gentagne nedfrysninger og optøninger påvirker koncentrationen af spinalvæskeproteinet Total-Tau (uden proteaseinhibitorer) samt Phosphoryleret-Tau (uden proteaseinhibitorer). Dette sås, idet der var signifikant forskel mellem de tre grupper, der var nedfrosset/optøet hhv. 1, 2 eller 3 gange inden analysering. Der påvises ikke signifikant forskel mellem grupperne ved måling af proteinerne Cystatin C og Amyloid- $\beta$ . Ved måling af proteinprofiler ved SELDI undersøges i alt 107 proteiner, hvor der påvises signifikant forskel ved samtlige gentagne nedfrysninger og optøninger i 12 af proteinerne. Gentagne optøninger og nedfrysninger påvirker bl.a. proteinet Transthyretin.

## Diskussion

Vi anbefaler, at spinalvæskeprøver opbevares i flere separate portioner, således at der undgås frys/tø og dermed brug af proteaseinhibitorer.  $\square$



Af bioanalytiker //  
**Hanne Måge**  
Nationalt Videnscenter for Demens,  
Forskningsafdelingen, Rigshospitalet

## VIDEN OM DEMENS

Demens er en folkesygdom. I Danmark er mellem 70.000 - 80.000 mennesker ramt af en demenssygdom. Demens kan skyldes op mod 100 forskellige sygdomme, og der er mange andre sygdomme, der kan give symptomer, der minder om demens. Har man symptomer, der minder om demens, er det derfor vigtigt at blive undersøgt. Det er vigtigt at huske, at alle med en demenssygdom kan behandles, selv om det fortsat kun er få, der kan kureres.

Demenssygdommene er også blevet kaldt de pårørendes sygdom. Det er fordi personen, der er ramt, ikke altid føler sig generet af symptomerne. Når en demenssygdom rammer, vil det ofte påvirke hele familien og omgangskredsen.

KILDE: DEMENSNET.DK

*Nationalt Videnscenter for Demens* på Rigshospitalet omfatter Hukommelsesklinikken, en Forskningsenhed og en Vidensformidlingsenhed. Centret varetager en række opgaver inden for demensområdet, herunder forskning, patientbehandling samt undervisning og vidensformidling til sundhedsfagligt personale, patienter og pårørende.

Som bioanalytiker tager jeg blodprøver på patienter, både rutine- og forsknings-blodprøver. Der til er der daglig drift af Dansk Demens Biobank, med blod- og CSF prøver. Der er en del logistisk arbejde med vedligeholdelse af forskningsdatabasen og lagerstyring med tusindvis af portioner med prøvemateriale. Jobbet omfatter forskningsprojekter indenfor biomarkører til demensudredning. Udover dette deltager jeg i centerets arbejde med kliniske lægemiddelundersøgelser og kliniske forskningsundersøgelser sammen med en forskningssygeplejerske. Dette giver patientkontakt i hverdagen, hvor vi følger patienter igennem længere tid. Dette er interessant og giver jobbet en tværfaglig dimension.

## CEREBROSPINALVÆSKE

- Omkredser og yder støtte til hjernen og ryggraden ved at fungere som en stødpude for hjernens bevægelser og intrakranielle volumenændringer.
- CSF (spinalvæske) indeholder proteiner, celler og glukose.
- CSF's proteinindhold er normalt 35 mg/dl. Til sammenligning er plasmas proteinindhold 7000 mg/dl.
- CSF cirkulerer i hjernens hulrum og både nydannes og reabsorberes igen. Dette flow af CSF gør det til et aktivt transportsystem, som bringer næring til hjernen og kan fjerne affaldsstoffer.
- CSF udskiftes ca. 4 gange dagligt.
- Det totale volumen CSF i et menneske er ca. 150 ml.
- Et tæt cellelag (blod-hjerne-barrieren) filtrerer og tillader kun bestemte proteiner adgang til hjernen.
- Ved hjernesygdom ses ofte ændringer i proteinindhold.
- CSF kan udtages ved lumbalpunktur fra indstik mellem lændehvirvler.

