



## Alpha-Synuclein-ELISA



- **Zuverlässiger Nachweis von Alpha-Synuclein im Liquor**
- **Einfache Abarbeitung durch gebrauchsfertige Reagenzien**
- **Voll automatisierbare Testdurchführung**

### Technische Daten

<b>Beschichtung</b>	Monoklonaler Anti-Alpha-Synuclein-Antikörper
<b>Kalibrierung</b>	Quantitativ, in Pikogramm pro Milliliter (pg/ml) 7 Kalibratoren zwischen 0 und 6000 pg/ml, chargenabhängig
<b>Probenverdünnung</b>	Liquor, 25 µl, unverdünnt
<b>Reagenzien</b>	Gebrauchsfertig, Ausnahmen: Kalibratoren und Kontrollen (lyophilisiert), Waschpuffer (10x); farbcodierte Lösungen
<b>Testablauf</b>	180 min / 30 min / 30 min (Proben-/Konjugat-/Substrat-Inkubation), Raumtemperatur, voll automatisierbar
<b>Messung</b>	450 nm, Referenzwellenlänge zwischen 620 nm und 650 nm
<b>Packungsformat</b>	96 einzeln abbrechbare Reaktionsgefäße inkl. aller Reagenzien
<b>Bestell-Nr.</b>	<b>EQ 6545-9601-L</b>

### Klinische Bedeutung

Alpha-Synuclein ist ein cytoplasmatisches Protein, das in den präsynaptischen Endigungen angereichert ist. Seine physiologische Funktion ist nicht hinreichend geklärt, mehrere Studien lassen jedoch auf eine Rolle beim vesikulären Transport und bei der Freisetzung von Neurotransmittern schließen.

Alpha-Synuclein steht in Zusammenhang mit der Entstehung von Synucleinopathien. Bei diesen handelt es sich um neurodegenerative Erkrankungen, zu denen die Parkinson-Krankheit, die Lewy-Körperchen-Demenz und die System-Atrophie zählen. Während in gesundem Hirngewebe lediglich 4% des Serins an Position 129 des Alpha-Synuclein phosphoryliert sind (pS129), weisen bei Synucleinopathien etwa 90% des Proteins eine Phosphorylierung an dieser Stelle auf. Die Phosphorylierung verringert die Löslichkeit des Proteins und führt zu dessen Aggregation zu sogenannten Lewy-Körperchen. Der Grad der Phosphorylierung korreliert mit der Ausprägung der Krankheit. Alpha-Synuclein-Ablagerungen treten auch bei anderen neurodegenerativen Erkrankungen auf, z. B. bei etwa 60% der Alzheimer-Patienten.

Lösliches, monomeres Alpha-Synuclein kann im Liquor cerebrospinalis nachgewiesen werden. Bislang stand jedoch kein standardisiertes immunologisches Testsystem zur Quantifizierung zur Verfügung. Cut-offs der Protein-Konzentration im Liquor für die Diagnose Alpha-Synuclein-assoziiierter Erkrankungen wurden noch nicht festgelegt. Klinische Studien zeigen mehrheitlich reduzierte Konzentrationen bei Patienten mit Synucleinopathien im Vergleich zu Gesunden, Alzheimer-Patienten und Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen. Dagegen ist die Alpha-Synuclein-Konzentration im Liquor von Alzheimer-Patienten gegenüber Patienten mit Synucleinopathien sowie gesunden Kontrollen signifikant erhöht – dies wurde in mehreren großangelegten Studien gezeigt und könnte spezifisch für die Alzheimer-Erkrankung sein. Bei der Liquordiagnostik von Alpha-Synuclein ist jedoch zu beachten, dass das Protein auch im peripheren Blut vorkommt und bis zu 20% aller Lumbalpunktionen mit Blut kontaminiert sind.

Es wird diskutiert, dass sich bei Synucleinopathien zunächst lösliche Alpha-Synuclein-Oligomere bilden, die anschließend aggregieren und sich ablagern. Im Liquor von Parkinson-Patienten wurden, verglichen mit Kontrollpatienten und Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen, erhöhte Konzentrationen dieser Oligomere gemessen. Das Verhältnis von Alpha-Synuclein-Oligomeren zu monomerem Gesamt-Alpha-Synuclein grenzt Patienten mit Synucleinopathien von Alzheimer-Patienten und Kontrollen ohne neurodegenerative Erkrankung ab.



## Stellenwert

Klinische Studien zeigen mehrheitlich reduzierte Alpha-Synuclein-Konzentrationen bei Parkinson-Patienten verglichen mit Gesunden und Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen. Der Alpha-Synuclein-ELISA von EUROIMMUN quantifiziert zuverlässig das lösliche, monomere Gesamt-Alpha-Synuclein im Liquor cerebrospinalis und ermöglicht somit die Nutzung von Alpha-Synuclein als Forschungsparameter. Die Relevanz dieses Biomarkers als diagnostischer Parameter für Parkinson muss in klinischen Studien validiert werden.

Die untere Nachweisgrenze ist definiert als der Mittelwert einer analytfreien Probe plus der dreifachen Standardabweichung und gibt die geringste eindeutig erfassbare Alpha-Synuclein-Konzentration an. Die untere Nachweisgrenze des Alpha-Synuclein-ELISA liegt bei 19 pg/ml.

## Linearität

Zur Bestimmung der Linearität wurden 3 native Liquorproben (1957-2844 pg/ml) in 10%-Schritten linear mit Probenpuffer verdünnt. Die Wiederfindung zum Erwartungswert lag im Mittel bei 95% (72 - 109% mit einem mittleren Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,992$ ).

## Reproduzierbarkeit

Zur Kontrolle der Reproduzierbarkeit wurden die Intra- und Inter-Assay- und die Inter-Lot-Variationskoeffizienten mit je 3 Proben ermittelt.

Nr.	Intra-Assay-Variation, n=20		Nr.	Inter-Assay-Variation, n=10 x 2		Nr.	Inter-Lot-Variation, n=3 x 2 x 2	
	Mittelwert (pg/ml)	VK (%)		Mittelwert (pg/ml)	VK (%)		Mittelwert (pg/ml)	VK (%)
1	1022	4,9	4	612	3,0	7	583	3,8
2	2045	4,9	5	1630	4,5	8	1623	5,5
3	3327	6,9	6	4590	3,6	9	4565	3,7

## Literatur

- Goedert M, et al. **The Synucleinopathies: Twenty Years On.** J Parkinsons Dis (2017), 7(s1): 53-71.
- Sancesario GM, et al. **How many biomarkers to discriminate neurodegenerative dementia?** Crit Rev Clin Lab Sci (2015), 52(6): 314-326.
- Parnetti L, et al. **Value of cerebrospinal fluid  $\alpha$ -synuclein species as biomarker in Parkinson's diagnosis and prognosis.** Biomark Med (2016), 10(1): 35-49.
- Walker Z, et al. **Lewy body dementias.** Lancet (2015), 386(10004): 1683-1697.
- Weil RS, et al. **Current concepts and controversies in the pathogenesis of Parkinson's disease dementia and Dementia with Lewy Bodies.** F1000Res (2017), 6: 1604.
- Shi M, et al. **Cerebrospinal fluid  $\alpha$ -synuclein contributes to the differential diagnosis of Alzheimer's disease.** Alzheimers Dement (2018).
- Mollenhauer B, et al. **Investigating Synuclein Consortium of the Michael J. Fox Foundation for Parkinson's Research. A user's guide for  $\alpha$ -synuclein biomarker studies in biological fluids: Perianalytical considerations.** Mov Disord (2017), 32(8): 1117-1130.