



Alzheimeri laboratoorne diagnostika

Siiri Kukk

20.03.2019

Alzheimeri tõbi (AD)



- Esimest korda kirjeldati 1906. aastal Alois Alzheimeri poolt.
- AD on neurodegeneratiivne haigus, mis süveneb ajaga.
- Arvatakse, et umbes 60-70% dementsuse haigusjuhtudest on seotud Alzheimeriga.
- Ennustatakse, et aastaks 2050 on maailmas 152 millionit dementset inimest.

Alzheimeri tõbi



- Reeglina tekib 60ndates eluaastates, kuid on ka *early-onset* AD haigeid.
- AD korral toimuvad muutused ajus juba enne sümptomite avaldumist:
 - Amüloidnaastud
 - Neurofibrillaarsed kämbud
- Kahjustused leiavad aset esmalt *hippocampuses*.
- Ravi sellele ei ole.

Diagnoosimine



- Hetkel:
 - Sümptomid
 - Aju MRT, CT uuringud
 - 2011 *National Institute of Aging* (NIA) andis välja juhised diagnoosimiseks
- 2018 andi NIA välja *research framework*-i, mis käsitleb biomarkerite määramist liikvorist.

AD biomarkerid



- AT(N) biomarkerite grupid (NIA klassifikatsioon):
 - A (β -amüloidi agregaadid) : **CSF $A\beta$** , amüloid PET
 - T (Tau agregaadid): **CSF pTau**, Tau PET
 - N (neurodegeneratsioon): MRT, FDG PET, **CSF total Tau**

NIA biomarkerite profiil



Biomarker profiles and categories

AI(N) profiles	Biomarker category	
A-T-(N)-	Normal AD biomarkers	
A+T-(N)-	Alzheimer's pathologic change	Alzheimer's continuum
A+T+(N)>	Alzheimer's disease	
A+T+(N)+	Alzheimer's disease	
A+T-(N)+	Alzheimer's and concomitant suspected non Alzheimer's pathologic change	
A-T+(N)-	Non-AD pathologic change	
A-T-(N)+	Non-AD pathologic change	
A-T+(N)+	Non-AD pathologic change	

Alzheimeri markerid liikvoris



- β -amüloid(1-42) (CSF A β) – amüloidnaastude põhikomponent
- Fosforüleeritud Tau (CSF pTau) – neurofibrillaarsete kämpude põhikomponent
- Total Tau (CSF Tau) – Tau valk, aksonaalse degeneratsiooni marker.
- Total Tau ei ole AD spetsiifiline marker, vaid konts. võib olla suurenenud ka nt Creutzfeld-Jakobi haiguse korral.
- Lisaks on näidatud, et Lewy Bodies dementsuse korral (DLB) on vähenenud β -amüloidi kontsentratsioon liikvoris.

Referentsväärtused



	β -amüloid (1-42)	pTau	total Tau
Referentsväärtused	> 500 ng/L	18-44 a. 20-46 ng/L >45 a. 36-66 ng/L	21-51 a. 47-225 ng/L 52-70 a. 116-370 ng/L >70 a. 170-512 ng/L
Prekliiniline AD	↓	Normis või ↑	Normis või ↑
AD	↓	↑	↑
CJD	↑	↓	↑↑ >1400 ng/L
Dementia with Lewy Bodies	↓	↓	↑

Kasutatav testid

- ELISA metoodika:
 - Innotest β -amyloid(1-42)
 - Innotest Phospho-Tau(181P)
 - Innotest hTau Ag
- Teostame käsitsi

Preanalüütika



- Liikvor tuleb koguda vähemalt 1,5 ml kahte spetsiaalsesse mikrotuubi (2ml polüpropüleenist keeratava korgiga tuub).
- Liikvor ei tohi olla hemolüütiline ning võib **toatemperatuuril seista maksimaalselt 2h.**
- Säilitame -80C juures.
- Analüüse teostame liikvorist 1x kuus.

Analüütika



- Erinevus tava ELISAst:
 - Üleöö inkubatsioonid (Tau, pTau)
 - Kalibraatoreid, *run validation controls* saab sulatada ainult 1x (2x sulatamisel väärtused langevad).
 - Teised inkubatsioonid teostame inkubaatoris (25° C juures).
 - Nii kalibraatorid kui ka patsiendi proovid teeme kahes korduses.

Analüütika II - probleemid



- RVC ja kalibraatorite paralleelsed mõõtmised erinesid 20%, sama probleem osade patsientide tulemustega.
 - **Lahendus:** inkubatsioonid teostatud kontrollitud temperatuuril inkubaatoris ning maksimaalselt korruga teostada pool ELISA plaati.
 - **Tulemus:** erinevused jäid lubatud piiridesse.

Kuidas läinud on?



- Analüüs kasutusel olnud 6 kuud.
- Analüüside arv: 117
 - A β , pTau, Tau positiivsed – 6 patsienti
 - A β positiivne – 31 patsienti
 - pTau positiivne – 14 patsienti
 - Tau positiivne – 15 patsienti
- Neuroloogidega tulemuste analüüsimine veel ees.



Tänaa kuulamast!