

CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIDADE DE ENSINO SUPERIOR DOM BOSCO  
CURSO BIOMEDICINA

**CAMILA SERRA DE ANDRADE**

**A UTILIZAÇÃO DO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO (LCR) NO DIAGNÓSTICO  
DIFERENCIAL DA DOENÇA DE ALZHEIMER**

São Luís

2021

**CAMILA SERRA DE ANDRADE**

**A UTILIZAÇÃO DO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO (LCR) NO DIAGNÓSTICO  
DIFERENCIAL DA DOENÇA DE ALZHEIMER**

Monografia apresentada ao Curso de Biomedicina do Centro Universitário Unidade de Ensino Superior Dom Bosco como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina.  
Orientadora: Prof. Me. Thamyres Cristhina Lima Costa.

São Luís

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Centro Universitário – UNDB / Biblioteca

Andrade, Camila Serra de.

A utilização do líquido cefalorraquidiano (LCR) no diagnóstico diferencial da doença de Alzheimer. / Camila Serra de Andrade. \_\_ São Luís, 2021.

56 f.

Orientador: Profa. Me. Thamyres Cristhina Lima Costa.

Monografia (Graduação em Biomedicina) - Curso de Biomedicina –Centro Universitário Unidade de Ensino Superior Dom Bosco –UNDB, 2021.

1. Líquido cefalorraquidiano. 2. Doença de Alzheimer. 3. Biomarcadores. 3. Diagnóstico diferencial. I.Título.

CDU 616.892.2

**CAMILA SERRA DE ANDRADE**  
**A UTILIZAÇÃO DO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO (LCR) NO DIAGNÓSTICO**  
**DIFERENCIAL DA DOENÇA DE ALZHEIMER**

Monografia apresentada ao Curso de Biomedicina do Centro Universitário Unidade de Ensino Superior Dom Bosco como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA:**

---

**Prof. Me. Thamyres Cristina Lima Costa (Orientador)**

Mestre em Ciências da Saúde - UFMA

Centro Universitário Unidade de Ensino Superior Dom Bosco (UNDB)

---

**Prof. Me. Thaiane Coelho dos Santos**

Mestre em Ciências da Saúde - UFMA

Centro Universitário Unidade de Ensino Superior Dom Bosco (UNDB)

---

**Prof. Me. Thamys Marinho Melo**

Mestre em Ciências da Saúde - UFMA

Centro Universitário Unidade de Ensino Superior Dom Bosco (UNDB)

Dedico a minha família, em especial  
ao meu avô Avelino Oliveira Serra.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família, em especial meus pais, Dulce Rodrigues Serra e Marçal Lisboa de Andrade, meu irmão Rodrigo Serra de Andrade e minha irmã Renata Serra de Andrade, por todo apoio, incentivo e ensinamentos, principalmente durante esses 4 anos de curso.

À minha avó, Glória Maria Rodrigues Serra por sempre acreditar em mim e por todo incentivo.

Aos meus professores, por todos os ensinamentos e incentivos durante o período de graduação, em especial à minha orientadora Thamyres Cristina Lima Costa, por toda a orientação e colaboração na formulação deste trabalho.

Aos meus colegas de turma, pelos momentos que passamos juntos, de apoio e aprendizagem, que contribuíram para a conclusão desta etapa.

## RESUMO

O número de indivíduos acometidos pela demência cresce à medida que a população envelhece. As doenças neurodegenerativas são as principais causas de demências e acredita-se que a doença de Alzheimer (DA) acometa a maioria desses pacientes. O diagnóstico da DA não é específico e baseia-se em exames laboratoriais, clínicos e de imagem. Observando-se a fisiopatologia da DA, percebe-se que existem algumas proteínas líquóricas que funcionam como biomarcadores da DA, sendo elas a A $\beta$ -42, proteína tau total (T-tau) e tau fosforilada (P-tau). Assim sendo, a capacidade de acompanhar o curso clínico da doença por meio dos biomarcadores líquóricos, traz informações sobre a fisiopatologia da DA, contribuindo para o desenvolvimento de novos medicamentos, resultando na melhoria da qualidade de vida dos pacientes acometidos com DA. Diante dos fatos apresentados, o trabalho teve como objetivo apresentar os biomarcadores líquóricos referentes a DA e que são capazes de diferenciar a DA de outras doenças neurodegenerativas. Para alcançar os objetivos desse estudo, realizou-se uma revisão bibliográfica integrativa e levantamento de dados baseados em artigos científicos sobre biomarcadores líquóricos no diagnóstico da DA, encontrados em portais periódicos online e publicados em base de dados como Scielo e Pubmed. Diante disto, diversos estudos expressam que os níveis dos biomarcadores líquóricos da proteína  $\beta$ A-42 encontram-se reduzidos e os níveis das proteínas T-tau e P-tau encontram-se elevados em pacientes acometidos com DA. Desta forma é possível concluir que estas proteínas presentes no LCR são capazes de realizar um diagnóstico diferencial e precoce da DA, porém a utilização desses ainda é recomendada apenas para pesquisas, devido à variabilidade dos resultados encontrados e da invasividade do exame.

**Palavras-chave:** Biomarcadores. Demência tipo Alzheimer. Diagnóstico diferencial. Doença de Alzheimer. Líquido Cefalorraquidiano.

## ABSTRACT

The number of individuals affected by dementia increases as the population ages. Neurodegenerative diseases are the main cause of dementia and Alzheimer's disease is believed to affect the majority of these patients. The AD diagnosis isn't specific and is based on laboratory, clinical and imaging tests. By observing the AD pathophysiology, it is noticed that there are some cerebrospinal fluid (CSF) proteins that function as AD biomarkers, namely A $\beta$ -42, T-tau e P-tau. Therefore, the ability to follow the clinical course of the disease by means of CSF biomarkers provides information on the pathophysiology of AD, contributing to the development of new drugs, resulting in improved quality of life of patients with AD. In view of the facts presented, this study aimed to observe the CSF biomarkers related to AD and that are able to differentiate AD from other neurodegenerative diseases. To achieve the objectives of this study, we conducted a literature review and data collection based on scientific articles on CSF biomarkers in the diagnosis of AD, found in online periodical portals and published in databases such as Scielo and PubMed. Therefore, several studies express that the levels of the T-tau and P-tau proteins are elevated in patients with AD. Thus, it can be concluded that these proteins present in the CSF are capable of early and differential diagnosis of AD, but their use is still recommended only for research purposes, due to the variability of the results found and the invasiveness of the exam.

**Keywords:** Biomarkers. Alzheimer type dementia. Differential diagnosis. Alzheimer's Disease. Cerebrospinal Fluid

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Número e idade de pessoas com 65 anos ou mais com Doença de Alzheimer, 2021 .....	17
<b>Figura 2</b> – Mudança percentual em causas de morte selecionadas (todas as idades entre 2000 e 2019).....	17
<b>Figura 3</b> – Estágios e sintomas da DA .....	19
<b>Figura 4</b> – Fatores de risco da DA.....	21
<b>Figura 5</b> – Estrutura fisiológica do cérebro e dos neurônios.....	22
<b>Figura 6</b> – Biossíntese dos peptídeos A $\beta$ -40 e A $\beta$ -42. ....	24
<b>Figura 7</b> – Hipótese amilóide da fisiopatologia da DA. ....	26
<b>Figura 8</b> – Síntese e transporte de acetilcolina entre os nervos sinápticos.....	28
<b>Figura 9</b> – Fatores de risco genéticos e ambientais. ....	29
<b>Figura 10</b> - Tomografia A $\beta$ -PET com florbetapir vista em um cérebro controle saudável (esquerdo) e em um cérebro com DA (direito). ....	31
<b>Figura 11</b> – Neuroimagens de RM. ....	32
<b>Figura 12</b> – Fluxograma para uso e interpretação de biomarcadores amilóides de acordo com a suspeita clínica.....	33
<b>Figura 13</b> – Fluxograma do fluxo do LCR.....	35
<b>Figura 14</b> – Diagrama esquemático de um neurônio com placas amilóides neuríticas e NTFS intracelulares. ....	38
<b>Figura 15</b> – Fluxograma de seleção de estudos. ....	40

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Artigos selecionados.....	40
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACh	Acetilcolina
ADRDA	<i>Alzheimer's Disease and Related Disorders Association</i>
APOE	Apolipoproteína E
AVC	Acidente Vascular Cerebral
A $\beta$	Peptídeo beta-amilóide
CCL	Comprometimento Cognitivo Leve
DA	Doença de Alzheimer
EAA	Aminoácidos Excitatórios
ENFs	Emaranhados Neurofibrilares
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
MMSE	Mini Exame do Estado Mental
MoCA	<i>Montreal Cognitive Assessment</i>
NINCDS	<i>The National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
PET	Tomografia por Emissão de Pósitrons
PPA	Proteína Percussora Amilóide
PSEN1	Presinilina-1
PSEN2	Presinilina-2
P-Tau	Proteína Tau fosforilada
SNC	Sistema Nervoso Central
SUS	Sistema Único de Saúde

T-Tau Proteína Tau total

VACHT Transportador Vesicular de Acetilcolina

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 DESENVOLVIMENTO</b> .....	16
<b>2.1 Caracterização e epidemiologia da Doença de Alzheimer</b> .....	16
2.1.1 Epidemiologia da DA.....	16
2.1.2 Caracterização e fatores de risco da DA.....	18
<b>2.2 Fisiopatologia da DA</b> .....	21
<b>2.3 Diagnóstico da DA</b> .....	28
<b>2.4 Citologia do LCR e os biomarcadores líquóricos para a DA</b> .....	34
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	39
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	39
4.1 Resultados .....	39
4.2 Discussão .....	44
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	49
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	50

## 1 INTRODUÇÃO

A população tem envelhecido cada vez mais nos últimos anos, segundo dados da Organização das Nações Unidas (ONU, 2019), estima-se que a população com mais de 65 anos alcance o índice de 1,5 bilhões até o ano de 2050, alertando para a possibilidade no crescimento de indivíduos acometidos por demências. As demências são caracterizadas pela diminuição de forma progressiva da capacidade cognitiva, perda da funcionalidade e alterações comportamentais (SOCIEDADE BRASILEIRA DE GERIATRIA E GERONTOLOGIA, 2019). Segundo relatórios da Associação Internacional de Alzheimer (2020), a estimativa de pessoas com demência no mundo é de mais de 50 milhões, sendo este número capaz de aumentar para 152 milhões até o ano de 2050.

No Brasil, os dados ainda não são precisos devido à dificuldade no diagnóstico, porém, segundo Melo e colaboradores (2020), o número de idosos acometidos por algum tipo de demência é de 1,5 milhões. As doenças neurodegenerativas são as principais causas de demências e caracterizam-se pela perda de modo progressivo e disfunção seletiva de neurônios e sinapses relacionados a proteínas alteradas que se depositam na medula espinal e no cérebro humano (KOVACS, 2019).

A principal causa de demência é a doença de Alzheimer (DA) e acredita-se que para cada 2 milhões de pessoas acometidas com algum tipo de demência, 40% a 60% são DA (SOCIEDADE BRASILEIRA DE GERIATRIA E GERONTOLOGIA, 2019). Esta caracteriza-se por uma desordem que ocasiona a degeneração dos neurônios, resultando no declínio da capacidade cognitiva e motora, afetando na independência de realização das atividades pessoais diárias do paciente acometido com DA (BREIJYEH; KARAMAN, 2020).

Por ser considerada uma doença multifatorial, existem duas hipóteses relacionadas a sua causa, a hipótese colinérgica e a amiloide. A patologia da DA envolve vários mecanismos, tais como o metabolismo anormal das proteínas  $\beta$ -amilóide (A $\beta$ -42) e Tau total (T-tau), resposta colinérgica reduzida e resposta inflamatória. Apesar da etiologia indefinida, alguns fatores de risco que desempenham papel importante na doença são idade, fatores genéticos, doenças vasculares e infecções (BREIJYEH; KARAMAN, 2020).

O diagnóstico da DA não é específico, funcionando como um meio de exclusão de qualquer outra possível causa para a demência, como Comprometimento Cognitivo Leve (CCL), Acidente Vascular Cerebral (AVC) e efeitos colaterais de medicamentos ou tumores. Este diagnóstico baseia-se em exames laboratoriais, clínicos e de imagem cerebral, além de testes neuropsicológicos e análise do histórico familiar. Assim sendo, devido à escassez de um exame confirmatório, a DA pode ser classificada como DA possível, a qual não possui sintomas característicos, DA provável, a qual possui sintomas característicos e DA definitiva, a qual é possível confirmar o diagnóstico com base na análise do tecido cerebral post-mortem (BILLMAN; PEZZINI; POETA, 2020).

A dificuldade de um diagnóstico preciso para DA baseia-se na não existência de exames confirmatórios. Tendo em vista que o líquido cefalorraquidiano (LCR) está em contato direto com o espaço extracelular e é um excelente marcador de fisiopatologias cerebrais, este se torna a principal matriz biológica para a dosagem de biomarcadores da DA (ANCHIETA *et al*, 2021). Isto posto, indaga-se sobre os biomarcadores presentes no LCR que atuam como uma assinatura patológica da DA e que junto ao quadro clínico, seriam capazes de atuar como um diagnóstico confirmatório, diferencial e precoce da DA. Observando-se a fisiopatologia da DA, percebe-se que existem algumas proteínas presentes no LCR que funcionam como biomarcadores líquóricos da DA, sendo eles as proteínas A $\beta$ -42, principal constituinte das placas senis; T-tau presente nos neurônios, ocasiona a formação de emaranhados neurofibrilares (ENFs) devido a agregação e hiperfosforilação que ocorre na DA (BILLMAN; PEZZINI; POETA, 2020).

Com isso, se torna possível o monitoramento do curso clínico da doença, trazendo informações sobre os mecanismos fisiopatológicos da DA, favorecendo o desenvolvimento de novos medicamentos. Assim sendo, seria possível que os pacientes acometidos pela DA recebessem um tratamento precoce, interferindo diretamente na melhoria da qualidade de vida desses indivíduos, bem como na redução de gastos com medicamentos, tanto para o paciente como para o Sistema Único de Saúde (SUS). No entanto, apesar da capacidade de serem um potencial biomarcador para o diagnóstico da DA, a utilização desses ainda é recomendada apenas para pesquisas, devido à escassez de dados confirmatórios e do difícil acesso à coleta de amostras do LCR (BILLMAN; PEZZINI; POETA, 2020). Dessa

forma, hipotetizamos que os biomarcadores presentes no LCR possibilitam a diferenciação entre a DA de outras demências degenerativas em estágios iniciais, o que permite um diagnóstico precoce e diferencial da DA.

Diante dos fatos apresentados, a pesquisa tem como objetivo analisar os biomarcadores líquóricos referentes a DA e que são capazes de diferenciar a DA de outras doenças neurodegenerativas. Para isso, se faz necessário identificar os biomarcadores presentes no LCR que se associam ao diagnóstico da DA, além de analisar quais destes permitem um diagnóstico preciso, precoce e diferencial entre a DA, outras condições neurodegenerativas, como também de outras possíveis causas de demência.

Para alcançar os objetivos desse estudo, realizou-se uma revisão bibliográfica e levantamento de dados baseados em artigos científicos e em ensaios clínicos sobre biomarcadores líquóricos no diagnóstico da DA, encontrados em portais periódicos online e publicados em base de dados como Scielo e Pubmed.

Para tanto, o presente trabalho foi disposto em quatro capítulos: no capítulo I trata-se da caracterização da DA, trazendo dados epidemiológicos sobre a incidência desta condição neurológica na população idosa. No capítulo II é abordado sobre a fisiopatologia da DA. No capítulo III disserta-se sobre os exames existentes para a realização do diagnóstico da DA, bem como a sobre a dificuldade de um diagnóstico confirmatório baseado nos exames existentes. No capítulo IV é discutido sobre a utilização do LCR e dos biomarcadores líquóricos no diagnóstico da DA, assim como as vantagens e desvantagens da utilização deste exame para o diagnóstico.

## **2 DESENVOLVIMENTO**

### **2.1 Caracterização e epidemiologia da Doença de Alzheimer**

#### **2.1.1. Epidemiologia da DA**

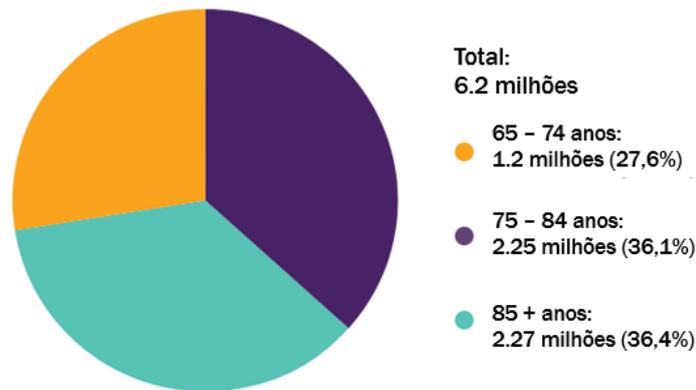
A Doença de Alzheimer (DA) se refere a uma demência com início e curso de declínio cognitivo e funcional específico associado à idade. Definida como DA em homenagem ao psiquiatra Alois Alzheimer, que percebeu a perda de neurônios e a formação de placas amilóides durante exames de um paciente que sofria com frequentes lapsos de memória, distúrbio cognitivos, mudanças comportamentais e delírios, esta foi descrita como uma doença grave do córtex cerebral (LOPEZ; GONZÁLEZ; LÉGER, 2019).

De acordo, com a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2021) existem mais de 55 milhões de pessoas vivendo com demência no mundo, surgindo cerca de 10 milhões de casos novos no mundo. Essa resulta de diversas doenças e lesões que afetam o cérebro de maneira direta ou indireta, sendo a DA o tipo mais comum de demência, contribuindo para 60-70% dos casos (OMS, 2021). Acredita-se que em uma margem de 2 milhões de pessoas acometidas com algum tipo de demência, 40% a 60% são DA (SOCIEDADE BRASILEIRA DE GERIATRIA E GERONTOLOGIA, 2019).

A cada 3 idosos, 1 morre de DA ou por alguma outra demência, sendo a DA capaz de matar mais do que o câncer de mama e de próstata juntos. Entre os anos 2000 e 2019 observou-se que as mortes ocasionadas pela DA ou por complicações advindas desta, aumentaram em 145,2% (figura 2). Além disto, observa-se também que uma em cada nove pessoas com 65 anos ou mais são acometidas pela demência tipo DA, sendo estimado que no ano de 2050, o número de indivíduos com 65 anos ou mais acometidos pela DA, seja de 12,7 milhões (figura 1). Outro fato analisado é que 60% das pessoas de 70 anos acometidas com DA, devem morrer antes dos 80 anos, em comparação com 30% de indivíduos sem DA (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2021).

**Figura 1 – Número e idade de pessoas com 65 anos ou mais com Doença de Alzheimer, 2021.** Infográfico sobre a quantidade de indivíduos, separados por idades, acometidos pela DA.

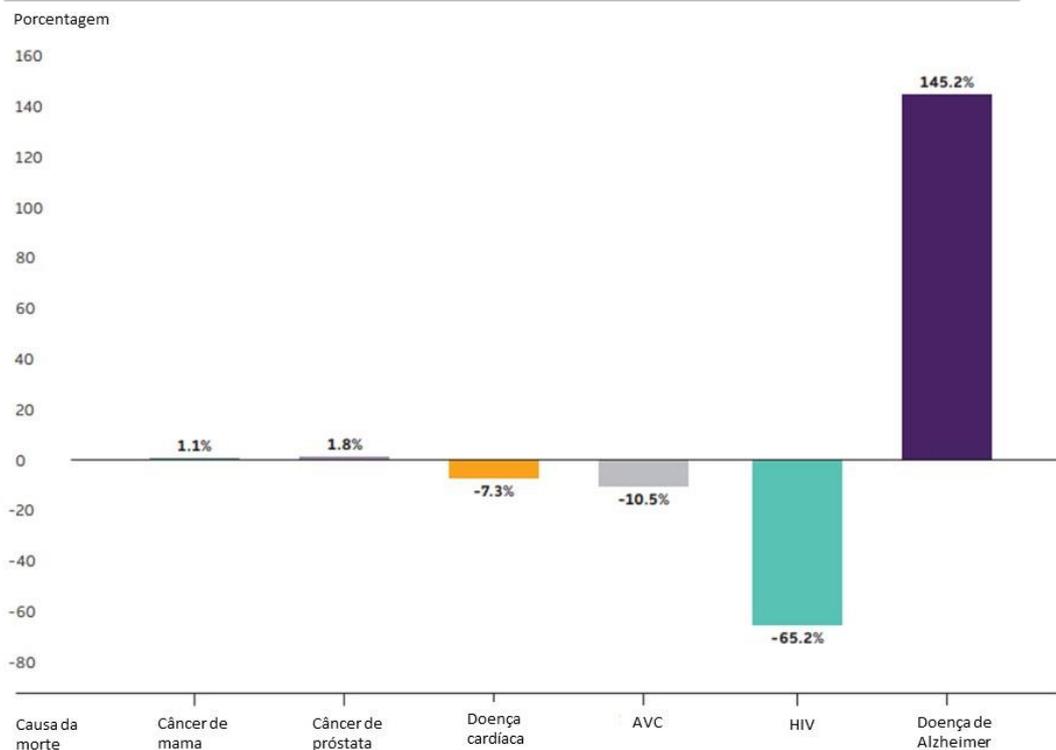
**Número e idade de pessoas com 65 anos ou mais com Doença de Alzheimer, 2021**



Fonte: adaptado de Alzheimer's Association (2021).

**Figura 2 – Mudança percentual em causas de morte selecionadas (todas as idades) entre 2000 e 2019.** Gráfico informando sobre a alteração no percentual em causas de mortes selecionadas comparadas com a DA, entre os anos de 2000 – 2019.

**Mudança Percentual em Causas de Morte Selecionadas (Todas as Idades) Entre 2000 e 2019**



Fonte: adaptada de Alzheimer's Association (2021).

A demência da DA refere-se a um determinado início e curso do declínio cognitivo e funcional associado à idade (ASSOCIAÇÃO INTERNACIONAL DE ALZHEIMER, 2019). Esta pode ser descrita como uma doença neurodegenerativa de progressão lenta, determinada pela formação de ENFs e de placas neuríticas como consequência do metabolismo anormal e do acúmulo das proteínas T-Tau, P-Tau e A $\beta$ -42, na região do lobo temporal medial e nas estruturas neocorticais (BREIJYEH; KARAMAN, 2020). Deste modo a DA é caracterizada como uma doença de proteinopatia dupla definida por um padrão de placas A $\beta$  intraparenquimatosas difusas e neuríticas intracitoplasmáticas, inicialmente. Posteriormente, é definida por ENFs extracelulares com perda neuronal e gliose (ATRI, 2019).

### **2.1.2 Classificação e fatores de risco da DA**

As fases clínicas da DA podem ser classificadas em fase pré-clínica, ou pré-sintomática, caracterizada pela perda de memória de maneira leve e pelas mudanças no hipocampo e no córtex cerebral, esta fase pode durar anos e não causa prejuízo nas atividades diárias do paciente, nem apresenta sinais e sintomas clínicos. O estágio inicial ou leve da DA é caracterizada pelo surgimento de diversos sintomas, como dificuldade nas atividades diárias devido a perda de memória e concentração, desorientação quanto ao tempo e ao lugar, mudanças de humor de a possibilidade de desenvolvimento de depressão. O estágio moderado da DA refere-se a etapa em que há o espalhamento da DA doença para o córtex cerebral, resultando no aumento da perda de memória, perda do controle de impulsos, dificuldade para falar, ler e escrever. A fase grave da DA abrange a disseminação da doença para todo o córtex cerebral, havendo um acúmulo de ENFs e de placas neuríticas, acarretando no comprometimento funcional e cognitivo de modo progressivo, podendo levar a eventual morte do paciente devido a complicações (figura 3) (BREIJYEH; KARAMAN, 2020).

**Figura 3 – Estágios e sintomas da DA.** Fluxograma sobre os sintomas da DA de acordo com cada estágio da doença.



Fonte: adaptada de Alzheimer's Association (2021).

A DA apresenta variados fatores de risco para o seu desenvolvimento, entretanto os fatores genéticos são os que mais acometem os indivíduos portadores desta doença. A DA precoce normalmente ocorre devido a mutações nos genes da proteína percussora amiloide (PPA), a presinilina-1 (PSEN1) e presinilina-2 (PSEN2), já a forma tardia da DA está associada a um polimorfismo no gene Apolipoproteína E (APOE), em especial no alelo  $\epsilon 4$ . Foram encontradas mais de 30 mutações dominantes no gene PPA que se associam com cerca de 15% dos casos de início de atividade da DA autossômica dominante. Além disso foi-se observado que as mutações nos genes PSEN1 estão relacionados com 80% dos casos de DA inicial e que 5% dos casos associam-se com mutações no gene PSEN2 (SILVA *et al*, 2019).

Majoritariamente, as mutações dos genes APP, assim com as mutações no gene PSEN1, levam ao aumento da razão  $A\beta$ -42 /  $A\beta$ -40, seja por aumento da expressão de  $A\beta$ -42, ou redução de  $A\beta$ -40. Esta desregulamentação nos níveis da proteína  $A\beta$ , favorece o acúmulo de  $A\beta$  no cérebro, contribuindo para a cascata amiloidogênica. O gene APOE apresenta o alelo  $\epsilon 4$  como o principal fator de risco para a o desenvolvimento de DA, uma vez que a presença deste alelo aumenta em 3 vezes o risco de desenvolvimento da doença, e em homozigose eleva o risco em até 12 vezes. A APOE tem a capacidade de se ligar ao peptídeo  $A\beta$ , entretanto o APOE4 liga-se a  $A\beta$  e promove sua polimerização de deposição no tecido cerebral, enquanto a APOE2 e APOE3 são capazes de reduzir sua deposição, através da depuração deste peptídeo, apresentando um desempenho melhor como neuroprotetores. Apesar disto, os fragmentos de APOE, quando gerados por

protease, apresentam efeitos tóxicos e levam a lesões neuronais e a deposição de A $\beta$  (SILVA *et al*, 2019).

Além dos fatores de risco genéticos, também existem fatores de risco adquiridos para a DA, tais como doenças cerebrovasculares, hipertensão, diabetes, obesidade, dislipidemias, idade, entre outros (SILVA *et al*, 2019). Além disto, também pode-se citar fatores ambientais como a qualidade do ar, exposição ocupacional a metais pesados e outros metais, entre outros fatores (ARMSTRONG, 2019).

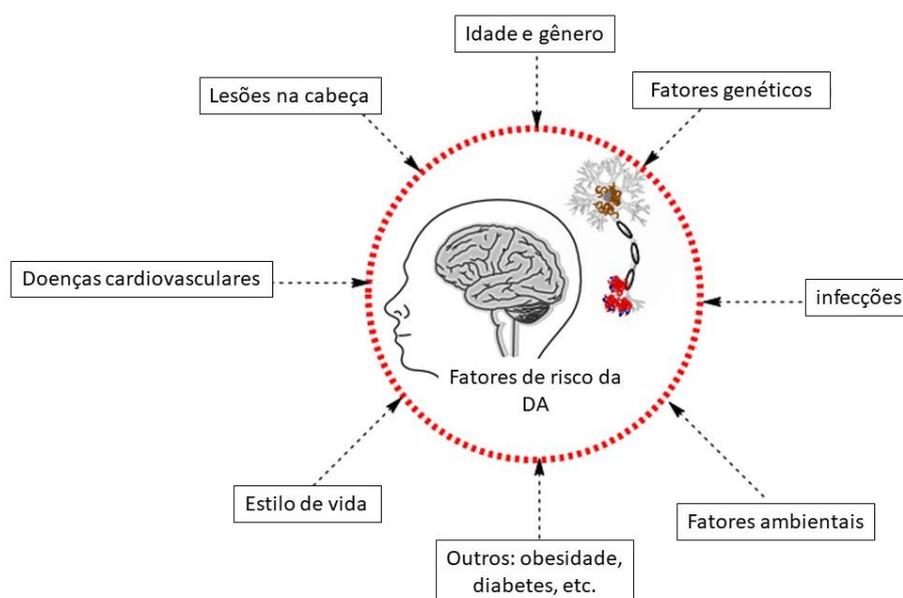
A idade é um dos fatores de risco mais importantes quando se refere a declínio cognitivo e DA. Em idades mais avançadas, a prevalência de indivíduos acometidos por DA é 19% com idade entre 75 e 84 anos e 35%-50% com 85 anos ou mais. Como um processo normal do envelhecimento, é possível encontrar o cérebro de indivíduos normais com uma redução de volume e peso relacionada a idade, perda de sinapses e dendritos em algumas áreas do cérebro acompanhadas pela formação de placas senis e de ENFs. Diante disto, quando há a presença de placas senis no cérebro de indivíduos com mais de 55 anos, é sugestivo de uma mudança patológica para a DA (ARMSTRONG, 2019).

Além da idade, lesões traumáticas no cérebro também são fatores de risco para o desenvolvimento de DA. É possível observar PPA em células neuronais e em neurites distróficas ao redor de depósitos A $\beta$ , como observados na DA, em indivíduos que sobreviveram a lesões na cabeça (ARMSTRONG, 2019). Outros fatores de riscos, ainda incertos, são referentes à dieta e a doenças vasculares. Foi observado que diabetes, obesidade, dislipidemias e hipertensão afetam negativamente na performance cognitiva dos indivíduos com idades mais avançadas, levando ao acúmulo de proteínas A $\beta$  no tecido cerebral e na indução da hiperfosforilação da proteína tau, levando a formação de ENFs (SILVA *et al*, 2019; ARMSTRONG, 2019).

Desta forma, percebe-se que a DA é uma doença multifatorial, não sendo uma doença diretamente ligada a genes defeituosos, mas sim uma síndrome complexa que depende do envelhecimento e é indiretamente influenciada por vários fatores de riscos genéticos e ambientais e pela saúde geral do indivíduo, de modo

que qualquer fator que influencie na saúde humana pode se tornar um fator de risco potencial para a doença (figura 4) (ARMSTRONG, 2019).

**Figura 4 – Fatores de risco da DA.** Diagrama esquemático sobre os fatores de risco multifatoriais para o surgimento da DA.



Fonte: adaptada de Breijyeh e Karaman (2020).

O diagnóstico da DA tem sido um desafio desde que foi descoberto por Alois Alzheimer no início do século 20, sendo considerada uma doença essencialmente clínica, seu diagnóstico era confirmado apenas com estudos histopatológicos post-mortem (LLORET *et al*, 2019). No entanto, quanto mais se tem conhecimento acerca da fisiopatologia da DA, se faz necessário um diagnóstico mais específico e preciso desta doença, pois um diagnóstico incerto, resulta em atrasos e potencialmente prejudiciais no recebimento dos cuidados necessários (LLORET *et al*, 2019; ATRI, 2019). Por conseguinte, os cientistas têm procurado biomarcadores no organismo humano capazes de auxiliar como ferramentas no diagnóstico confirmatório da DA (LLORET *et al*, 2019).

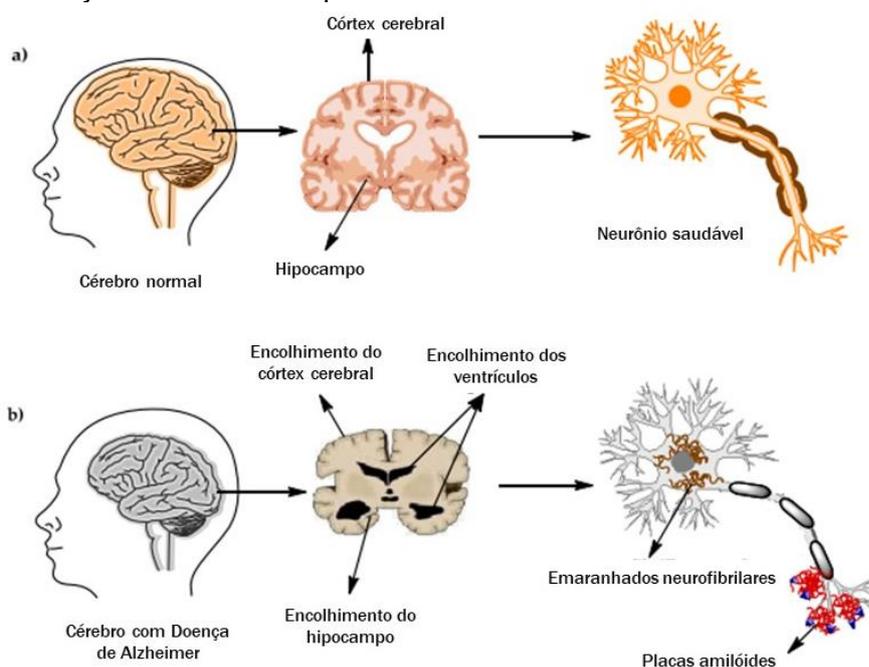
## 2.2 Fisiopatologia da DA

A DA é patologicamente caracterizada por duas principais lesões no cérebro, os ENFs e as placas amilóides, estas são respectivamente compostas, principalmente, por P-Tau e por peptídeos A $\beta$  (figura 5) (NASERI *et al*, 2019). Estas

lesões associam-se com a perda de neurônios e sinapses, ocasionando déficits na cognição do indivíduo e, eventualmente, demência, caracterizando o processo patológico desta doença neurodegenerativa (CONGDON; SIGURDSSON, 2018).

Existem dois tipos de mudanças neuropatológicas na DA, incluindo lesões positivas, devido ao acúmulo de placas amilóides, ENFs, fios neuropilares, neurites distróficas, entre outros depósitos encontrados no cérebro de indivíduos acometidos pela DA. Além disto, existem as lesões negativas, relacionadas às perdas sinápticas, neuronais e de neurótipos, ocasionando uma atrofia no cérebro (figura 5). Outros fatores que podem originar a neurodegeneração são a neuroinflamação, lesão de neurônios colinérgicos e stress oxidativo (BREIJYEH; KARAMAN, 2020).

**Figura 5 – estrutura fisiológica do cérebro e dos neurônios.** Diagrama esquemático sobre a estrutura fisiológica do cérebro e dos neurônios no (a) cérebro saudável e (b) no cérebro com DA. Demonstrando a diferença estrutural sofrida no cérebro acometido pela DA, como encolhimento do córtex cerebral, do hipocampo e dos ventrículos, bem como a formação de ENFs e de placas amilóides.



Fonte: adaptada de Breijyeh e Karaman (2020).

A maioria das formas de DA ocorrem de maneira, aparentemente, esporádica, entretanto mutações nos genes PSEN1, PSEN2 e APP podem resultar em uma forma rara de DA familiar, que acomete cerca de 0,5% dos indivíduos.

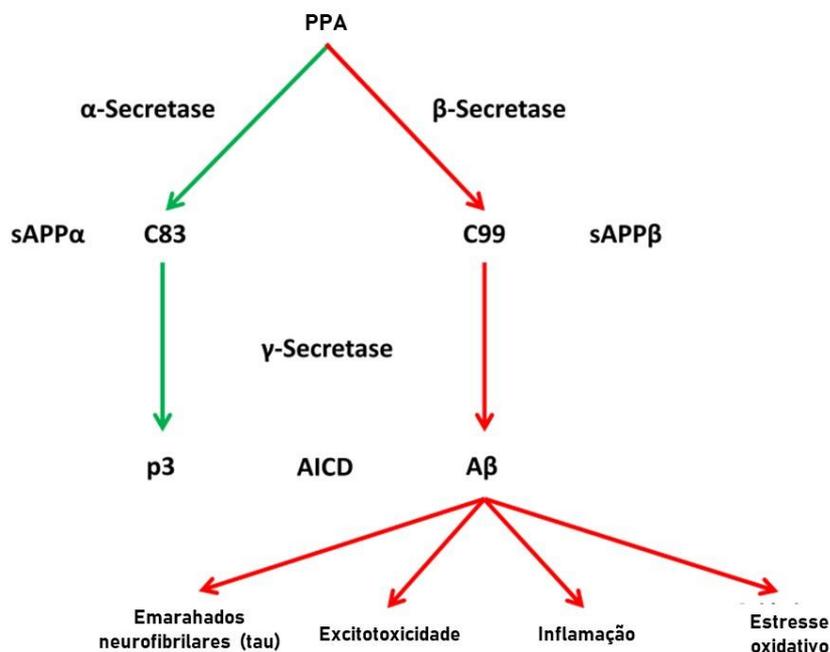
Nesta forma da doença, os sintomas se desenvolvem entre os 30 e 50 anos de idade, mais cedo do que na DA esporádica (LANE; HARDY; SCHOTT, 2017).

As características cardinais da patologia da DA são os ENFS e as placas amilóides, sendo também observados fios de neurópilos, neurites distróficas, ativação microglial levando a astrogliose associada a neurodegeneração, além da observação de angiopatia amilóide cerebral. Deste modo, esses processos patológicos incluem a neurodegeneração com perdas sinápticas e neuronais, resultando em uma atrofia macroscópica cerebral. As placas amilóides consistem em acumulações extracelulares composta de A $\beta$  dobrado anormalmente com 40 ou 42 aminoácidos, sendo os dois subprodutos do metabolismo do PPA. A deposição amiloide não segue um padrão de progressão, mas, de modo geral, se desenvolve no isocórtex e posteriormente afeta as estruturas subcorticais. Os ENFs são compostos por filamentos helicoidais emparelhados que consistem em P-Tau, começando no córtex entorrinal e hipocampo (LANE; HARDY; SCHOTT, 2017).

A perda sináptica e da plasticidade sináptica são os fatores centrais para as manifestações clínicas da DA, resultando no declínio cognitivo e no déficit da capacidade de criar e armazenar novas memórias, sendo a marca clínica inicial para a doença. Esta perda sináptica e de espinhas dendríticas, associa-se a remoção de A $\beta$  de receptores pós-sinápticos, os quais são uma ligação entre a plasticidade funcional e estrutural, sendo necessários para a formação de memórias (LOPEZ; GONZÁLEZ; LÉGER, 2019).

As placas senis são depósitos extracelulares da proteína A $\beta$  com diferentes formas morfológicas. As enzimas de clivagem proteolítica, como  $\gamma$ -secretase e  $\beta$ -secretase, são responsáveis pela biossíntese de depósitos amiloides da PPA. Estas enzimas dividem a PPA em diversos fragmentos de aminoácidos, atingindo as formas finais A $\beta$ -40 e A $\beta$ -42 (figura 6). Existem diversos monômeros de A $\beta$ , incluindo grandes e insolúveis fibrilas amilóides que podem se acumular, resultando na formação de placas amilóides e oligômeros solúveis capazes de se espalharem por todo o cérebro. A A $\beta$  possui um papel importante na neurotoxicidade e na função neural, portanto, a acumulação de placas mais densas no hipocampo, no córtex e na amígdala, é capaz de estimular os astrócitos e a microglia, ocasionar danos aos axônios, dendritos e perdas sinápticas (BREIJYEH; KARAMAN, 2020).

**Figura 6 – Biossíntese dos peptídeos A $\beta$ -40 e A $\beta$ -42.** Fluxograma demonstrando a biossíntese de A $\beta$ -40 e A $\beta$ -42 a partir da clivagem de PPA, pela ação das enzimas  $\gamma$ -secretase e  $\beta$ -secretase.



Fonte: adaptada de Lopez; González; Léger (2019).

Os ENFs consistem em filamentos anormais da proteína P-Tau, os quais, em alguns estágios da doença, podem ser torcidos um ao redor do outro para formar um filamento helicoidal emparelhado, acumulando-se nos axônios e dendritos, resultando na perda de microtubos citoesqueléticos e de proteínas tubulinas associadas. A evolução da P-Tau reflete as fases morfológicas dos ENFs, incluindo a fase de pré-tangulação, um tipo de ENF na qual as proteínas P-Tau acumulam-se em compartimentos somatodendrítico sem ocasionar a formação de um filamento helicoidal emparelhado; ENFs maduros, caracterizados pela agregação de filamentos da P-Tau com deslocamento do núcleo para a parte periférica do soma; fase dos emaranhados extracelulares, ou estágio do ENF fantasma, o qual resulta de uma perda neuronal ocasionada devido a grandes quantidades de proteína tau filamentosa com resistência parcial a proteólise (BREIJYEH; KARAMAN, 2020).

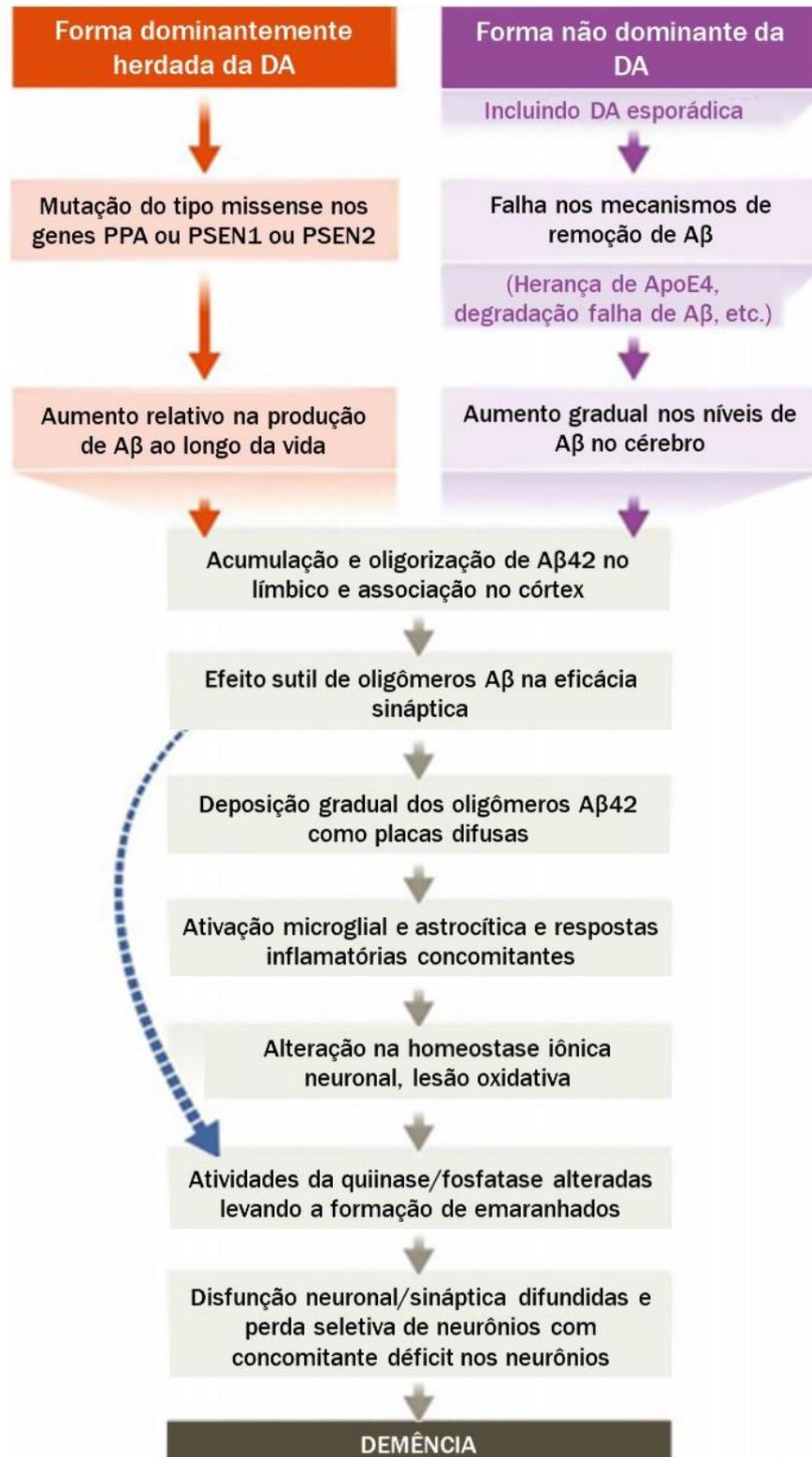
A causa da DA se mantém controversa e não é compreendida por completa. Os modelos principais postulam um papel central do acúmulo de formas neurotóxicas de A $\beta$  nas sinapses, induzindo microglias e cascatas inflamatórias, assim como disfunção mitocondrial, estresse oxidativo, anormalidades iônicas e neurotransmissoras, hiperfosforilação da proteína tau (estabilizadora de

microtúbulos), resultando na formação de ENFs. Os processos patológicos mediados pela Tau ocasionam mais destruição e disfunção sináptica e neuronal, causando a disfunção cortical (ATRI, 2019).

Existem duas hipóteses acerca da patogenia da DA, a hipótese amilóide e a hipótese colinérgica. A hipótese amilóide, é a teoria prevalente da DA e sugere que a acumulação de formas patológicas de A $\beta$ , derivada da clivagem de APP pelas enzimas  $\gamma$ -secretase e  $\beta$ -secretase no cérebro, é o principal processo patológico conduzido através de um desequilíbrio entre a produção e a degradação de A $\beta$ , uma vez que este processo é diminuído por fatores como idade e condições patológicas. A formação de ENFs e subsequentes neurodegeneração e disfunção neuronal, possivelmente mediados por inflamação, são considerados processos a jusante. Um forte apoio no papel central para A $\beta$  vem da genética, todas as mutações envolvidas no processamento de A $\beta$  ocasionam a superprodução relativa de A $\beta$  tóxicos (LANE; HARDY; SCHOTT, 2017).

O aumento da razão A $\beta$ 42 / A $\beta$ 40 induz a formação de fibrilação amilóide, resultando em neurotoxicidade e indução da patologia tau, levando a morte de células neuronais e a neurodegeneração (BREIJYEH; KARAMAN, 2020). Assim sendo, A $\beta$  fibrilar dentro de placas de núcleo denso foi originalmente considerado crítico para o desenvolvimento da doença, sendo a forma de oligômeros solúveis considerada a forma mais patológica, pois estes purificados a partir de cérebros com DA e aplicados a neurônios in vitro causam disfunção sináptica, danificam as espinhas dendríticas e causam morte neuronal. Estes oligômeros humanos induzem a hiperfosforilação da proteína Tau em epítomos relevantes para DA, causando neurite distrófica nos neurônios cultivados. Estas placas podem, portanto, funcionar como um reservatório no qual os oligômeros se difundem, ou funcionar como um mecanismo de proteção que sequestra A $\beta$  tóxica até atingirem saturação fisiológica (figura 7) (LANE; HARDY; SCHOTT, 2017). Fatores de risco da DA e mutações nos genes APP, PSEN1 e PSEN2, afetam o catabolismo e o anabolismo A $\beta$ , provocando o acúmulo de A $\beta$  e uma rápida progressão da neurodegeneração (figura 7) (BREIJYEH; KARAMAN, 2020).

**Figura 7 – Hipótese amilóide da fisiopatologia da DA.** Fluxograma sobre a hipótese amilóide da DA diferenciando a forma herdada dominante da DA ocasionada pela mutação nos genes PPA, PSEN1 e PSEN2, da forma não dominante e esporádica da DA, resultante de falha nos mecanismos de remoção A $\beta$ .



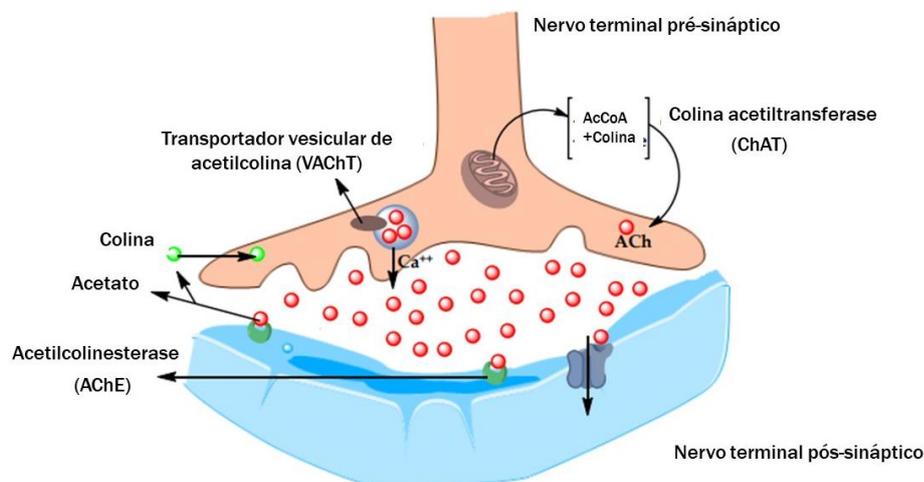
Fonte: adaptada de Lane; Hardy; Schott (2017).

A hipótese colinérgica se deve ao papel essencial da acetilcolina (ACh) na função cognitiva. A ACh é sintetizada no citoplasma dos neurônios colinérgicos e transportada para as vesículas sinápticas por um transportador vesicular de acetilcolina (VACHT). No cérebro, a ACh está envolvida em diversos processos fisiológicos, como aprendizagem, atenção, informação sensorial, memória, entre outras funções cognitivas. A degeneração dos neurônios colinérgicos se faz presente na DA, ocasionando perda de memória e alternância na função cognitiva. Acredita-se que a neurotransmissão colinérgica é afetada pelo peptídeo A $\beta$ , resultando na redução da absorção de colina e na liberação de ACh. A perda sináptica amilóide e a formação de fibrilação amilóide relacionam-se com a neurotoxicidade de oligômeros A $\beta$  e com as interações entre o peptídeo A $\beta$  e a ACh (BREIJYEH; KARAMAN, 2020).

Outros fatores contribuintes para a progressão de DA são a redução de receptores de ACh nicotínicos e muscarínicos, localizados em terminais colinérgicos pré-sinápticos, e o déficit na neurotransmissão de aminoácidos excitatórios (EAA), nos quais a concentração de glutamato e a absorção de D-aspartato é significativamente reduzida nas áreas corticais de cérebros acometidos por DA. Assim sendo, esta hipótese baseia-se na redução de marcadores colinérgicos pré-sinápticos no córtex cerebral; na neurodegeneração grave do núcleo basal de Meynert no proencéfalo basal, o qual é a fonte de inervação colinérgica cortical; e no papel dos antagonistas colinérgicos no declínio da memória em comparação com os agonistas, que possuem efeito oposto (BREIJYEH; KARAMAN, 2020). Estudos demonstram que terapias anticolinérgicas prejudicam a memória e que o cérebro de pessoas com DA revela um esgotamento das enzimas responsáveis pelo desenvolvimento de ACh, assim sendo esta hipótese propõem que a deficiência de ACh é responsável pelo desenvolvimento de DA, sendo a gravidade da demência diretamente relacionada com a degeneração dos neurônios colinérgicos (figura 8). Entretanto esta hipótese é criticada devido à falta de eficácia de tratamentos utilizando inibidores de acetilcolinesterase para a DA (WOLINSKY; DRAKE; BOSTWICK, 2018).

### Figura 8 – Síntese e transporte de acetilcolina entre os nervos sinápticos.

Diagrama esquemático sobre os caminhos para síntese e transporte de ACh do nervo pré-sináptico para o nervo pós-sináptico. A AChE age inativando ação do neurotransmissor, aumentando os níveis de ACh presente nos nervos sinápticos.



Fonte: adaptada de Breijyeh; Karaman (2020).

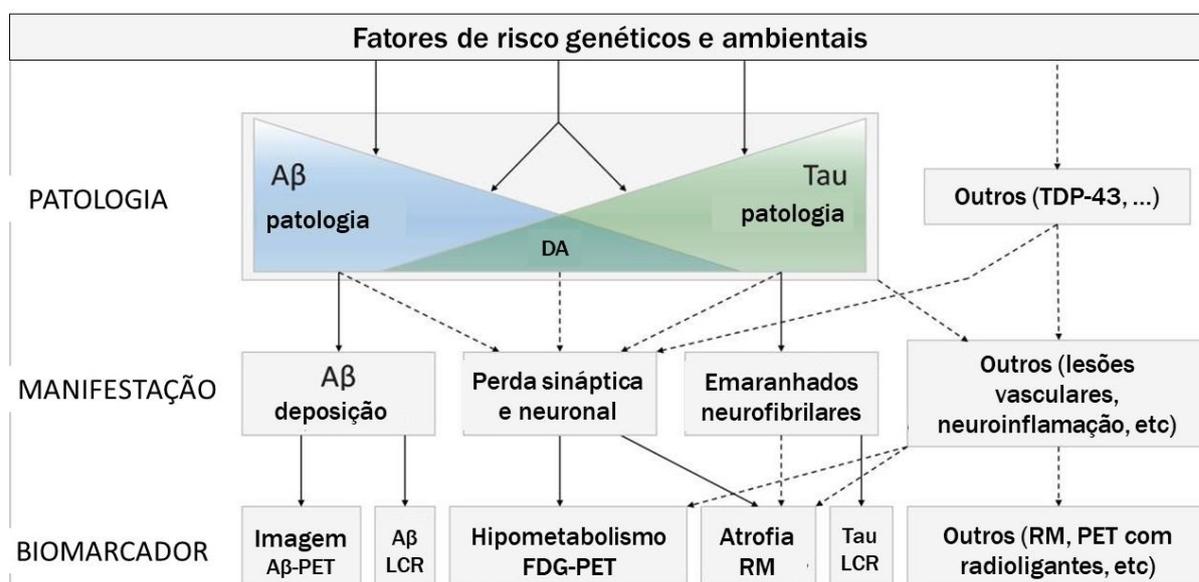
## 2.3 Diagnóstico da DA

Tem-se a DA como uma das principais causas de demência, entretanto apesar de anos de progresso nas pesquisas e nas técnicas modernas de imagem cerebral, o diagnóstico diferencial e específico da DA ainda se mantém difícil, principalmente na diferenciação da DA das diversas outras doenças neurodegenerativas causadoras de demência. Além disto, o início insidioso da DA e a sobreposição dos sintomas das neuropatologias, torna diagnóstico confirmatório praticamente impossível, tendo em vista a dificuldade de diferenciação da DA de outras demências no estágio inicial (HANE *et al*, 2017).

No ano de 1984 foi estabelecido um critério de diagnóstico clínico para a DA, pelo *The National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke* (NINCDS) e pelo *Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* (ADRDA). A partir disto, os critérios definidos incluem: DA provável, diagnosticada pela demência confirmada por testes neurológicos, perda de memória progressiva e outros sintomas como deficiência na realização de atividades diárias, deficiência na fala, desordem das capacidades motoras e perda da percepção; DA possível, a qual pode ser aplicada na ausência de desordens neurológicas ou psicológicas, e na presença de outra doença como desordem sistêmica ou cerebral, porém não são a

causa primária da DA; DA definitiva, confirmada por estudos histopatológicos obtidos por biópsia ou autópsia do tecido cerebral. Posteriormente, foram definidos novos critérios para um diagnóstico mais específico e sensível, através da utilização de biomarcadores, divididos em duas categorias, marcadores de amilóide cerebral por tomografia por emissão de pósitrons (PET) e no LCR e marcadores de injúria cerebral, como a proteína tau, assim como a utilização de ressonância magnética para análise da atrofia cerebral (figura 9) (BREIJYEH; KARAMAN, 2020).

**Figura 9 – Fatores de risco genéticos e ambientais.** Modelo hipotético sobre as ligações entre os principais biomarcadores da DA e os processos neuropatológicos subjacentes. Nesta perspectiva, as patologias Tau e A $\beta$  são influenciadas por fatores genéticos e ambientais, interagindo e ocasionando a DA.



Fonte: adaptado de Chételat (2018).

A DA normalmente tem seu diagnóstico confirmado no processo final da doença, ou seja, em estudos neurológicos *post mortem*. O diagnóstico de demência inicia-se com a percepção de sintomas graduais cognitivos ou comportamentais que interferem na capacidade de realização de atividades diárias, sendo inexplicáveis devido a um transtorno psiquiátrico ou delírios. Deste modo, o diagnóstico de demência é dado após análise do histórico clínico e da realização de testes de função cognitiva, como o Mini Exame do Estado Mental (MMSE) e o *Montreal Cognitive Assessment* (MoCA), devendo incluir deficiência de pelo menos dois domínios, como raciocínio prejudicado, capacidade de lembrar novas informações,

função de linguagem prejudicada, mudanças comportamentais e habilidades visoespaciais. concluindo-se o diagnóstico como provável DA (HANE *et al*, 2017). Entretanto, embora a memória deficiente possa sugerir a presença de demência, se faz necessária testes neuropsicológicos mais aprofundados para isolar a demência da DA (WOLINSKY; DRAKE; BOSTWICK, 2018).

Além dos testes cognitivos e análise do histórico médico e familiar, se faz necessário a análise laboratorial, sendo feitos hemogramas rotineiramente com o intuito de excluir outras condições que podem contribuir para os sintomas cognitivos, sendo feito além do hemograma, avaliação da função renal e da tireóide e avaliação dos níveis séricos de folato e vitamina B12 (LANE; HARDY; SCHOTT, 2017). A deficiência desta vitamina está associada a problemas neurológicos e aumento dos riscos da DA. Um marcador especial da deficiência de vitamina B12 é os níveis elevados da homocisteína, a qual pode ocasionar danos cerebrais por estresse oxidativo, influxo de cálcio e apoptose (BREIJYEH; KARAMAN, 2020).

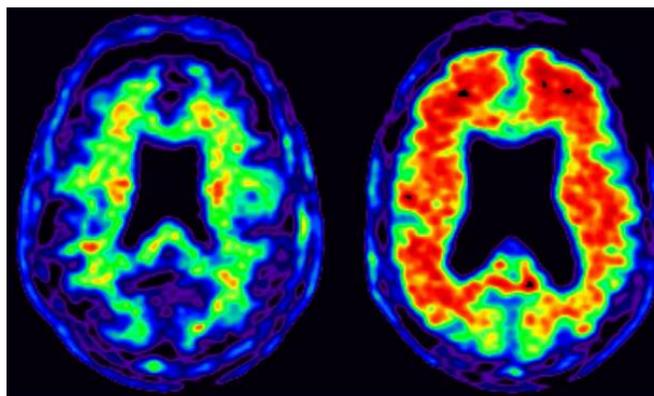
O diagnóstico definitivo da DA requer a avaliação do tecido cerebral *post-mortem*, entretanto biomarcadores do LCR e da PET, combinados com critérios de avaliação clínica, são capazes de realizar o diagnóstico em pacientes ainda vivos (WELLER; BUDSON, 2018).

Diante disto, outro método diagnóstico para a DA é a neuroimagem, que também permite a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos da doença. Esta contribui para os avanços no diagnóstico através de três marcadores de neuroimagem estabelecidos para a doença, como hipometabolismo temporoparietal, atrofia hipocampal e deposição cortical A $\beta$ . Entretanto ainda se fazem necessários avanços para compreender como estes biomarcadores devem ser combinados nas diferentes fases da doença, sendo necessário, também, biomarcadores mais refinados para aumentar a sensibilidade e a especificidade do diagnóstico, principalmente no que tange os estágios iniciais da doença (CHÉTELAT, 2018).

O desenvolvimento do diagnóstico não invasivo de imagiologia, resultou em um teste que aumenta a precisão do diagnóstico de DA. A aplicação de uma injeção de um agente marcador radioligante, como o florbetapir, em pacientes submetidos ao exame PET, permite a detecção do acúmulo de peptídeos A $\beta$  em

placas no cérebro vivo, apresentando uma sensibilidade de 96% e 100% de especificidade (figura 10). No entanto, a utilização do exame PET na prática ainda é limitada, tendo vista seu alto custo de realização (WELLER; BUDSON, 2018).

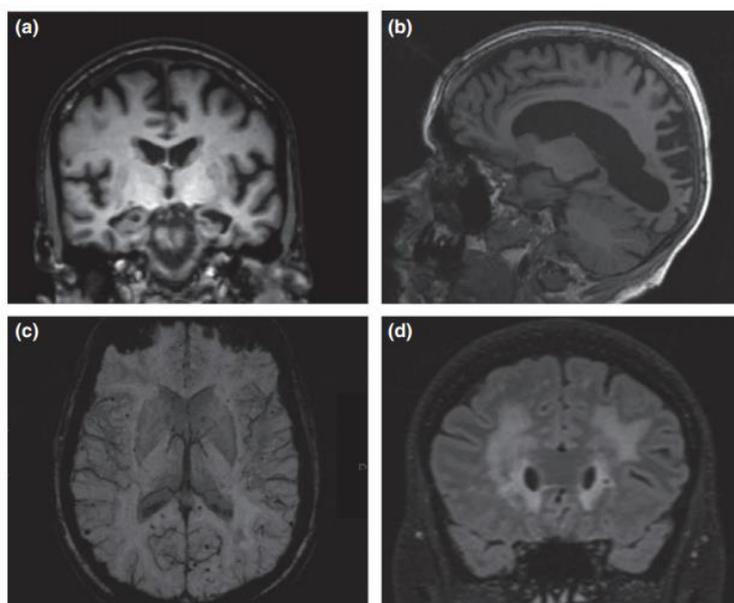
**Figura 10 - Tomografia A $\beta$ -PET com florbetapir vista em um cérebro controle saudável (esquerdo) e em um cérebro com DA (direito).** As cores quentes indicam alta acumulação amilóide. Para propósitos clínicos o florbetapir é lido em escalas de cinza.



Fonte: Lane; Hardy; Schott (2017).

No que tange os biomarcadores de neuroimagem cerebral, a atrofia hipocampal é reconhecida como um biomarcador precoce da DA, porém não é específico, uma vez que esta também é observada em outras situações, como no envelhecimento normal e em outras neuropatologias degenerativas (figura 11). Assim sendo, estudos demonstram que a volumetria do subcampo do hipocampo é mais específica para DA do que a volumetria do hipocampo global, ilustrando a relação entre a volumetria do subcampo hipocampal e os déficits de memória em pacientes com CCL. Através da tecnologia da PET, é possível mostrar o envolvimento diferencial dos subcampos do hipocampo na DA, CCL e envelhecimento normal (CHÉTELAT, 2018).

**Figura 11 – Neuroimagens de RM.** (a) Imagens de RM mostrando características de atrofia hipocampal na DA; (b) atrofia parieto-occipital em um caso de atrofia posterior cortical; (c) pequenas hemorragias; (d) extensos hiperintensos de matéria branca periventricular e subcortical.



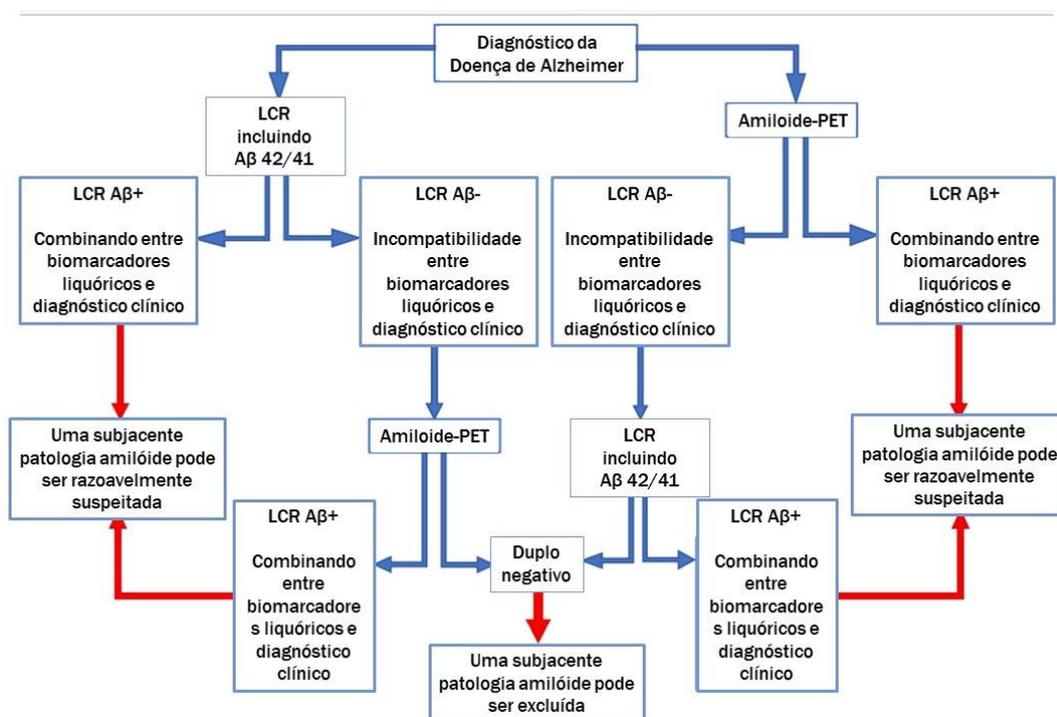
Fonte: Lane; Hardy; Schott (2017).

Outro exame diagnóstico que pode ser utilizado para excluir causas raras e reversíveis do CCL e para realizar um diagnóstico molecular da DA é a análise de biomarcadores líquóricos. O padrão típico do LCR na DA é representado por níveis reduzidos do peptídeo A $\beta$  e níveis elevados de T-Tau e P-Tau, o qual também permite, além do diagnóstico de DA, prever quais indivíduos que apresentam CCL evoluirão para DA (LANE; HARDY; SCHOTT, 2017).

Os principais biomarcadores da patologia da DA incluem 42 isoformas de aminoácidos A $\beta$  (A $\beta$ 1-42) e a razão A $\beta$ 42/40, as quais espelham a acumulação de A $\beta$  no tecido cerebral, assim como T-Tau e P-Tau líquóricos para avaliar a perda neuronal e a formação de ENFs. A patologia A $\beta$  também pode ser detectada *in vivo* pela tomografia PET, usando A $\beta$  radioligantes, como Florbetaben, Florbetapir, Pittsburgh compound-B (PIB) e Flutemetamol, permitindo a visualização da deposição A $\beta$  no cérebro (figura 12). A concordância com o diagnóstico clínico da A $\beta$ -PET eram mais altos do que a A $\beta$ 1-42, mas não eram mais altos do que a análise da razão A $\beta$  40/42, a qual aumenta a acurácia e sensibilidade do diagnóstico. No

entanto, a análise isolada de A $\beta$ 1-42 pode resultar em falsos negativos, uma vez que seus níveis são influenciados por diversos fatores (GIACOMUCCI *et al*, 2021).

**Figura 12 – Fluxograma para uso e interpretação de biomarcadores amilóides de acordo com a suspeita clínica.** Indicação para interpretação de marcadores amilóides em casos de um diagnóstico clínico de DA.



Fonte: adaptada de Giacomucci *et al* (2021).

Tendo em vista que diversos indivíduos exibem alterações neuropatológicas relacionadas à DA após a morte, mesmo sem apresentarem quaisquer sintomas significativos de demência *antemortem* e que a patologia amilóide acumula-se em indivíduos assintomáticos, não é indicado a aplicação de testes de avaliação dos biomarcadores líquóricos ou exame PET de maneira isolada para o diagnóstico da DA. Isso se dá devido a possibilidade de diagnosticar DA sem sintomas de demência por baixa memória e imagens ou pela deposição amilóide na avaliação de biomarcadores do LCR. Entretanto observa-se sintomas de demência como redução de memória em outras neuropatologias, o que torna os biomarcadores líquóricos como o único critério para o diagnóstico (HANE *et al*, 2017).

Apesar de apresentar boa sensibilidade e especificidade no diagnóstico da DA, o uso clínico de biomarcadores líquóricos e de PET não é indicado para a maioria dos indivíduos sintomáticos para incluir ou excluir a doença. Esses testes

são voltados para síndromes atípicas com progressão rápida, ou para síndromes com início precoce, ou em casos de avaliação inconclusiva. Nos casos típicos da DA, é indicado apenas a realização de uma abordagem do histórico médico e familiar, exames laboratoriais e de imagem. O diagnóstico utilizando biomarcadores requer uma avaliação clínica concomitante para a caracterização dos sintomas e do nível de comprometimento em um perfil (ATRI, 2019).

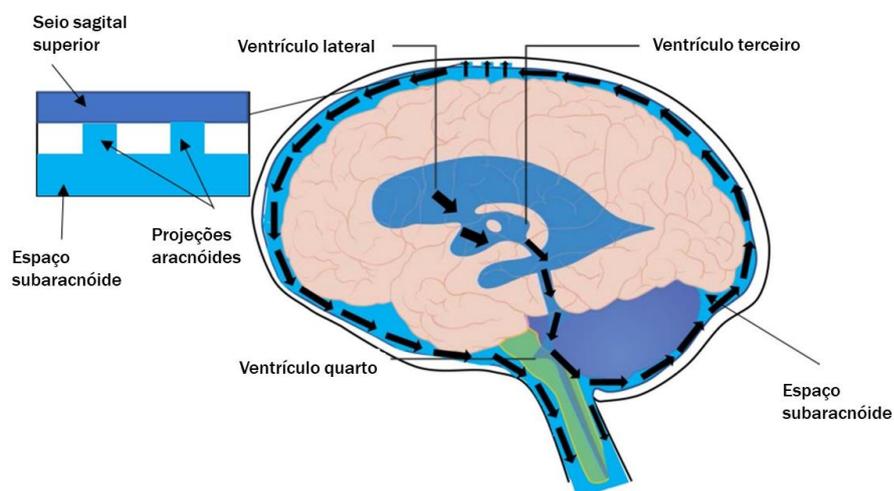
Assim sendo, as recomendações para o uso apropriado do LCR devem ser feitas no contexto das muitas outras ferramentas de diagnóstico em uso. Inicialmente se faz necessário a análise da história do paciente, focando nas mudanças na memória e comportamento do indivíduo. Além disto, se faz importante a avaliação de causas comuns e tratáveis de queixas cognitivas, como distúrbios no humor e no sono e medicamentos sedativos. Um exame neurológico pode revelar sinais de causa de demência não relacionada à DA e testes cognitivos são capazes de documentar a gravidade e o tipo do comprometimento cognitivo. Também se faz necessário a realização de exames de sangue de rotina para descartar outras causas contribuintes para o comprometimento cognitivo, além da realização de tomografia da cabeça para analisar a atrofia cerebral e a presença de doença cerebrovascular. Deste modo, se após estas avaliações o diagnóstico ainda for incerto quanto à etiologia, se faz necessário a utilização de procedimentos diagnóstico como a avaliação de biomarcadores liquóricos e A $\beta$  -PET para estreitar um diagnóstico diferencial (SHAW *et al*, 2018).

#### **2.4 Citologia do LCR e os biomarcadores liquóricos para DA**

Avanços nas técnicas diagnósticas de neuroimagem levaram a redução da utilização da punção lombar para o diagnóstico de neuropatologias. Entretanto, diversas circunstâncias clínicas ainda exigem a avaliação do LCR para o diagnóstico, pois a análise morfológica detalhada deste líquido constitui um método rápido para o rastreio de diversas doenças e para realizar um diagnóstico diferencial das mesmas. Além disto a avaliação do LCR permite orientar nas decisões terapêuticas imediatas, no controle e observação dos estágios da doença e na resposta ao tratamento. Assim sendo, a avaliação citológica do LCR, através de contagens totais e diferencias das células, fornece as primeiras informações importantes por meio de um espectro de condições patológicas envolvendo o sistema nervoso central (SNC) (RAHIMI; WOEHRER, 2018).

O LCR é secretado majoritariamente pelo plexo coróide, derivado das células endoteliais, as quais revestem o sistema ventricular. O LCR circula no sistema ventricular, passando primeiramente pelos ventrículos terceiro, quarto e lateral antes de ser reabsorvido na circulação venosa pelas granulações aracnóides nos aspectos superiores das convexidades cerebrais (figura 13) (TASHJIAN; VINTERS; YONG, 2020).

**Figura 13 – Fluxograma do fluxo do LCR.** O LCR é produzido nos ventrículos, inicialmente pelo ventrículo lateral em direção ao espaço subaracnóide. O LCR circula no espaço subaracnóide e é drenado para a medula espinal através das projeções aracnóides.



Fonte: adaptado de Bothwell; Janigro; Patabendige, 2019

O LCR atua como um fluido capaz de proteger o cérebro e a medula espinal, atuando para reduzir o peso efetivo do cérebro e protegendo este de lesões mecânicas. Além da função de proteção, o LCR serve como um mecanismo de transporte nutricional e hormonal, assim como desempenha um papel na depuração de proteínas do SNC. O equilíbrio do LCR entre composição, secreção e volume é estritamente regulado, porém este equilíbrio pode ser interrompido durante processos neuropatológicos. Desta forma, a redução da secreção do LCR em consequência do envelhecimento, favorece o aumento da deposição e acúmulo da proteína A $\beta$  e a agregação de proteínas Tau na DA (BOTHWELL; JANIGRO; PATABENDIGE, 2019).

Diferentemente dos órgãos periféricos, o cérebro não possui um sistema linfático, em vez disso, o LCR atua como um mecanismo de depuração para solutos extracelulares no SNC, conhecido como a hipótese glifática na drenagem do LCR. O transporte de LCR nos túneis perivasculares, rodeado por células astrogliais, é descrito como um mecanismo para depuração de proteínas e solutos, desta forma, este sistema apoia a interação entre o LCR e o líquido intersticial, à medida que o LCR se move do espaço subaracnóideo para o parênquima cerebral por artérias penetrantes, podendo se misturar com o líquido intersticial e drenar de volta para o sistema LCR. Este sistema, demonstra-se dependente do gene AQP4, tendo em vista que a deleção neste gene provoca a redução drástica na depuração do soluto intersticial e da proteína A $\beta$  no SNC. No contexto de neuropatologias, esta função glifática parece declinar, observando-se a redução na eliminação de A $\beta$  e na depuração prejudicada da proteína Tau (BOTHWELL; JANIGRO; PATABENDIGE, 2019). Desta forma a redução na depuração de proteínas, como A $\beta$  e Tau, pode ter implicações significativas, como o desenvolvimento de DA ou início precoce de demência (BOTHWELL; JANIGRO; PATABENDIGE, 2019; SHAPEY; TOMA; SAEED, 2019).

Isto posto, a DA apresenta três principais biomarcadores liquóricos promissores para a realização de um diagnóstico diferencial e precoce, sendo eles as proteínas A $\beta$ 42, T-Tau e P-Tau, tendo em vista que esta doença é caracterizada pelo acúmulo de placas amilóides e pelos ENFs (figura 14). Estes biomarcadores são promissores para o estabelecimento de uma abordagem médica mais personalizada, bem como para o desenvolvimento de medicamentos mais eficazes. Além disto, estes têm o potencial de serem facilmente implementados em ensaios clínicos e poderem ser analisados na mesma amostra, além de refletirem diferentes mecanismos fisiopatológicos. O LCR é uma fonte lógica para o desenvolvimento de biomarcadores na DA, devido a sua interação direta com espaço extracelular, sendo capaz de refletir as alterações fisiopatológicas associadas a doença. Dessa forma, o LCR permite a identificação de biomarcadores que não podem ser identificados pelos exames de neuroimagem. Entretanto o LCR apresenta algumas limitações, como a incapacidade de refletir patogeografias regionais do cérebro, invasividade do exame, incapacidade de coletar amostras de grandes populações para medidas em

série, desenvolvimento e validação dos ensaios de LCR, lacunas educacionais sobre a segurança na punção lombar e utilidade clínica (MOLINUEVO *et al*, 2018).

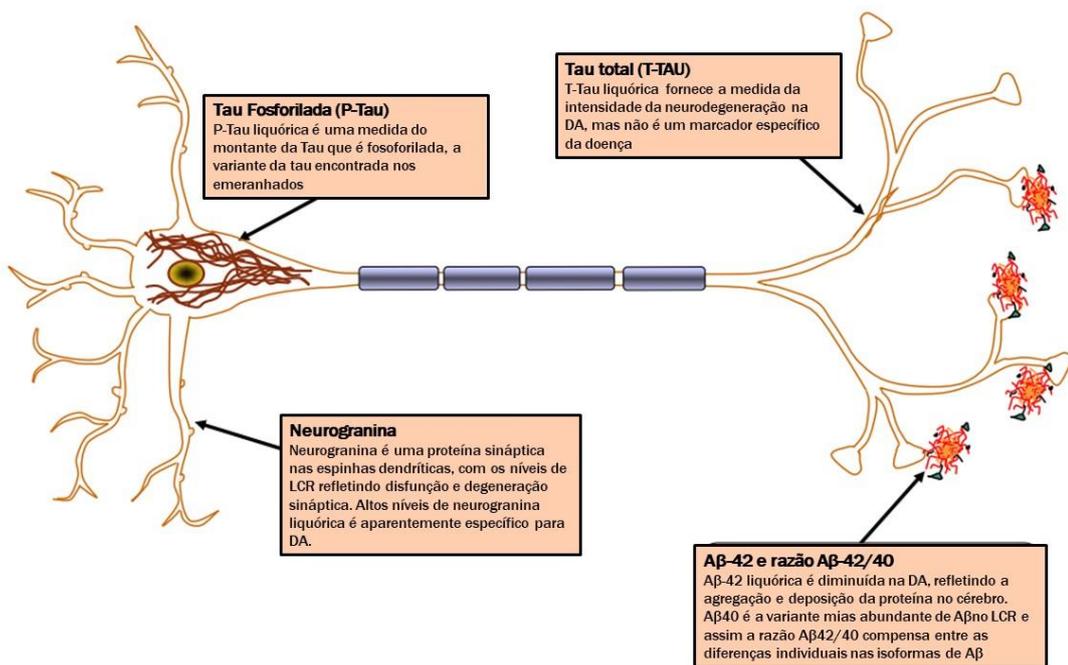
Os biomarcadores liquóricos relacionam-se as três mudanças fisiopatológicas que acometem um cérebro com DA, o acúmulo de peptídeos A $\beta$  em placas amilóides extracelulares, perda neuronal e formação de ENFs. O peptídeo A $\beta$ 1-42 resulta da clivagem da proteína PPA por enzimas como  $\beta$ -secretase e  $\gamma$ -secretase, sendo altamente insolúvel, agregando-se aos depósitos extracelulares de A $\beta$  no cérebro com DA, sendo detectado pela diminuição da concentração de A $\beta$ 1-42 no LCR. As placas amilóides formadas pela deposição de A $\beta$ , aparecem 20-30 anos antes do início dos primeiros sintomas e, portanto, funciona como um biomarcador para o diagnóstico precoce da DA (NIEMANTSVERDIET *et al*, 2017).

Desta forma, a DA é caracterizada, principalmente, pela patologia A $\beta$ , encontrada no gene PPA, uma vez que os depósitos A $\beta$  levam ao acúmulo de fibrilas amilóides no espaço extracelular agrupadas em forma de placas (MANTZAVINOS; ALEXIOU, 2017). A redução dos níveis de A $\beta$  liquórico deve-se a agregação e ao sequestro deste peptídeo em placas, com quantidades reduzidas para serem secretadas no espaço extracelular e no LCR (BLENNOW; ZETTERBERG, 2018).

No que tange a proteína tau, esta se faz presente de maneira abundante no citosol neuronal, atuando na estabilização dos microtúbulos localizados nos axônios neuronais. Na DA, quando há um desequilíbrio nas fosfatases e quinases a proteína tau passa por um processo de hiperfosforilação, resultando no desprendimento da tau dos microtúbulos e ao acúmulo em ENFs, estando diretamente relacionadas ao declínio cognitivo na DA (NIEMANTSVERDIET *et al*, 2017). Acredita-se que o processo de hiperfosforilação revogue a função normal da proteína tau para estabilizar e ligar os microtúbulos aos neurônios, levando a perturbação dos microtúbulos, a diminuição do fluxo axoplasmático e a perda de conectividade neuronal. A T-Tau reflete a intensidade da degeneração neuronal, dessa forma, na DA a elevação dos níveis de T-Tau prevê uma progressão mais rápida da doença, enquanto a P-Tau é um biomarcador do estágio da doença. (BLENNOW; ZETTERBERG, 2018). No processo de neurodegeneração, as proteínas T-Tau e P-Tau são liberadas no espaço extracelular, levando a elevação da concentração da proteína Tau no LCR na DA. Assim sendo, a formação de ENFs

e de placas amilóides promove lesão dos neurônios, levando a degeneração sináptica e neuronal na DA (NIEMANTSVERDIET *et al*, 2017).

**Figura 14 – Diagrama esquemático de um neurônio com placas amilóides neuríticas e NTFS intracelulares.** A imagem descreve os principais biomarcadores da DA, como as proteínas T-Tau, P-Tau, A $\beta$  e um biomarcador sináptico, a neurogranina, demonstrando a formação de NTFS e de placas amilóides, assim como o processo de neurodegeneração.



Fonte: adaptada de Blennow; Zetterberg (2018).

Diante disto, os biomarcadores líquóricos validados para a DA, sendo estes as proteínas A $\beta$ 42, T-Tau e P-Tau, tem um valor agregado ao diagnóstico diferencial da doença e de distúrbios relacionados, incluindo diagnóstico clínico ambíguo de demência, patologias mistas e apresentações atípicas. Assim sendo, uma vez que estes biomarcadores apresentam a capacidade de refletir a patologia da DA através de concentrações anormais desde a fase pré-clínica da doença, estes se tornam biomarcadores promissores para a realização de um diagnóstico precoce e diferencial para a DA (NIEMANTSVERDIET *et al*, 2017).

### **3 METODOLOGIA**

Para alcançar os objetivos desse estudo, este foi delimitado a partir dos critérios estabelecidos na revisão de literatura por meio da seleção de trabalhos publicados em revistas científicas. O levantamento bibliográfico e de dados, baseados em artigos científicos sobre biomarcadores líquóricos no diagnóstico da DA, foram encontrados em portais periódicos online e publicados em base de dados como Scielo e Pubmed. Os termos buscados foram 'doença de Alzheimer', 'biomarcadores líquóricos na doença de Alzheimer', 'diagnóstico da doença de Alzheimer', 'diagnóstico precoce da doença de Alzheimer', 'diagnóstico diferencial da doença de Alzheimer', 'líquido cefalorraquidiano' e 'fisiopatologia da doença de Alzheimer'. Os filtros utilizados para a busca foram artigos de revisão de literatura com ano de publicação entre 2018 e 2021 e artigos originais.

### **4 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

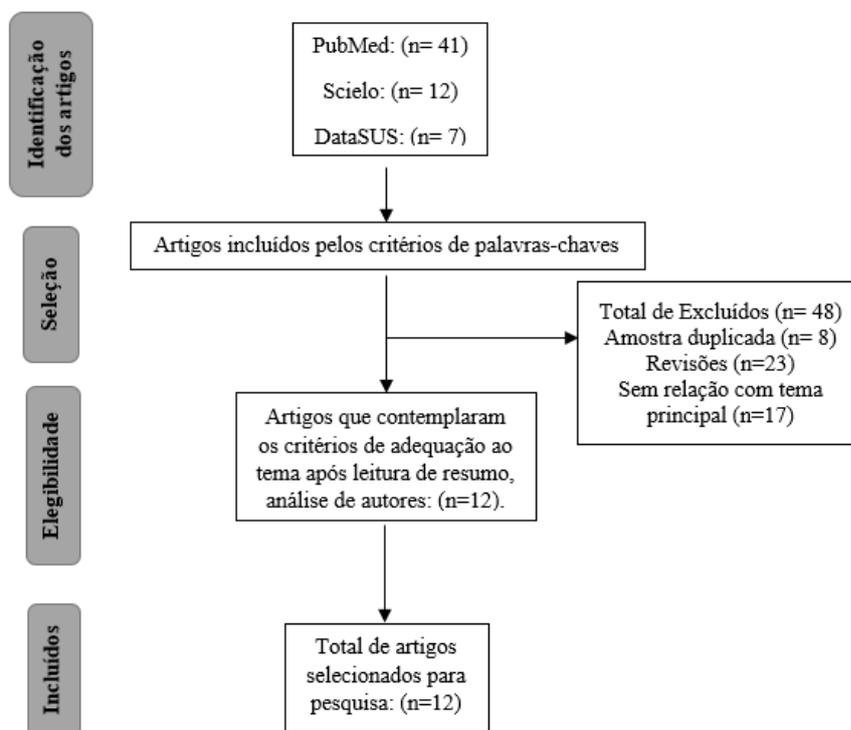
#### **4.1 Resultados**

A seguir são apresentados os resultados do estudo desenvolvido. Na figura 15 é exposto o fluxograma de seleção de estudos correspondentes a etapa de revisão de literatura, o qual descreve todos os portais utilizados para a consulta de artigos científicos e discriminando o processo de seleção do material analisado.

Dos 60 artigos encontrados incluídos pelos critérios de palavras-chaves, 12 atenderam aos critérios de inclusão e exclusão. A seguir, na tabela 1 apresenta-se as principais informações coletadas que identificam e caracterizam os artigos selecionados para compor a revisão de literatura, analisados a partir do ano de publicação, autores, revistas, objetivos e resultados dos estudos desenvolvidos.

Foram analisados doze artigos científicos com período de publicação variando entre os anos de 2006 e 2017. Do total de doze artigos selecionados, predominaram para a amostra final artigos redigidos originalmente, publicado em inglês (n=11) e em português (n=1). O local de publicação foi nos seguintes países Estados Unidos (n=11) e Brasil (n=1).

**Figura 15 – Fluxograma de seleção de estudos.** Seleção de estudos correspondentes a etapa de revisão de literatura, o qual descreve todos os portais utilizados para a consulta de artigos científicos e discriminando o processo de seleção do material analisado.



**Tabela 1 – Artigos selecionados.** A tabela demonstra a seleção dos artigos originais e suas principais informações, como autor, ano, revista, objetivos e resultados encontrados.

Artigos Originais			
Autor/ Ano	Revista	Objetivos	Resultados
STARLING, 2012	Tese de pós-graduação	Investigar os níveis de proteínas Tau-T, P-tau e $\beta$ A-42 no líquido cefalorraquidiano (LCR), saliva e mucosa oral de pacientes com DA (n=33), pacientes com demência não-DA (OD, n=22) e indivíduos controles saudáveis (CT, n=29), com o intuito de identificar biomarcadores adicionais para o diagnóstico da DA.	Níveis de $\beta$ A estão significativamente diminuídos nos pacientes DA quando comparados com os indivíduos do grupo controle; não há diferença de concentração nos níveis de Tau-T; P-TAU diferente em todos os grupos

WAGSH AL <i>et al</i> , 2014	Journal Of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry	Utilizar a proteína tau como biomarcador pode ter melhor potencial para demonstrar a sua eficácia em terapias tau-direcionadas, em doenças como a PSP do que na DA.	DA teve maiores níveis de t-tau e p-tau totais do que a paralisia supranuclear progressiva (PSP). Houve uma interação de gênero por diagnóstico em AD e PSP para a maioria das espécies de tau, com concentrações mais baixas para pacientes do sexo masculino em comparação com as do sexo feminino.
BOUWMAN AN <i>et al</i> , 2008	Neurobiology of aging	Comparar os níveis líquidos de $\beta$ A (A1-42), T-tau e P-Tau na treonina 181 (PTau-181) entre pacientes com DA e indivíduos controles de acordo com a idade.	Houve uma interação entre diagnóstico e idade para todos os três biomarcadores, pois os controles mais velhos tinham níveis mais baixos de $\beta$ A e mais altos de p-Tau do que os controles mais jovens, mas não houve diferença referente a idade nos pacientes com DA. Isso sugere que indivíduos mais velhos (do grupo controle) podem ter patologia de DA, mesmo na ausência de comprometimento cognitivo objetivo.
FAGAN <i>et al</i> , 2007	Archives of Neurology	Investigar a capacidade do LCR e do plasma para diferenciar a DA em fase inicial do envelhecimento não demente e para avaliar se estes biomarcadores podem prever demência futura em indivíduos cognitivamente normais.	indivíduos com DA muito leve ou leve têm níveis médios reduzidos de $\beta$ A no LCR (42) e níveis aumentados de tau no LCR e tau fosforilada (181). O nível de $\beta$ A (42) do líquido cefalorraquidiano corresponde completamente à presença ou ausência de amiloide cerebral (fotografada com o Composto B de Pittsburgh) em indivíduos com e sem demência.
MATTSSON et al, 2009	JAMA	Determinar a precisão dos biomarcadores líquidos $\beta$ A (A1-42), T-tau e P-Tau na posição treonina 181 para prever DA incipiente em indivíduos acometidos por CCL.	Pacientes que desenvolveram DA tiveram $\beta$ A mediano inferior e P-tau e T-tau mais elevados do que paciente com MCI que não desenvolveram DA durante acompanhamento. Apresentou sensibilidade de 83% e especificidade de 72% para identificar pacientes com DA em estágios iniciais.
SHAW <i>et al</i> , 2009	Annals of Neurology	Desenvolver um biomarcador líquido para a DA leve na Iniciativa de Neuroimagem da Doença de Alzheimer	$\beta$ A foi o biomarcador mais sensível para DA na coorte de autópsia e amostras do LCR (curva de sensibilidade para detecção de DA 96,4 %). Um perfil de LCR de linha de base semelhante a AD para t-tau

		( <i>Alzheimer's Disease neuroimaging Initiative - ADNI</i> )	/ $\beta$ A (1-42) foi detectado em 33 de 37 indivíduos com comprometimento cognitivo leve da ADNI (neuroimagem) que converteram em provável AD durante o primeiro ano do estudo.
TAPIOL A <i>et al</i> , 2009	Archives of Neurology	Estudar a relação entre os níveis dos biomarcadores líquidos <i>antemortem</i> e as alterações neuropatológicas do tipo Alzheimer no cérebro.	O LCR A $\beta$ e os níveis de proteína tau foram relacionados à carga amiloide e à presença de anormalidades patológicas neurofibrilares no cérebro. O nível de A $\beta$ no LCR correlacionou-se inversamente com a carga total de A $\beta$ no cérebro, e o nível de tau no LCR correlacionou-se com os resultados da imunohistoquímica para tau hiperfosforilada e com a presença de emaranhados neurofibrilares neocorticais. Na análise de regressão logística multivariada, o número de placas neuríticas no cérebro permaneceu um preditor significativo da diminuição do nível de A $\beta$ no LCR e do aumento do nível de tau no LCR. Com base na razão entre o nível de tau fosforilado e o nível de A $\beta$ , a sensibilidade foi 91,6% e a especificidade foi 85,7%, com uma precisão geral de 90,2% para a presença de placa neurítica patológica no cérebro.
BUERG ER <i>et al</i> , 2006	Brain	Estudar a correlação entre a proteína T-Tau líquida e a patologia neurofibrilar neocortical na DA.	Encontramos correlações significativas entre as concentrações de P-tau231P no LCR e as pontuações de emaranhados neurofibrilares (NTF) e a carga de P-tau em todas as regiões neocorticais estudadas. A pontuação de placas neuríticas (NPs) foi correlacionada com LCR P-tau231P apenas dentro do córtex frontal. Houve uma correlação entre P-tau231P no LCR e homogenatos cerebrais. Estas descobertas indicam que o LCR P-tau231P pode servir como um biomarcador substituto <i>in vivo</i> da patologia neurofibrilar na doença de Alzheimer.

VEMURI <i>et al</i> , 2009	Neurology	Investigar a relação entre os biomarcadores de base da ressonância magnética (RM) e os biomarcadores do LCR, assim como a subsequente mudança nas medidas contínuas das capacidades cognitivas e funcionais em indivíduos cognitivamente normais, indivíduos com CCL amnésica e indivíduos com DA, para examinar a capacidade desses biomarcadores em prever o tempo de conversão de CCL para DA.	RM e LCR fornecem informações preditivas complementares sobre o tempo para a conversão de comprometimento cognitivo leve amnésico para doença de Alzheimer e a combinação dos dois fornece uma previsão melhor do que qualquer uma das fontes sozinhas. No entanto, descobrimos que a ressonância magnética foi um preditor ligeiramente melhor de declínio clínico / funcional futuro do que os biomarcadores de LCR testados.
MATTSSON <i>et al</i> , 2017	Neurobiology of Aging	Avaliar os biomarcadores líquóricos como $\beta$ A (1-42), T-Tau e P-Tau em um quadro de 5 fases para o desenvolvimento de biomarcadores.	Nossos resultados destacam as prioridades para buscar e permitir o uso adequado de biomarcadores CSF na clínica. As prioridades são reduzir a variabilidade da medição pela introdução de sistemas de ensaio totalmente automatizados; para aumentar a especificidade diagnóstica para doenças neurocognitivas não-DA no estágio MCI; e para esclarecer o papel dos biomarcadores do LCR em comparação com outras modalidades de biomarcadores na prática clínica e no desenho de ensaios clínicos. Esses esforços estão em andamento.
SURACE <i>et al</i> , 2013	Journal of the American Geriatrics Society	Avaliar biomarcadores líquóricos da DA na sua capacidade de discriminar a DA de demência frontotemporal e para prever a progressão do CCL para DA.	Os resultados encontrados demonstram que os valores dos biomarcadores e da razão entre eles não foi significativamente diferente entre os três grupos, entretanto houve uma diferença significativa entre os grupos DA e o grupo DFT, além disso foi observado que o grupo com CCL que evoluiu para DA apresentava níveis de $\beta$ A-42 355pg/mL, enquanto o grupo que não evoluiu para DA apresentou valores de 800pg/mL.

BATEMAN N <i>et al</i> , 2012	The New England Journal of Medicine	Avaliar mudanças clínicas e biomarcadores na DA dominante herdada.	Observou-se que os níveis de $\beta$ A-42 começaram a diminuir 25 anos antes do início esperado dos sintomas. A deposição de $\beta$ A-42 medida por tomografia, foi detectada 15 anos antes do início dos sintomas. No que se refere aos níveis da proteína tau no LCR, as concentrações aumentaram, havendo um aumento na atrofia cerebral, sendo detectados 15 anos antes do início dos sintomas esperados.
-------------------------------------	--	---	--

## 4.2 Discussão

Existem diversos estudos e pesquisas clínicas acerca da utilização de biomarcadores líquóricos para um diagnóstico preciso e diferencial da DA. Em um estudo realizado no ano de 2012, por Starling sobre a investigação de biomarcadores diagnósticos para a DA no LCR, na saliva e na mucosa oral, foi verificado um aumento significativo dos níveis da proteína  $\beta$ A-42 no LCR de pacientes com DA comparados com pacientes do grupo CT, entretanto a proteína Tau-T não apresentava mudança significativa no LCR em comparação do grupo DA com o grupo com demência não-DA e indivíduos controle saudáveis. Em contrapartida, a proteína P-tau apresentou um aumento significativo no LCR ao comparar o grupo DA com o grupo OD.

Uma pesquisa sobre a utilização de biomarcadores como um diagnóstico diferencial da DA, demonstrou uma análise comparativa dos níveis desses biomarcadores entre a DA e a paralisia supranuclear progressiva (PSP), doenças consideradas taupatias. No ano de 2014, Wagshal e colaboradores, conduziram um estudo comparativo entre um grupo controle normal (CN), grupo DA e um grupo PSP, que foram pareados em nível de gravidade através da classificação de demência clínica. Os níveis das proteínas P-tau, T-tau e  $\beta$ A-42, foram medidos através de um imunoenensaio. Os resultados encontrados pelos pesquisadores foram de que a DA apresentou níveis mais elevados de T-tau e de P-tau do que a PSP, entretanto não apresentou diferença significativa nos valores de  $\beta$ A-42 entre as duas doenças. No entanto, foi observado que pacientes do sexo masculino apresentaram as concentrações de tau mais baixas do que o sexo feminino, sugerindo que os níveis de tau refletem vários fatores além do grau de lesão neuronal, como revelar

diferenças na fisiopatologia da neurodegeneração relacionadas a proteína tau na DA e na PSP.

Em um outro estudo publicado no ano de 2008, por Bouwman e colaboradores, sobre os níveis dos biomarcadores líquóricos na DA de início precoce e tardio, observou-se uma interação entre idade e diagnóstico para todos os biomarcadores, sendo que o grupo controle mais velho apresentou níveis menores de  $\beta$ A-42 e níveis mais elevados de P-tau do que o grupo controle mais jovem, entretanto o fator idade referente aos pacientes com DA não interferiu nos níveis dos biomarcadores no LCR. Diante disto, foi-se concluído que os indivíduos mais velhos do grupo controle podem apresentar DA, mesmo na ausência de comprometimento cognitivo. Este estudo utilizou 248 pacientes com DA e 127 controles, sendo 22 voluntários sem queixas cognitivas e 105 pacientes com queixas subjetivas.

Corroborando estes achados, Fagan e colaboradores (2007), analisaram a razão entre Tau /  $\beta$ A-42 do LCR como forma de prever um declínio cognitivo em adultos que não são acometidos pela demência. Este estudo teve como metodologia a análise de voluntários com idade entre 60 a 91 anos, sendo clinicamente julgados como cognitivamente normal, ou que possuíam DA muito leve ou leve. Diante disto, observou-se que os indivíduos com DA apresentavam níveis médios reduzidos de  $\beta$ A-42 no LCR e possuíam níveis aumentados de de P-tau e T-tau. Assim sendo, foi possível concluir que o estágio sintomático leve da DA apresenta o mesmo fenótipo de biomarcadores líquóricos que a DA em estágio mais avançado. Também foi possível analisar que, quando combinados com a imagem amiloide, os níveis de  $\beta$ A líquóricos contribuem para os métodos de identificação de indivíduos com depósitos amiloides cerebrais, sendo a razão tau/ $\beta$ A ótima promissora como biomarcador capaz de diagnosticar precocemente idosos cognitivamente normais e que podem evoluir para uma demência futura.

De maneira semelhante, Mattson *et al* (2009) conduziram um estudo que avaliou biomarcadores líquóricos e a DA em estágio inicial em pacientes com comprometimento cognitivo leve (CCL) e demonstrou que pacientes que desenvolveram DA apresentaram níveis de  $\beta$ A reduzidos no LCR e níveis de P-tau e T-tau elevados quando comparados aos pacientes CCL que não desenvolveram DA durante o estudo. A razão tau /  $\beta$ A apresenta sensibilidade de 83% e especificidade de 72% para identificar DA incipiente no grupo de pacientes com CCL. Portanto,

percebe-se que os biomarcadores liquóricos são capazes de identificar DA em estágio inicial com boa precisão.

Além da pesquisa de biomarcadores liquóricos de maneira isolada, Shaw e colaboradores (2009) investigaram sobre biomarcadores liquóricos como uma assinatura da DA leve em exames de neuroimagem. O estudo baseou-se na análise dos peptídeos  $\beta$ A1-42, T-tau e P-tau no LCR em paciente com DA leve, com CCL, idosos cognitivamente normais e idosos com DA confirmadas através de autópsia utilizando um imunoenensaio multiplex. Os resultados da pesquisa demonstram que o peptídeo  $\beta$ A1-42 foi o biomarcador mais sensível para a DA na coorte de autópsia e amostras de LCR, apresentando sensibilidade para detecção de 96,4%, além disso foi detectado um perfil semelhante a DA para T-tau e para  $\beta$ A1-42 em indivíduos com CCL, os quais converteram em provável DA no primeiro ano de estudo. Desta forma é possível perceber que a assinatura dos biomarcadores liquóricos na autópsia confirmaram a coorte de DA, além de prever a conversão de CCL para DA.

A análise de proteínas liquóricas  $\beta$ A-42 e tau como biomarcadores para mudanças patológicas no cérebro devido a DA, foi uma pesquisa realizada por Tapiola e colaboradores (2009), que teve como objetivo estudar a relação entre os níveis de biomarcadores no LCR *antemortem* e as alterações neuropatológicas da DA. O estudo incluiu 123 pacientes, que foram alocados em três grupos: DA, demência não DA e outras doenças neurológicas, todos realizaram a coleta da amostra de LCR na região lombar. Diante disto, os resultados encontrados demonstram que os níveis liquóricos de  $\beta$ A-42 e da proteína tau relacionam-se diretamente a carga amiloide e a presença de anormalidades patológicas neurofibrilares. Observou-se também que os níveis de  $\beta$ A-42 no LCR foram inversos aos níveis de  $\beta$ A-42 no cérebro, e que o nível de tau no LCR relacionou-se com os resultados de imuno-histoquímica para P-tau e com a presença de emaranhados neurofibrilares neocorticais. Assim sendo, observou-se que o número de placas neuríticas no cérebro manteve-se como um preditor da diminuição dos níveis de  $\beta$ A-42 e aumento dos níveis de T-tau e de P-tau no LCR. Este estudo demonstrou que a razão tau /  $\beta$ A apresenta sensibilidade de 91,6% e 85,7% de especificidade, tendo uma precisão geral de 90,2% para identificação de presença de placas neuríticas patológicas no cérebro.

A proteína tau fosforilada presente no LCR correlacionada com a patologia neurofibrilar neocortical na DA tem sido alvo de investigações que demonstram a relevância de biomarcadores líquóricos. Um estudo conduzido por Buerger *et al* (2006), analisou amostras de LCR de 26 pessoas diagnosticadas com DA para determinação de P-tau líquórica através de ensaios imunoquímicos e constataram correlações significativas entre os níveis de P-tau líquórico e as pontuações de emaranhados neurofibrilares e a carga de P-tau em todas as regiões neocorticais estudadas. Desta forma, este estudo permitiu demonstrar que a P-tau encontrada no LCR serve como um biomarcador substituto *in vivo* da patologia neurofibrilar na DA.

Uma pesquisa realizada em 2009, por Vemuri e colaboradores, acerca de biomarcadores líquóricos e de ressonância magnética em indivíduos normais, indivíduos com CCL e em indivíduos com DA tem como objetivo analisar as mudanças clínicas futuras nestes indivíduos, examinando a capacidade destes biomarcadores de prever o tempo de conversão do CCL em DA. Diante disto foi possível concluir que tanto o LCR, como a ressonância magnética fornecer informações prenunciadoras sobre o período de conversão de CCL amnésico para DA e a combinação entre ambos oferece uma previsão mais exata.

Na tentativa de validar a utilização clínica das proteínas líquóricas  $\beta$ A-42, T-tau e P-tau como biomarcadores da DA, Mattsson *et al* (2017) realizaram um estudo com indivíduos com CCL e com DA esporádico (não familiar). Os resultados demonstram as prioridades para permitir o uso adequado de biomarcadores líquóricos na clínica, visando reduzir a variabilidade da medicação através da introdução de sistemas de ensaio automatizados com o intuito de aumentar a especificidade diagnóstica para doenças em estágio de CCL, além de esclarecer o papel dos biomarcadores do LCR em comparação com outros biomarcadores na prática clínica.

Tendo em vista o avanço promissor no diagnóstico clínico da DA através da análise dos níveis dos biomarcadores do LCR, um estudo realizado por Surace e colaboradores (2013) permitiu analisar que a diminuição nos níveis de  $\beta$ A-42, é ocasionada pelo acúmulo de  $\beta$ A-42 no parênquima cerebral, enquanto o aumento da proteína T-tau e P-tau resultam da neurodegeneração patológica. A pesquisa contou com indivíduos acometidos pela CCL, por DA provável e por demência fronto

temporal (DFT) e os níveis dos biomarcadores líquóricos foram medidos através de ensaios de imunoabsorção enzimática. Os resultados encontrados demonstram que os valores dos biomarcadores e da razão entre eles não foi significativamente diferente entre os três grupos, entretanto houve uma diferença significativa entre os grupos DA e o grupo DFT, além disso foi observado que o grupo com CCL que evoluiu para DA apresentava níveis de  $\beta$ A-42 355pg/mL, enquanto o grupo que não evoluiu para DA apresentou valores de 800pg/mL. Dessa forma é possível concluir que os biomarcadores líquóricos são capazes de realizar um diagnóstico diferencial de demência e são capazes de prever a evolução da CCL para DA.

Uma outra pesquisa realizada por Bateman *et al* (2012), sobre as mudanças clínicas e dos níveis de biomarcadores na DA herdada predominantemente, também demonstrou que houve redução dos níveis de  $\beta$ A-42 líquórico, bem como houve aumento nas proteínas T-tau e P-tau do LCR. Este estudo contou com 128 participantes que tinham a idades dos pais no início dos sintomas da DA para calcular os anos estimados a partir do início dos sintomas esperados. Diante disto, observou-se que os níveis de  $\beta$ A-42 começaram a diminuir 25 anos antes do início esperado dos sintomas. A deposição de  $\beta$ A-42 medida por tomografia, foi detectada 15 anos antes do início dos sintomas. No que se refere aos níveis da proteína tau no LCR, as concentrações se elevaram, havendo um aumento na atrofia cerebral, sendo detectados 15 anos antes do início dos sintomas esperados. Desta forma é possível concluir que a DA autossômica dominante foi associada a diversas mudanças fisiopatológicas no decorrer dos anos nos biomarcadores líquóricos da DA, a deposição amiloide cerebral e o metabolismo do cérebro, assim como ao comprometimento cognitivo de maneira progressiva.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos fatos expostos, é possível concluir que a dificuldade de um diagnóstico preciso para DA baseia-se na não existência de exames confirmatórios. Entretanto, observando-se a fisiopatologia da DA, percebe-se que existem algumas proteínas presentes no LCR que funcionam como biomarcadores líquidos da DA, sendo eles as proteínas A $\beta$ -42, T-tau e P-tau, tornando-se um excelente marcador de fisiopatologias cerebrais e a principal matriz biológica para a dosagem de biomarcadores da DA.

Diversos estudos demonstram que a diminuição nos níveis de  $\beta$ A-42, resulta da carga amiloide no parênquima cerebral, e que o aumento da proteína T-tau e P-tau resultam de anormalidades patológicas neurofibrilares. Os mesmos expressam que os níveis dos biomarcadores líquidos apresentam-se diferentes quando comparados com indivíduos normais ou com outras demências, sendo o nível da proteína  $\beta$ A-42 reduzido e os níveis das proteínas T-tau e P-tau elevados em pacientes acometidos com DA, quando comparados aos outros grupos, além de demonstrar que essas alterações são perceptíveis décadas antes do início dos sintomas. Desta forma é possível concluir que estas proteínas presentes no LCR são capazes de realizar um diagnóstico diferencial e precoce da DA, funcionando como uma forma de prever um declínio cognitivo em adultos que não são acometidos pela demência.

No entanto, apesar da capacidade de serem um potencial biomarcador para o diagnóstico da DA, a utilização desses ainda é recomendada apenas para pesquisas, devido à escassez de dados confirmatórios, da variabilidade dos resultados, dos protocolos variados para a realização do exame e do difícil acesso à coleta de amostras do LCR, a qual necessita de punção lombar. Estes fatores influenciam na generalização dos resultados encontrados, dificultando a precisão para um exame confirmatório da DA. Diante disto, se fazem necessárias pesquisas para padronização do exame, com o intuito de realizar a validação do mesmo e, conseqüentemente, sua aplicabilidade clínica para o diagnóstico da DA.

## REFERÊNCIAS

ALZHEIMER'S ASSOCIATION. 2021 Alzheimer's Disease Facts and Figures. 2021.

ALZHEIMER'S INTERNATIONAL DISEASE. WHO launches global status report on public health response to dementia. 2021. Disponível em: <<https://www.alzint.org/news-events/news/who-launches-its-global-status-report-on-the-public-health-response-to-dementia/>>. Acesso em: 01 nov 2021.

ALZHEIMER'S DISEASE INTERNATIONAL; GUERCHET, Maelenn; PRINCE, Martin; PRINA, Matthew. **Numbers of people with dementia around the world. Alzheimer's Disease International**. 2020.

ANCHIETA, Cintia; BAUKAT, Bianca; DE OLIVEIRA, Vitória; SILVA, Bruna. A UTILIZAÇÃO DOS BIOMARCADORES PARA DETECÇÃO PRECOCE DA DOENÇA DE ALZHEIMER. In: **Congresso Internacional em Saúde**. 2021.

ARMSTRONG, Richard A. Risk factors for Alzheimer's disease. **Folia Neuropathologica**, [S.L.], v. 57, n. 2, p. 87-105, 2019. Termedia Sp. z.o.o. <http://dx.doi.org/10.5114/fn.2019.85929>.

ASSOCIAÇÃO INTERNACIONAL DE ALZHEIMER (2019). 2019 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement*15: 321–387. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2019.01.010>.

ATRI, Alireza. The Alzheimer's Disease Clinical Spectrum: Diagnosis and Management. **Medical Clinics Of North America**, [S.L.], v. 103, n. 2, p. 263-293, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcna.2018.10.009>.

BATEMAN, Randall J.; XIONG, Chengjie; BENZINGER, Tammie L.s.; FAGAN, Anne M.; GOATE, Alison; FOX, Nick C.; MARCUS, Daniel S.; CAIRNS, Nigel J.; XIE, Xianyun; BLAZEY, Tyler M. Clinical and Biomarker Changes in Dominantly Inherited Alzheimer's Disease. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 367, n. 9, p. 795-804, 30 ago. 2012. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa1202753>.

BILLMANN, Ariane; PEZZINI, Marina Ferri; POETA, Julia. Biomarcadores no líquido cefalorraquidiano no desenvolvimento da doença de Alzheimer: uma revisão sistemática. **Revista Psicologia e Saúde**, 2020.

BLENNOW, K.; ZETTERBERG, H. Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future. **Journal Of Internal Medicine**, [S.L.], v. 284, n. 6, p. 643-663, 19 ago. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/joim.12816>.

BOTHWELL, Steven William; JANIGRO, Damir; PATABENDIGE, Adjanie. Cerebrospinal fluid dynamics and intracranial pressure elevation in neurological diseases. **Fluids And Barriers Of The Cns**, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 1-18, 10 abr. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12987-019-0129-6>.

BOUWMAN, Femke H.; SCHOONENBOOM, Niki S.M.; VERWEY, Nicolaas A.; VAN ELK, Evert J.; KOK, Astrid; BLANKENSTEIN, Marinus A.; SCHELTENS, Philip; FLIER, Wiesje M. van Der. CSF biomarker levels in early and late onset Alzheimer's disease. **Neurobiology Of Aging**, [S.L.], v. 30, n. 12, p. 1895-1901, dez. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2008.02.007>.

BREIJYEH, Zeinab; KARAMAN, Rafik. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: causes and treatment. **Molecules**, [S.L.], v. 25, n. 24, p. 5789, 8 dez. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25245789>.

BUERGER, K.; EWERS, M.; PIRTTILA, T.; ZINKOWSKI, R.; ALAFUZOFF, I.; TEIPEL, S. J.; DEBERNARDIS, J.; KERKMAN, D.; MCCULLOCH, C.; SOININEN, H.. CSF phosphorylated tau protein correlates with neocortical neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. **Brain**, [S.L.], v. 129, n. 11, p. 3035-3041, 29 set. 2006. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awl269>.

CHÉTELAT, Gaël. Multimodal Neuroimaging in Alzheimer's Disease: early diagnosis, physiopathological mechanisms, and impact of lifestyle. **Journal Of Alzheimer'S Disease**, [S.L.], v. 64, n. 1, p. 199-211, 12 jun. 2018. IOS Press. <http://dx.doi.org/10.3233/jad-179920>.

CONGDON, Erin E.; SIGURDSSON, Einar M.. Tau-targeting therapies for Alzheimer disease. **Nature Reviews Neurology**, [S.L.], v. 14, n. 7, p. 399-415, 12 jun. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41582-018-0013-z>.

FAGAN, Anne M.; ROE, Catherine M.; XIONG, Chengjie; MINTUN, Mark A.; MORRIS, John C.; HOLTZMAN, David M.. Cerebrospinal Fluid tau/ $\beta$ -Amyloid<sub>42</sub> Ratio as a Prediction of Cognitive Decline in Nondemented Older Adults. **Archives Of Neurology**, [S.L.], v. 64, n. 3, p. 343, 1 mar. 2007. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/archneur.64.3.noc60123>.

GIACOMUCCI, Giulia; MAZZEO, Salvatore; BAGNOLI, Silvia; CASINI, Matteo; PADIGLIONI, Sonia; POLITO, Cristina; BERTI, Valentina; BALESTRINI, Juri; FERRARI, Camilla; LOMBARDI, Gemma. Matching Clinical Diagnosis and Amyloid Biomarkers in Alzheimer's Disease and Frontotemporal Dementia. **Journal Of Personalized Medicine**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 47, 14 jan. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/jpm11010047>.

HANE, Francis T.; ROBINSON, Morgan; LEE, Brenda Y.; BAI, Owen; LEONENKO, Zoya; ALBERT, Mitchell S.. Recent Progress in Alzheimer's Disease Research, Part 3: diagnosis and treatment. **Journal Of Alzheimer'S Disease**, [S.L.], v. 57, n. 3, p. 645-665, 10 abr. 2017. IOS Press. <http://dx.doi.org/10.3233/jad-160907>.

KOVACS, Gabor G. Molecular pathology of neurodegenerative diseases: principles and practice. **Journal Of Clinical Pathology**, [S.L.], v. 72, n. 11, p. 725-735, 8 ago. 2019. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/jclinpath-2019-205952>.

LANE, C. A.; HARDY, J.; SCHOTT, J. M.. Alzheimer's disease. **European Journal Of Neurology**, [S.L.], v. 25, n. 1, p. 59-70, 19 out. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ene.13439>.

LLORET; ESTEVE; LLORET; CERVERA-FERRI; LOPEZ; NEPOMUCENO; MONLLOR. When Does Alzheimer's Disease Really Start? The Role of Biomarkers. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 20, n. 22, p. 5536, 6 nov. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms20225536>.

LOPEZ, Jose A. Soria; GONZÁLEZ, Hector M.; LÉGER, Gabriel C. Alzheimer's disease. **Handbook Of Clinical Neurology**, [S.L.], p. 231-255, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-804766-8.00013-3>.

MANTZAVINOS, Vasileios; ALEXIOU, Athanasios. Biomarkers for Alzheimer's Disease Diagnosis. **Current Alzheimer Research**, [S.L.], v. 14, n. 11, p. 1149-1153, 6 out. 2017. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/1567205014666170203125942>.

MATTSSON, Niklas; LÖNNEBORG, Anders; BOCCARDI, Marina; BLENNOW, Kaj; HANSSON, Oskar. Clinical validity of cerebrospinal fluid A $\beta$ 42, tau, and phospho-tau as biomarkers for Alzheimer's disease in the context of a structured 5-phase development framework. **Neurobiology Of Aging**, [S.L.], v. 52, p. 196-213, abr. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.02.034>.

MATTSSON, Niklas *et al.* CSF Biomarkers and Incipient Alzheimer Disease in Patients With Mild Cognitive Impairment. **Jama**, [S.L.], v. 302, n. 4, p. 385, 22 jul. 2009. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2009.1064>.

MELO, Simone Cecília de; CHAMPS, Ana Paula Silva; GOULART, Rúbia Ferreira; MALTA, Deborah Carvalho; PASSOS, Valéria Maria de Azeredo. Dementias in Brazil: increasing burden in the 2000 - 2016 period. estimates from the global burden of disease study 2016. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, [S.L.], v. 78, n. 12, p. 762-771, dez. 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0004-282x20200059>.

MOLINUEVO, José Luis; AYTON, Scott; BATRLA, Richard; BEDNAR, Martin M.; BITTNER, Tobias; CUMMINGS, Jeffrey; FAGAN, Anne M.; HAMPEL, Harald; MIELKE, Michelle M.; MIKULSKIS, Alvydas. Current state of Alzheimer's fluid biomarkers. **Acta Neuropathologica**, [S.L.], v. 136, n. 6, p. 821-853, 28 nov. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00401-018-1932-x>.

NASERI, Nima N.; WANG, Hong; GUO, Jennifer; SHARMA, Manu; LUO, Wenjie. The complexity of tau in Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**, [S.L.], v. 705, p. 183-194, jul. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2019.04.022>.

NIEMANTSVERDRIET, Ellis; VALCKX, Sara; BJERKE, Maria; ENGELBORGHES, Sebastiaan. Alzheimer's disease CSF biomarkers: clinical indications and rational use. **Acta Neurologica Belgica**, [S.L.], v. 117, n. 3, p. 591-602, 27 jul. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13760-017-0816-5>.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Dementia. 2021. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>>. Acesso em: 01 nov 2021.

RAHIMI, Jasmin; WOEHRER, Adelheid. Overview of cerebrospinal fluid cytology. **Handbook Of Clinical Neurology**, [S.L.], p. 563-571, 2018. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-802395-2.00035-3>.

SHAPEY, Jonathan; TOMA, A.; SAEED, S.R.. Physiology of cerebrospinal fluid circulation. **Current Opinion In Otolaryngology & Head & Neck Surgery**, [S.L.], v. 27, n. 5, p. 326-333, out. 2019. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/moo.0000000000000576>.

SHAW, Leslie M.; ARIAS, Jalayne; BLENNOW, Kaj; GALASKO, Douglas; MOLINUEVO, Jose Luis; SALLOWAY, Stephen; SCHINDLER, Suzanne; CARRILLO, Maria C.; HENDRIX, James A.; ROSS, April. Appropriate use criteria for lumbar puncture and cerebrospinal fluid testing in the diagnosis of Alzheimer's disease. **Alzheimer'S & Dementia**, [S.L.], v. 14, n. 11, p. 1505-1521, 10 out. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2018.07.220>.

SHAW, Leslie M.; VANDERSTICHELE, Hugo; KNAPIK-CZAJKA, Malgorzata; CLARK, Christopher M.; AISEN, Paul S.; PETERSEN, Ronald C.; BLENNOW, Kaj; SOARES, Holly; SIMON, Adam; LEWCZUK, Piotr. Cerebrospinal fluid biomarker signature in Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects. **Annals Of Neurology**, [S.L.], v. 65, n. 4, p. 403-413, abr. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ana.21610>.

SILVA, Marcos Vinícius Ferreira; LOURES, Cristina de Mello Gomide; ALVES, Luan Carlos Vieira; SOUZA, Leonardo Cruz de; BORGES, Karina Braga Gomes; CARVALHO, Maria das Graças. Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures. **Journal Of Biomedical Science**, [S.L.], v. 26, n. 1, p. 1-11, 9 maio 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12929-019-0524-y>.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE GERIATRIA E GERONTOLOGIA. Em Dia Mundial do Alzheimer, dados ainda são subestimados, apesar de avanços no diagnóstico e tratamento da doença. 2019. Disponível em: <<https://sbgg.org.br/em-dia-mundial-do-alzheimer-dados-ainda-sao-subestimados-apesar-de-avancos-no-diagnostico-e-tratamento-da-doenca/>>. Acesso em: 26 ago. 2021.

STARLING, Daniela Siqueira Veloso. Investigação de biomarcadores diagnósticos para a doença de Alzheimer no líquido cefalorraquidiano, na saliva e na mucosa oral. 2012. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais; UFMG.

SURACE, Ezequiel; COHEN, Gabriela; MARTINETTO, Horacio; CHREMMENDEZ, Patricio; MARTÍN, Eugenia; SMYTH, Elisa; RUSSO, Griselda; AMENGUAL, Alejandra; ALLEGRI, Ricardo; LEIGUARDA, Ramón. Latin American Experience with Alzheimer's Disease Cerebrospinal Fluid Biomarkers. **Journal Of The American Geriatrics Society**, [S.L.], v. 61, n. 7, p. 1229-1231, jul. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jgs.12352>.

TAPIOLA, Tero; ALAFUZOFF, Irina; HERUKKA, Sanna-Kaisa; PARKKINEN, Laura; HARTIKAINEN, Päivi; SOININEN, Hilikka; PIRTILÄ, Tuula. Cerebrospinal Fluid  $\beta$ -Amyloid 42 and Tau Proteins as Biomarkers of Alzheimer-Type Pathologic Changes

in the Brain. **Archives Of Neurology**, [S.L.], v. 66, n. 3, p. 1229-1231, 1 mar. 2009. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/archneurol.2008.596>.

TASHJIAN, Randy S.; VINTERS, Harry V.; YONG, William H.. Biobanking of Cerebrospinal Fluid. **Methods In Molecular Biology**, [S.L.], p. 107-114, 12 dez. 2018. Springer New York. [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5\\_11](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5_11)

UNITED NATIONS. Population Division. World Population Prospects 2019. World: Population (Age 65+). 2019. Disponível em: <<https://population.un.org/wpp/Graphs/Probabilistic/POP/65plus/900>>. Acesso em: 03 set 2021.

VEMURI, P.; WISTE, H. J.; WEIGAND, S. D.; SHAW, L. M.; TROJANOWSKI, J. Q.; WEINER, M. W.; KNOPMAN, D. S.; PETERSEN, R. C.; JACK, C. R.. MRI and CSF biomarkers in normal, MCI, and AD subjects: predicting future clinical change. **Neurology**, [S.L.], v. 73, n. 4, p. 294-301, 27 jul. 2009. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1212/wnl.0b013e3181af79fb>.

WAGSHAL, D.; SANKARANARAYANAN, S.; GUSS, V.; HALL, T.; BERISHA, F.; LOBACH, I.; KARYDAS, A.; VOLTARELLI, L.; SCHERLING, C.; HEUER, H.. Divergent CSF alterations in two common tauopathies: alzheimer's disease and progressive supranuclear palsy. **Journal Of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, [S.L.], v. 86, n. 3, p. 244-250, 4 jun. 2014. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/jnnp-2014-308004>.

WELLER J; BUDSON A. Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment. *F1000Res*. 2018 Jul 31;7:F1000 Faculty Rev-1161. doi: 10.12688/f1000research.14506.1. PMID: 30135715; PMCID: PMC6073093.

WOLINSKY, David; DRAKE, Karina; BOSTWICK, Jolene. Diagnosis and Management of Neuropsychiatric Symptoms in Alzheimer's Disease. **Current Psychiatry Reports**, [S.L.], v. 20, n. 12, p. 116-129, 27 out. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11920-018-0978-8>.

WOLINSKY, David; DRAKE, Karina; BOSTWICK, Jolene. Diagnosis and Management of Neuropsychiatric Symptoms in Alzheimer's Disease. **Current Psychiatry Reports**, [S.L.], v. 20, n. 12, p. 116-129, 27 out. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11920-018-0978-8>.