

## REVISÃO E ATUALIZAÇÃO DOS BIOMARCADORES NO LÍQUOR PARA DOENÇA DE ALZHEIMER

Cibele Emilia Torres Clemente,<sup>1</sup> Roberta Arb Saba Rodrigues Pinto<sup>2</sup>

### RESUMO

Doenças relacionadas ao envelhecimento estão aumentando significativamente e são motivo de preocupação na saúde pública e individual. Os quadros demenciais fazem parte deste grupo, sendo a Doença de Alzheimer (DA), descrita pela primeira vez por Alois Alzheimer em 1906, responsável por mais de 60% dos diagnósticos clínicos de demência em todo o mundo. A caracterização da demência sofreu mudanças no decorrer da evolução da medicina e, atualmente, é descrita como comprometimento progressivo das faculdades intelectuais a ponto de interferir na rotina dos pacientes. Acredita-se que a DA apresenta um pródromo denominado comprometimento cognitivo leve (CCL), que seria alvo importante de diagnóstico precoce, melhorando o manejo, qualidade de vida e prognóstico dos pacientes. Devido grande impacto da DA na vida dos acometidos, familiares e altos gastos para a saúde pública, pesquisadores discutem o uso de biomarcadores para otimizar o diagnóstico desta enfermidade. Ensaios com especificidade entre 80-95% indicam resultados promissores dos biomarcadores líquóricos tau total e fosforilada e peptídeo A $\beta$ 42 para diagnóstico de DA e possível evolução do quadro de CCL para DA severa, principalmente quando dosados de forma combinada. Entretanto, o uso deste tipo de abordagem diagnóstica ainda é moderadamente utilizada na prática clínica.

**Palavras-chave:** Doença de Alzheimer; Líquido cefalorraquidiano; Biomarcadores.

### ABSTRACT

Aging-related diseases are increasing significantly and are a concern in public and individual health. Dementias are part of this group and Alzheimer's Disease (AD), first described by Alois Alzheimer in 1906, accounts for over 60% of clinical diagnoses of dementia worldwide. The characterization of dementia underwent changes during the evolution of medicine and is currently described as progressive impairment of intellectual faculties that interfere in the routine. It is believed that AD has a prodrome called mild cognitive impairment (MCI), which would be an important target for early diagnosis, improving management, quality of life and prognosis. Because large impact of AD in individual life, family and high costs for public health, researchers discuss the use of biomarkers to optimize the diagnosis of this disease. Trials with specificity between 80-95% indicate promising results of biomarkers in cerebrospinal fluid (CSF) tau total and phosphorylated and peptide A $\beta$ 42 for diagnosis of AD and possible evolution of CCL to severe AD, especially when this biomarkers are dosed in combination. However, the use of this diagnostic approach is not yet a reality in clinical practice.

**Keywords:** Alzheimer disease; CSF; Biomarkers.

---

<sup>1</sup> Estudante de Graduação do Curso de Medicina da Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo-SP, E-mail: cibaa@hotmail.com

<sup>2</sup> Professora de neurologia da Universidade Anhembi Morumbi e Médica neurologista da Universidade Federal de São Paulo e do Hospital do Servidor Público Estadual, São Paulo-SP, Brasil.

## INTRODUÇÃO

Doenças relacionadas ao envelhecimento estão aumentando significativamente e são motivo de preocupação na saúde pública e individual, levando em consideração que a população idosa aumenta a cada ano. Os quadros demenciais fazem parte deste grupo, sendo de grande importância devido ao comprometimento cognitivo que acarretam, alterando drasticamente a convivência destes indivíduos com a sociedade<sup>(1)</sup>.

O termo demência é derivado do latim e significa *ausência de mente*, sendo os gregos os responsáveis pela formulação inicial do conceito desta condição mental ainda no período greco-romano. No século XVIII, a demência foi descrita como déficit intelectual adquirido em qualquer idade e por qualquer causa, e ao longo dos anos surgiram inúmeros esboços conceituais em relação aos transtornos demenciais, como “letargia”, “estupidez” e “insensibilidade”. Após 1800, Phillippe Pinel e seu aluno Jean Etienne Esquirol caracterizaram a demência senil e a diferenciaram de outros tipos de demência. Outros termos surgiram no ínterim do desenvolvimento destas designações, como idiotia, que indicava um déficit de inteligência generalizado e definitivo de origem congênita, na tentativa de distinguir as diferentes causas de deficiência intelectual<sup>(2,3)</sup>.

Atualmente, a demência designa-se como diminuição progressiva das faculdades intelectuais, a ponto de interferir na rotina dos pacientes. Prejuízo da memória, somado ao déficit de função cognitiva como atenção, julgamento e capacidade de raciocínio, resultam em condutas sociais perturbadas em consequência da deterioração intelectual global. Diferente dos quadros confusionais relativamente reversíveis, podem ser facilmente confundidas com outros diagnósticos, até mesmo com o envelhecimento normal uma vez que pode se sobrepor ao quadro<sup>(4)</sup>.

A doença foi descrita pela primeira vez por Alois Alzheimer em 1906, que publicou o caso da paciente Auguste Deter, mulher saudável que acerca dos 50 anos desenvolveu um quadro de perda progressiva de memória, confusão, distúrbio de linguagem e do sono até falecer 5 anos mais tarde. No relatório anatomopatológico do tecido cerebral da paciente, Alzheimer descreveu a presença de placas e emaranhados neurofibrilares, caracterizando o principal processo responsável pelo caráter degenerativo da DA<sup>(5)</sup>.

A doença de Alzheimer (DA) é a principal doença neurodegenerativa após os 60 anos de idade em todo o mundo, representando cerca de 60% de todas as demências diagnosticadas clinicamente<sup>(1)</sup>.

Estima-se que até 2040, 80 milhões de pessoas serão portadoras desta enfermidade, isto devido ao aumento da expectativa de vida, principalmente nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, calculando um aumento de aproximadamente 300% em localidades como América Latina e Índia<sup>(1)</sup>.

No Brasil, um estudo feito com 1656 indivíduos acima dos 65 anos realizado pela Escola de Medicina de Catanduva a fim de investigar a prevalência e incidência da DA, utilizou amostras de idosos de base comunitária e critérios diagnósticos atuais. Como resultado encontrou taxa de prevalência de 7,1% para os quadros demenciais, sendo a DA responsável por 55% dos diagnósticos<sup>(6)</sup>.

O Departamento Científico de Neurologia Cognitiva e do Envelhecimento da Academia Brasileira de Neurologia se reuniu em 2005 a fim de elaborar padrões de diagnóstico para DA no Brasil. Na época, a recomendação estabelecida foi o critério do DSM IV para diagnóstico de demência e do NINCDS-ADRDA para diagnóstico de DA, considerando a grande aceitação no meio médico e alta sensibilidade e especificidade. Em 2010, o Ministério da Saúde publicou o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas - Doença de Alzheimer, caracterizando a DA como diagnóstico de exclusão e considerando as recomendações feitas pelo NINCDS-ADRDA. Condições como depressão, alterações de tireoide e níveis séricos de vitamina B12 foram inseridos no rastreamento, assim como exame físico e neurológico foram preconizados a fim de caracterizar diagnósticos diferenciais e identificar as alterações de memória, linguagem e visoespaciais, assim como outros sintomas cognitivos e não cognitivos<sup>(6)</sup>.

Apesar da DA ser responsável por dois terços dos quadros demenciais diagnosticados, há várias etiologias que podem levar à demência. Os quadros de demência vascular e frontotemporal são os mais frequentes depois da DA, sendo responsáveis por 10% e 5% dos casos, respectivamente, possuindo um denominador comum de prejuízo da memória e cognitivo devido morte neuronal, assim como as outras demências<sup>(7)</sup>.

Na demência frontotemporal há mudanças de comportamento e personalidade além da dificuldade de linguagem, sendo as áreas frontal e temporal as mais acometidas. Já a demência vascular, antigamente denominada demência pós-AVE, causa prejuízo do julgamento e tomada de decisão, assim como problemas de planejamento e organização, sem alteração da personalidade, que são considerados sintomas iniciais de um quadro agudo característico de condições de isquemia. O curso da demência pode sofrer alterações devido acontecimento de novos acidentes vasculares<sup>(7,8,9)</sup>.

Outro quadro comumente tido como diagnóstico diferencial da DA é a demência por corpos de Lewy, onde há perda de memória e raciocínio, mas precocemente os acometidos apresentam distúrbios do sono, alucinações visuais e parkinsonismo. Nos estágios iniciais desta enfermidade, há flutuação do comprometimento cognitivo, porém em condições avançadas, a sintomatologia é similar à DA. Histopatologicamente, a doença também se difere da DA devido presença de agregados de proteína alfa-sinucleína no córtex cerebral, que também ocorrem na doença de Parkinson, porém com padrões distintos<sup>(8,9)</sup>.

Apesar das representações demenciais possuírem características que facilitam a diferenciação de um ou outro quadro, um mesmo paciente pode apresentar mais de um tipo de demência simultaneamente, o que dificulta o diagnóstico<sup>(8)</sup>.

A DA é responsável por um processo lento e crônico de degeneração neuronal, debilitando os portadores e prejudicando muitas funções ao longo dos anos. Apesar dos sintomas clínicos eclodirem em idosos, acredita-se que existam informações suficientes evidenciando que os mecanismos fisiopatológicos iniciam-se décadas antes dos achados clínicos, gerando o pródromo denominado comprometimento cognitivo leve (CCL)<sup>(1)</sup>.

O pródromo da DA, ou CCL, caracteriza-se por início das alterações que desencadeiam um distúrbio cognitivo clínico leve e sintomático, porém que não preenche os quesitos tanto para DA como para envelhecimento normal. Este transtorno é classificado em amnésico e não amnésico, de acordo com o comprometimento da memória, e aqueles com CCL amnésico apresentam maior probabilidade de evoluírem para o quadro demencial de DA, com taxa de conversão entre 4-25%<sup>(10)</sup>.

CCL amnésico caracteriza-se por indivíduos com comprometimento de memória, principalmente a episódica, maior do que esperado para a idade. O déficit cognitivo pode ser

isolado, ou seja, amnésico único domínio, ou ser acompanhado por déficits menores em outros domínios, como linguagem, funções executivas ou habilidades visoespaciais, sendo denominado CCL amnésico múltiplos domínios. Já no CCL não amnésico, há implicação da cognição, todavia a memória está preservada, também sendo dividido em único domínio e domínios múltiplos<sup>(11)</sup>.

É importante salientar que o CCL não está exclusivamente relacionado a DA, podendo associar-se a outros quadros clínicos como traumas, doenças cardiovasculares e depressão. Entretanto, pesquisas mostram certa correlação entre o subtipo de CCL, possível etiologia e evolução, como observamos na correlação CCL amnésico/DA a qual apresenta etiologia potencialmente degenerativa e os acometidos possuem maior probabilidade de evoluírem para DA<sup>(11)</sup>.

Os critérios diagnósticos para DA e outras demências são considerados confiáveis e usados rotineiramente na prática médica. Entretanto, para os pacientes que não se enquadram nestes quesitos e também não possuem estado cognitivo normal, o diagnóstico ainda permanece um desafio<sup>(12)</sup>.

No envelhecimento normal, a grande disparidade em relação à DA é que existe declínio cognitivo, porém sem interferir de forma significativa na rotina dos pacientes, além de preservar a memória de procedimento e semântica e comprometer com maior frequência a memória episódica e de trabalho. Os pacientes que apresentam diminuição do desempenho cognitivo maior do que esperado para a idade, todavia sem preencher os critérios para demência, são incluídos no grupo daqueles com comprometimento cognitivo leve<sup>(11)</sup>.

Com objetivo de otimizar o acompanhamento da evolução de déficits cognitivos e o diagnóstico precoce de alterações mais preocupantes, como a DA, a New York University School of Medicine's Silberstein Aging e Dementia Research Center desenvolveu uma classificação dos estágios de comprometimento intelectual:

1. Normal: indivíduo não apresenta nenhum problema de memória e em entrevista com profissional habilitado não apresenta evidência de sintomas demenciais.

2. Comprometimento cognitivo muito leve: pode estar relacionado com envelhecimento normal ou sinais precoces de DA. Paciente percebe lapsos de memória, mas

sinais e sintomas de demência não são detectados por profissional, amigos, família ou colegas de trabalho.

3. Comprometimento cognitivo leve: estágio precoce de DA em alguns casos. Familiares, amigos e colegas de trabalho começam a notar o comprometimento cognitivo. Prejuízo de memória ou concentração podem ser detectados por profissionais. Este estágio inclui dificuldades como: problemas para lembrar palavras e nomes, principalmente de pessoas recém-apresentadas, dificuldade em planejamento e organização, perda de objetos, dificuldade em fazer tarefas sociais e no trabalho.

4. Comprometimento cognitivo moderado: neste estágio, uma entrevista médica é capaz de detectar sintomas em diversas áreas: esquecimento de eventos recentes, prejuízo da habilidade de desafio aritmético (contar até 100 de trás para frente por 7 segundos), problemas de planejamento das finanças, eventos e tarefas diárias.

5. Comprometimento cognitivo moderadamente grave: lapsos de memória e pensamento tornam-se notáveis e os pacientes começam a necessitar de ajuda para afazeres cotidianos. Os acometidos apresentam dificuldade para lembrar seu próprio endereço e telefone, ficam confusos em relação ao espaço em que estão, os desafios aritméticos simples tornam-se ainda mais difíceis de concluir, precisam de ajuda para escolher vestuário apropriado, porém ainda se recordam de informações importantes em relação a si próprio e da família e ainda não necessitam de auxílio durante as refeições ou ao usar o banheiro.

6. Comprometimento cognitivo grave ou *mid-stage* da DA: a memória continua a piorar, com mudança de personalidade e indivíduos que precisam de ajuda para atividades diárias. Estes pacientes perdem a consciência de eventos recentes e também do espaço, apesar de lembrarem o próprio nome, apresentam dificuldades em lembrar de sua história pessoal. Conseguem distinguir pessoas estranhas dos conhecidos, entretanto não lembram seus respectivos nomes. Não conseguem se vestir de forma apropriada em relação a ocasião ou hora do dia, além de mudarem o padrão do sono. Apresentam alterações importantes de personalidade e comportamento, tendo atitudes de suspeita, compulsão, delírios, tendendo a se perder e ter comportamento repetitivo.

7. Comprometimento cognitivo muito grave ou estágio avançado de DA: indivíduos perdem a capacidade de interagir com o ambiente, de controlar movimentos e de manter uma

conversa. Alguns ainda conseguem proferir algumas palavras ou frases. Estes pacientes não conseguem mais comer ou usar o banheiro sozinhos, muitos perdem a capacidade de sorrir, de sustentar a cabeça ou sentar sem apoio. Reflexos tornam-se anormais, musculatura torna-se rígida e a deglutição fica comprometida<sup>(13)</sup>.

A *American Academy of Neurology* concluiu que pacientes com CCL apresentam maior risco de evoluir clinicamente para DA severa e devem ser monitorados e acompanhados por profissional habilitado, sendo esta fase de alteração neurológica o alvo preponderante de manobras para diagnóstico precoce, já que representa o estágio inicial da DA<sup>(14)</sup>.

As estatísticas em relação à DA estão subestimadas e os quadros de CCL poderiam ser diagnosticados antecipadamente, o que teria enorme impacto na vida dos pacientes acometidos, permitindo melhor ajuste familiar, tomada de decisão da família e do paciente e condutas preventivas ainda quando a capacidade de julgamento e decisão estão minimamente comprometidas<sup>(9)</sup>.

Além do CCL, outras condições estão associadas a maior probabilidade de desenvolvimento da DA, sendo consideradas fatores de risco. Estes são divididos em fatores imutáveis ou mutáveis, sendo os mutáveis alvo de inúmeros estudos em curso a fim de identificar características passíveis de intervenção<sup>(9)</sup>.

- Imutáveis:

Idade: é o principal fator de risco da DA, sendo que a grande maioria dos pacientes apresentam 65 anos ou mais. A probabilidade de desenvolver a DA dobra a cada 5 anos após atingir esta faixa etária. Aos 85 anos, o risco atinge quase 50%<sup>(16)</sup>.

História familiar: pessoas que possuem parentes de primeiro grau com a doença apresentam maior chance de também terem DA, aumentando o risco ao aumentar o número de acometidos na família<sup>(16)</sup>.

Genética: sabe-se que existem genes envolvidos na DA, tanto de risco como determinantes. Os determinantes caracterizam a DA familiar, com padrão de herança autossômico dominante, afetando várias gerações<sup>(16)</sup>.

- Mutáveis:

Trauma craniano: acredita-se que exista ligação direta de traumas cranianos graves e o surgimento da DA, principalmente quando o trauma ocorre constantemente ou envolve perda de consciência<sup>(16)</sup>.

Conexão coração-encéfalo: evidências mostram que a saúde do coração interfere na saúde neurológica, já que 20-25% do sangue ejetado pelo coração é bombeado para o cérebro. O risco para DA e demência vascular aumenta muito na presença de doenças cardíacas ou vasculares, como hipertensão arterial sistêmica (HAS), acidente vascular encefálico (AVE), diabete melito (DM), hipercolesterolemia. Evidências histopatológicas também confirmam esta conexão, onde as placas e os emaranhados estão mais propensos a causar sintomas de DA na presença de danos em vasos cerebrais<sup>(16)</sup>.

Envelhecimento: as recomendações são para saúde da cabeça e do corpo: manter o peso de acordo com os padrões saudáveis, evitar tabaco e álcool, exercitar mente e corpo<sup>(15)</sup>.

Ainda na tentativa de proporcionar diagnóstico precoce de alterações cognitivas, alguns sinais de alerta podem auxiliar na percepção de modificações na capacidade intelectual e levarem o indivíduo a procurar atendimento especializado, o que, na maioria das vezes, melhora o prognóstico. São eles:<sup>(16)</sup>

- Perda de memória que prejudica a vida cotidiana: é o sinal mais característico da doença, principalmente para memória recente. Outras falhas significativas são o esquecimento de eventos e datas, uso abusivo de lembretes, pedir a mesma informação várias vezes. A diferença para com o envelhecimento normal é que neste caso a pessoa se esquece algumas vezes de nomes ou compromissos, porém recorda tempo depois<sup>(16)</sup>.

- Problemas de planejamento e solução de problemas: pacientes enfrentam problemas em seguir um plano ou trabalhar com números. Tarefas como seguir uma receita ou organizar as contas mensais tornam-se difíceis e a concentração fica prejudicada<sup>(16)</sup>.

- Dificuldade em completar tarefas corriqueiras: tarefas diárias tornam-se complicadas, como dirigir para locais conhecidos, lembrar regras de um jogo<sup>(16)</sup>.

- Confusão com tempo e espaço: indivíduos com DA perdem a noção das datas, estações do ano, tempo. Apresentam dificuldade em compreender algo que esteja acontecendo

naquele momento e as vezes esquecem onde estão ou como chegaram até determinado local<sup>(16)</sup>.

- Problemas em entender imagens ou relação de espaço: dificuldades em ler, julgar distância, determinar cores, o que geralmente gera problemas ao dirigir. No envelhecimento normal, na maioria das vezes, isto se dá devido à catarata<sup>(16)</sup>.

- Problemas com linguagem – conversando ou escrevendo: há dificuldade em seguir ou participar de uma conversa. Geralmente, param no meio do diálogo, não sabem como continuar ou ainda repetem a mesma informação várias vezes. Tendem a não usar as palavras corretas para designar objetos<sup>(16)</sup>.

- Perda de objetos e perda da habilidade em voltar passos: pacientes colocam objetos em locais incomuns e são incapazes de voltar os passos para achá-los novamente, alguns dizem que foram roubados<sup>(16)</sup>.

- Problemas de julgamento: perdem a noção de quanto vale o dinheiro e prestam menos atenção na higiene pessoal<sup>(16)</sup>.

- Reclusão: pessoas com DA tendem a se retirar do trabalho, hobbies, atividades sociais, esportes ou projetos<sup>(16)</sup>.

- Mudanças de humor e personalidade: tornam-se confusos, suspeitos, depressivos, medrosos e ansiosos. Aborrecem-se com facilidade quando estão fora de sua zona de conforto<sup>(16)</sup>.

Ao notar alterações características da doença, principalmente em estágios precoces, é possível se beneficiar de tratamentos, ter mais tempo para planejar o futuro e para preparar a família e pessoas próximas para as prováveis intercorrências da doença<sup>(16)</sup>.

Nos últimos anos, muito empenho foi colocado na tentativa de identificar um biomarcador neuropatológico, bioquímico ou genético para doenças neurodegenerativas, exaltando o fato de que a maioria destas não apresenta cura e são progressivas, causando quadros extremamente debilitantes, como a DA<sup>(17)</sup>.

Definem biomarcadores, basicamente, como substâncias utilizadas para identificar a presença ou desencadeamento de certas patologias. Além da utilidade diagnóstica, também possuem função no estadiamento da doença, resposta ao tratamento e diagnóstico diferencial<sup>(17)</sup>.

Atualmente, estudos da Washington University, *American Academy of Neurology*, *Alzheimer's Association* e outros tantos, evidenciam o uso promissor de biomarcadores na abordagem de indivíduos com história familiar de DA e/ou com sinais e sintomas clínicos de distúrbios cognitivos sugestivos da doença<sup>(14,18)</sup>.

Em 1998, consumaram-se os critérios para os biomarcadores da DA. Estes devem ser precisos, confiáveis, de baixo custo e serem característicos da doença, sendo quantificáveis e não apenas prováveis, já que serão responsáveis pela detecção de estágios assintomáticos da doença e distinção entre DA e outros processos neurodegenerativos, isto é, devem combinar alta sensibilidade e especificidade ao alto valor preditivo positivo<sup>(1)</sup>.

Existem ainda estudos, como German Task Force on Alzheimer's Disease, que reúnem especialistas multidisciplinares de todo o mundo com a finalidade de melhorar a caracterização e abordagem dos quadros de DA através do uso de biomarcadores. Estes pesquisadores usaram das próprias alterações patológicas da DA para buscar substâncias passíveis de mensuração e utilização como marcador biológico do desencadeamento da enfermidade<sup>(1)</sup>.

Os principais achados patológicos da DA são as placas senis amilóides extracelulares, compostas por depósito de peptídeo A $\beta$ 40 e 42, e os emaranhados neurofibrilares intracelulares, decorrentes da hiperfosforilação da proteína tau<sup>(18)</sup>.

A proteína tau localiza-se nos axônios e possui vários locais de fosforilação. Acredita-se que a concentração desta no líquido seja condizente com a intensidade e velocidade de degeneração neuronal nas doenças neurodegenerativas crônicas, inclusive a DA<sup>(1)</sup>.

O peptídeo A $\beta$ 42 é o principal componente das placas senis, sendo resultado da clivagem da APP (proteína precursora de amilóide) pela  $\beta$ -secretase. De acordo com os ensaios reproduzidos, o peptídeo A $\beta$ 42 está em concentração diminuída no líquido devido depósito no neocórtex e hipocampo por formação das placas senis<sup>(1)</sup>.

Estes dois eventos combinados resultam na perda de células neuronais e, conseqüentemente, déficit funcional das sinapses e atrofia do parênquima cerebral, culminando na demência. A dosagem destas proteínas no líquido é a principal ferramenta atualmente estudada para novas abordagens no diagnóstico dos quadros de CCL e DA<sup>(18)</sup>.

Considerando os avanços dos ensaios com biomarcadores e a fisiopatologia do CCL e DA, justifica-se a pesquisa destes para a diagnóstico precoce, isto principalmente para aqueles que preenchem os critérios para CCL combinados com análise do líquido com alterações características, desta forma predizendo a evolução do CCL para DA severa<sup>(19)</sup>.

Em 2012, o *National Institute on Aging-Alzheimer's Association* estabeleceu algumas indicações para o uso dos biomarcadores no líquido: encontrar a etiologia de uma síndrome clínica em um paciente com CCL, visando preconizar o melhor tratamento disponível e determinar a probabilidade de progressão do comprometimento cognitivo e funcional para estágios mais avançados do CCL ou demência em um determinado período<sup>(20)</sup>.

Considerando que os marcadores apresentam propriedades intrínsecas distintas, alguns podem ser úteis para prognóstico, enquanto outros estabelecem etiologias, desta forma, conhecer a aplicabilidade dos mesmos é de suma importância para efetivar o uso destes na rotina de diagnóstico. Apesar de estarem associadas também a outros processos neurodegenerativos crônicos, as proteínas tau e  $\beta$ -amiloide refletem diretamente a DA, e juntas indicam depósito proteico no tecido cerebral que gera o dano neuronal característico da doença<sup>(20)</sup>.

Imprescindível evidenciar que, apesar dos estudos em curso apresentarem sensibilidade e especificidade entre 80-92%, biomarcadores dentro dos níveis da normalidade não descartam a DA e ainda podem estar associados a outras enfermidades, como Parkinson, depressão e esclerose lateral amiotrófica<sup>(18,1)</sup>.

## **Objetivos**

Este estudo tem como cerne reunir dados de diferentes materiais científicos de reputação reconhecida sobre a eficácia da utilização de biomarcadores líquidos na investigação, estadiamento e diagnóstico diferencial da doença de Alzheimer, pormenorizando as vantagens e desvantagens da utilização dos mesmos e contribuindo para a assistência dos acometidos e seus familiares.

## Metodologia

Tendo como cunho a revisão da literatura sobre os biomarcadores líquóricos para DA, este trabalho tem como fonte de dados as pesquisas bibliográficas de livros, artigos científicos e sites informativos sobre o assunto.

Os livros incluem tratados e compêndios de neurologia. Artigos foram acessados nos bancos de dados de Scielo e Pubmed e os endereços eletrônicos acessados foram da Alzheimer's Association e Alzheimer's Society.

Após aprovação do projeto de pesquisa pelo comitê de ética da Universidade Anhembí Morumbi, as informações foram selecionadas de acordo com os resultados mais significativos para a prática clínica e impacto no manejo dos acometidos pela doença. Foram eliminados os dados que não atendiam aos critérios de aplicabilidade, como baixa especificidade e sensibilidade do teste.

## Discussão

Na tentativa de identificar um biomarcador para doenças neurodegenerativas, a classe científica vem insistindo nesta linha de pesquisa, que tem demonstrado bons resultados<sup>(17)</sup>.

Após estudos como *German Task Force on Alzheimer's Disease*, que visam melhorar a padronização dos testes e abordagem dos pacientes, alguns dentre vários marcadores apresentaram resultados significativos, mostrando inclusive sua utilidade tanto antes como após a instalação da DA<sup>(1)</sup>.

Para qualificar os biomarcadores como relevantes é necessário que estes sejam mensurados por métodos validados, que tenham sensibilidade e especificidade altas, que sejam sensíveis aos efeitos das drogas e preditivos para os resultados clínicos<sup>(1)</sup>.

O *National Institute of Health* separa os biomarcadores em aqueles que estão diretamente relacionados com a DA, como depósito de proteína  $\beta$ -amilóide, e aqueles associados à injúria neuronal, como alterações funcionais e estruturais e da tau total e fosforilada. A combinação da dosagem de A $\beta$ 42, tau total, a relação A $\beta$ 42/tau total, dosagem amilóide na PET-CT e alterações que indicam dano neuronal, como atrofia hipocampal e hipometabolismo temporoparietal, é capaz de prever sobre a progressão do CCL para DA<sup>(20)</sup>.

Sabe-se que a proteína tau e o peptídeo A $\beta$ 42 são próprios da fisiopatologia da DA, formando os emaranhados neurofibrilares e as placas senis extracelulares, respectivamente, que resultam na perda neuronal e consequente quadro demencial característico da DA<sup>(18)</sup>.

A proteína tau é uma molécula intracelular localizada nos axônios e possui vários sítios de fosforilação. É responsável por estabilizar os microtúbulos neuronais, sendo sua regulação feita através de fosforilação. Indivíduos normais apresentam baixos níveis de proteína Tau no líquido. Na DA, há prejuízo da funcionalidade desta proteína devido hiperfosforilação, fazendo com que esta se desprenda dos microtúbulos e passe a formar emaranhados, resultando em dano da integridade axonal e aumento da flexibilidade do citoesqueleto celular. Acredita-se que a concentração desta no líquido seja condizente com a intensidade e velocidade de degeneração neuronal nas doenças neurodegenerativas crônicas, inclusive a DA<sup>(1,18)</sup>.

O peptídeo A $\beta$ 42 é o principal componente das placas senis, sendo resultado da clivagem da APP (proteína precursora de amilóide) pela  $\beta$ -secretase. APP consiste em uma proteína transmembrana de 695-770 aminoácidos presente nos histiócitos e altamente expressa no tecido nervoso, funcionando como receptor de membrana. Sua clivagem acontece na presença das enzimas  $\alpha$ -secretase,  $\beta$ -secretase e  $\gamma$ -secretase. A clivagem pelas enzimas  $\alpha$  e  $\gamma$  levam à formação de dois peptídeos solúveis, denominados P3 e sAPP $\alpha$ . A clivagem pela  $\beta$  e  $\gamma$  resulta em peptídeos insolúveis A $\beta$  e sAPP $\beta$ . Em vias normais, a APP é clivada pelas enzimas  $\alpha$  e  $\gamma$ , formando os peptídeos solúveis, onde sAPP $\alpha$  tem papel importante na manutenção da atividade neuronal, protegendo as células contra a excitotoxicidade e controlando a proliferação celular. A produção exacerbada da A $\beta$ , principalmente A $\beta$ 42, que tem maior tendência à agregação, gera efeitos tóxicos aos neurônios, culminando em disfunção sináptica, formação de emaranhados neurofibrilares e eventualmente a perda neuronal. De acordo com os ensaios reproduzidos, o peptídeo A $\beta$ 42 está em concentração diminuída devido depósito no neocórtex e hipocampo, ou seja, por formação das placas senis<sup>(1)</sup>.

Para dosagem destes biomarcadores, uma das técnicas utilizadas, inclusive pelo ensaio de alta performance da *Alzheimer's disease Neuroimaging Initiative*, é o AlzBio 3 feito na

plataforma Luminex, que testa proteína A $\beta$  e tau simultaneamente e apresenta acurácia similar à encontrada nos métodos ELISA<sup>(21)</sup>.

## Resultados

Atualmente, o diagnóstico da DA é clínico e está vinculado às alterações neuropatológicas da doença que desencadeiam os sintomas de comprometimento cognitivo, o que indica que a enfermidade já está instalada. Estima-se que, com a consolidação dos biomarcadores no diagnóstico precoce da DA e atraso em um ano no início da doença, reduziria a prevalência da doença em 9 milhões de casos até 2050<sup>(1)</sup>.

Após pesquisas, aposta-se em algumas utilidades para os biomarcadores, como seleção do tratamento de acordo com a progressão da doença, utilizando "drogas modificadoras" do quadro e não apenas sintomáticas, melhor adequação das doses, otimização dos mecanismos de ação, monitoramento dos efeitos medicamentosos, prognóstico e como ferramentas de *screening* para programas de prevenção<sup>(1)</sup>.

Segundo Humpel, a combinação das mensurações de proteína tau, tau fosforilada e A $\beta$ 42 apresenta sensibilidade > 95% e especificidade > 85% no diagnóstico da DA<sup>(21)</sup>.

Ensaio comparativos mostram que a concentração de proteína tau total líquórica é três vezes maior em pacientes com DA. Já a tau fosforilada aparenta fornecer informações mais relevantes em relação ao curso da doença, pois não é apenas um marcador de dano neuronal, como a tau total, mas sim um indicador do nível de fosforilação da proteína, que, por conseguinte, dita a velocidade de formação dos emaranhados neurofibrilares e, conseqüentemente, o estágio de severidade da patologia<sup>(20)</sup>.

Considerando que a DA é uma patologia característica da faixa etária idosa e que a incidência aumenta com o avançar da idade, os níveis de tau total líquórica aumentam gradativamente, inclusive nos grupos controle, entretanto na DA, as dosagens são significativamente maiores que o esperado<sup>(1)</sup>.

A dosagem de tau total também é útil na caracterização das síndromes de CCL, onde ensaios mostram que 90% daqueles comprometidos com tal condição clínica progridem para DA severa<sup>(1)</sup>.

Inicialmente, peptídeo A $\beta$  total foi mensurado no líquido, o que não trouxe bons resultados em relação a prever a DA, porém a dosagem dos subtipos deste peptídeo geraram resultados animadores. Estudos mostram que a dosagem desta proteína é capaz de prever o dano neuronal, entretanto não está estabelecido se é fator desencadeante da doença. Acredita-se que, nos acometidos pela DA, o peptídeo A $\beta$ 42 esteja em concentração diminuída acerca de 50% do esperado em indivíduos normais, pois há depósito destes no neocórtex e hipocampo<sup>(1,20)</sup>.

Apesar dos ensaios mostrarem que o uso conjunto da dosagem de proteína tau e A $\beta$  é o método mais adequado e útil para o manejo dos pacientes com CCL ou DA, os resultados sugerem que a proteína tau é menos específica do que a A $\beta$  todavia, quando combinadas, desenvolvem papel altamente informativo sobre patologias neurológicas<sup>(20)</sup>.

De acordo com o manual de recomendações do *National Institute of Health*, a mais alta probabilidade de um quadro de CCL estar associado à DA é quando há positividade do exame de marcador de depósito de A $\beta$  e de dano neuronal de forma concomitante e, nestes pacientes, a velocidade de progressão da síndrome clínica de CCL para DA é mais rápida<sup>(20)</sup>.

Risco intermediário é encontrado nos perfis onde os valores positivos são apenas para um marcador, ou seja, A $\beta$  ou dano neuronal, isto quando os dois marcadores não podem ser testados simultaneamente por indisponibilidade do teste, custo ou outra circunstância. Não se incluem nesta categoria os resultados conflitantes, cujos ainda permanecem pouco esclarecidos quanto interpretação e utilidade clínica<sup>(20)</sup>.

Baixo risco caracteriza-se por resultados negativos nas duas classes de biomarcadores, depósito de A $\beta$  e dano neuronal, indicando pouca probabilidade do quadro de CCL estar vinculado à DA. Nestas situações, outros marcadores devem ser testados na tentativa de caracterizar a etiologia do déficit cognitivo<sup>(20)</sup>.

Após cruzamento de informações de diversos ensaios, apóia-se atualmente a ideia da combinação de marcadores para diagnóstico mais preciso da DA e CCL. A dosagem destas proteínas, juntamente com exames de neuroimagem, apresentam futuro próspero de acordo com as análises já concluídas, porém a carência de padronização dos métodos de análise dificulta a validação dos testes, o que, no momento atual, indica-os apenas para motivos de pesquisa. Outras limitações são a necessidade de punção lombar para aquisição de amostra

biológica, a falta de estudos comparativos e confirmação em estudos *post mortem*, a dificuldade em interpretar a utilidade dos biomarcadores combinados e a variabilidade de resultados, ou seja, a ausência de titulações controle devido diferentes protocolos para realização do exame, o que dificulta a generalização dos achados e estabelecimento de pontos de corte<sup>(18,19,20)</sup>.

## **Conclusão**

Após revisão da literatura, é possível concluir que os biomarcadores liquóricos para DA ainda não são solicitados corriqueiramente na prática clínica porém, considerando os resultados animadores das pesquisas já concluídas e em andamento, acredita-se caracterizar em breve a utilidade concreta destas alterações na rotina dos pacientes acometidos pela doença.

A proteína tau total, tau fosforilada e peptídeo A $\beta$ 42 obtiveram os melhores resultados e defende-se a dosagem combinada destes biomarcadores para resultados mais confiáveis. Todavia, apesar da relação próxima destas substâncias com a DA, outras doenças podem apresentar alterações similares e resultados normais não descartam a enfermidade.

O principal alvo destes ensaios é o diagnóstico precoce de alterações cognitivas, principalmente na caracterização do CCL amnésico com grande probabilidade de evoluir para DA severa, na tentativa de melhorar a qualidade de vida e prognóstico dos pacientes.

A falta de padronização dos testes é um dos principais revéses na mensuração destes biomarcadores, o que, atualmente, indica a dosagem dos mesmos apenas para fins científicos.

## **Referências**

1. Hampel et al. The future of Alzheimer's disease: the next 10 years. *Progress in Neurobiology*. 2011;95:718-728.
2. Ciprinani G, Dolciotti C, Picchi L, Bonucelli, U. Alzheimer and his disease: a brief history. *J Neurological Sciences*. 2011;32(2):275-279.[acesso 02 mar 2015]. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10072-010-0454-7>.
3. Dias SS, Oliveira MCSL. Deficiência intelectual na perspectiva histórico-cultural: contribuições ao estudo do desenvolvimento adulto, *Rev. Bras. Ed. Esp., Marília*, 2013;19(2): 169-182, abr/jun [acesso 02 mar 2015]. Disponível em: <http://www.scielo.br>.

4. Cambier J, Dehen H, Masson M. Demências orgânicas no adulto. *In*: Cambier J, Dehen H, Masson M. Neurologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998. p. 466.
5. Hippus H, Neudorfer G. The Discovery of Alzheimer's disease. *Dialogues Clin Neurosci*. 2003;5(1):101-108, mar [acesso 02 mar 2015]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3181715/>
6. Ministério da saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Portaria nº0491, de 23 de Setembro de 2010. Brasília; 2010 [acesso 03 mar 2015]. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2010/prt0491\\_23\\_09\\_2010.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2010/prt0491_23_09_2010.html)
7. Statens Beredning För Medicinsk Utvärdering. Dementia - etiology and epidemiology - a systematic review. 2008;1 [acesso 03 mar 2015]. Disponível em: [http://www.sbu.se/upload/publikationer/content1/1/dementia\\_vol1.pdf](http://www.sbu.se/upload/publikationer/content1/1/dementia_vol1.pdf)
8. Alzheimer's Society. The progression of Alzheimer's disease and other dementias. 2013 [acesso 03 mar 2015]. Disponível em: [www.alzheimers.org.uk/site/scripts/download\\_info.php?downloadID=1110](http://www.alzheimers.org.uk/site/scripts/download_info.php?downloadID=1110)
9. Alzheimer's Association. Types of dementia. 2015 [acesso 04 mar 2015]. Disponível em: <http://www.alz.org/dementia/types-of-dementia.asp>
10. Forlenza OV et.al. Clinical and biological predictors of Alzheimer's disease in patients with amnesic mild cognitive impairment. *Rev. Brasileira de Psiquiatria*, 2010;32(3):216-222, set [acesso 05 mar 2015]. Disponível em: [www.producao.usp.br](http://www.producao.usp.br)
11. Clemente RSG, Ribeiro Filho STR. Comprometimento cognitivo leve: aspectos conceituais, abordagem clínica e diagnóstica. Rio de Janeiro, Revista do Hospital Pedro Ernesto UERJ, 2008;7:68-77, jan/jun [acesso 05 mar 2015]. Disponível em: [http://revista.hupe.uerj.br/detalhe\\_artigo.asp?id=193](http://revista.hupe.uerj.br/detalhe_artigo.asp?id=193)
12. Chertkow H, Massoud F, Nasreddine Z, Belleville S, Joanette Y, Bocti C et.al. Diagnosis and treatment of dementia: 3. Mild cognitive impairment and cognitive impairment without dementia. *CMJA*, 2008;178(10):1273-1285, may [acesso 05 mar 2015]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2335177/>
13. Alzheimer's Association. Seven stages of Alzheimer's. 2015 [acesso 04 mar 2015]. Disponível em: [http://www.alz.org/alzheimers\\_disease\\_stages\\_of](http://www.alz.org/alzheimers_disease_stages_of)
14. Kelley BJ, Petersen RC. (2007) *In*: Clemente RSG, Ribeiro Filho STR. Comprometimento cognitivo leve: aspectos conceituais, abordagem clínica e diagnóstica. Rio de Janeiro, Revista do Hospital Pedro Ernesto UERJ, 2008;7:68-77, jan/jun [acesso 05 mar 2015]. Disponível em: [http://revista.hupe.uerj.br/detalhe\\_artigo.asp?id=193](http://revista.hupe.uerj.br/detalhe_artigo.asp?id=193)

15. Alzheimer's Association. Risk factors. 2015 [acesso 04 mar 2015]. Disponível em: <http://www.alz.org/alzheimersdiseaseriskfactors.asp>
16. Alzheimer's Association. 10 Early signs and symptoms of Alzheimer's. 2015 [acesso 04 mar 2015]. Disponível em: [http://www.alz.org/alzheimers\\_disease\\_10\\_signs\\_of\\_alzheimers.asp](http://www.alz.org/alzheimers_disease_10_signs_of_alzheimers.asp)
17. Rachakonda V, Pan TH, Le WD. Biomarkers of neurodegenerative disorders: how good are they? *Cell Reserch* 2004;14(5):649-360 [acesso 06 mar 2015]. Disponível em: 3 111-249-1-SM.doc
18. Anoop A, Singh PK, Jacob RS, Maji SK. CSF Biomarkers for Alzheimer's disease diagnosis. *International Journal of Alzheimer's Disease*. 2010;2-12, mar/apr [acesso 07 mar 2015]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals)
19. Diniz BSO, Forlenza OV. O uso de biomarcadores no líquido cefalorraquidiano no diagnóstico precoce da doença de Alzheimer. *Rev. Psiq. Clín.* 34(3); 144-145, 2007 [acesso 08 mar 2015]. Disponível em: <http://hcnnet.usp.br/ipq/revista/vol34/n3/144.html>
20. Albert MS et.al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging- Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2011 May ; 7(3): 270–279 [acesso 08 mar 2015]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>
21. Herskovits AZ, Locascio JJ, Peskind ER, Li G, Hyman BT. A Luminex assay detects amyloid  $\beta$  oligomers in Alzheimer's disease cerebrospinal fluid. 2013 [acesso 08 mar 2015]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23844122>