



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**EVOLUÇÃO DOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO NA DOENÇA DE
ALZHEIMER**

Trabalho submetido por
Joana Filipa Antão da Silva Fulgêncio
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

outubro de 2017



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**EVOLUÇÃO DOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO NA DOENÇA DE
ALZHEIMER**

Trabalho submetido por
Joana Filipa Antão da Silva Fulgêncio
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Prof. Doutor António Lourenço Cunha Monteiro

outubro de 2017

Dedicatória

Para o meu querido avô Luís da Silva Serpa que durante tantos anos lutou contra esta terrível doença onde acabou sendo vencido pela mesma.

“Mesmo quando eu andar por um vale de trevas e morte, não temerei mal algum, pois tu estás comigo; a tua vara e o teu cajado me protegem.” Salmos 23:4

Agradecimentos

Primeiramente, quero agradecer aos meus pais, *Ana Cristina* e *Eugénio*, pelo apoio e dedicação ao longo destes cinco anos. Obrigada por me proporcionarem a oportunidade de estudar na *Mui Nobre Academia Egas Moniz*, por incutirem determinação e força de vontade e por acreditarem nas minhas capacidades mesmo quando eu dizia não ser possível.

Às minhas querias avós, *Délmira* e *Vitória*, pelo apoio incondicional e acima de tudo por tornarem possível a concretização deste meu sonho.

Ao meu avô *Luís*, que apesar de já não se encontrar entre nós, me dar a motivação e a dedicação necessária para que conseguisse finalizar este projeto.

Aos companheiros de sempre: *André, Fábio, Inês, Joana, Liliana, Márcia, Marina, Marta, Rita, Sara, Sofia e Tiago*. Obrigada pela amizade, companheirismo, ajuda, paciência e por todo o apoio.

Aos eternos companheiros de faculdade: *Beatriz, Rita Duarte, Rita Lopes, Francisco e Margarida*. Obrigada por me mostrarem que algumas amizades que nascem na faculdade permanecerão para sempre.

Ao meu professor, *Professor Doutor António Lourenço Cunha Monteiro*, obrigada por toda a ajuda, conselhos e disponibilidade prestada durante a realização desta monografia.

Resumo

A doença de Alzheimer tem sido alvo de grandes problemas de foro diagnóstico. O avanço progressivo no estudo de doenças neurodegenerativas permitiu que os critérios utilizados no seu diagnóstico sofressem alterações e que fossem melhorados até à atualidade. Em adição aos critérios de diagnóstico utilizados, são realizados exames complementares, com o intuito de aumentar a certeza diagnóstica. Estes exames são baseados na realização de imagens estruturais e funcionais, biomarcadores presentes no líquido cefalorraquidiano, exames laboratoriais, estudo genético e ainda realização de electroencefalograma. Um melhor conhecimento dos mecanismos fisiopatológicos da doença permitirá que a sua distinção seja feita, aumentando a certeza do diagnóstico, reduzindo o número de casos diagnosticados como falsos positivos. Recentemente, o interesse da realização do diagnóstico em fases cada vez mais precoces tem sido uma prioridade na investigação de biomarcadores presentes na fisiopatologia de Alzheimer. A deteção da doença nesta fase, permitirá que a intervenção farmacológica seja feita o mais precocemente possível. Recentemente, BACE1, neurogranina e a proteína dos neurofilamentos leve demonstraram ser bastante promissores como novos biomarcadores de diagnóstico e prognóstico da doença de Alzheimer. No entanto, são necessários mais estudos, de modo a que estes biomarcadores possam ser incluídos nos critérios atualmente utilizados no diagnóstico da doença de Alzheimer.

Palavras-chave: biomarcadores, critérios de diagnóstico, demência, doença de Alzheimer.

Abstract

Alzheimer's disease has been at the end of major diagnostic problems. The recent studies in the field of neurodegenerative diseases have allowed the criteria used in its diagnostic to achieve some improvements. In addition to the diagnostic criteria, complementary exams are performed in order to increase the diagnostic accuracy. These exams include structural and functional imaging, biomarkers in the cerebrospinal fluid, laboratory exams, genetic studies and an encephalogram. A better knowledge of the pathophysiologic mechanisms of Alzheimer's disease will increase the diagnostic accuracy, reducing the number of cases diagnosed as false positives. The recent interest in making the diagnosis in the earlier phases of the follow-up of a patient has been a priority in the investigation of the biomarkers that exist in the pathophysiology of this disease. Detection in its early phase will allow pharmacologic intervention to be done as early as possible. Recently, BACE1, neurogranin and the neurofilament light protein have shown to be quite promising as new biomarkers for the diagnosis and prognosis of Alzheimer's Disease. However, more studies are required in order to include these biomarkers in the diagnosis criteria of Alzheimer's disease

Key words: biomarkers, diagnostic criteria, dementia, Alzheimer's disease.

Índice Geral

Resumo	1
Abstract	2
Índice Geral.....	3
Índice de Figuras	5
Índice de Tabelas	6
Lista de Abreviaturas.....	7
I – Introdução	10
II – Teoria da origem da Doença de Alzheimer	14
Hipótese Vascular	16
Hipótese Psicossocial.....	21
Hipótese nutricional e dietética.....	23
Hipótese Genética	24
Outras Hipóteses.....	26
III- Sintomatologia	29
IV- Caracterização da doença de Alzheimer	33
V - Critérios de Diagnóstico da doença de Alzheimer.....	37
Classificação Internacional de Doenças (CID)	37
Critérios DMS	37
Critérios NINCDS-ADRDA	39
Critérios Dubois et al.....	40
Critérios NIA-AA.....	43
VI - Exames complementares ao diagnóstico da doença de Alzheimer.....	45
Exames de neuroimagem estrutural	48
Exames de neuroimagem funcional.....	54
Exame ao líquido cefalorraquidiano (LCR).....	62
Exames laboratoriais	68
Electroencefalograma (EEG) e potenciais evocados.....	Erro! Marcador não definido.
Testes genéticos e risco de Alzheimer.....	74
VII - Novas abordagens do diagnóstico da doença de Alzheimer	78
Detecção de Neurogranina	78

Pesquisa de proteína dos neurofilamentos leve (PNL)	79
Pesquisa de BACE1	81
The Handbook of Biomarkers 2017	85
VIII -Conclusão	86
IX – Bibliografia	90
X – Anexos.....	98

Índice de Figuras

Figura 1- Número de pessoas com demência que vivem em países de baixo e médio rendimento comparativamente com países de rendimento alto(Alzheimer’s Disease International (ADI), 2015)	10
Figura 2- Prevalência específica da doença de Alzheimer (por 100 habitantes) através de continentes e países; prevalência de todos os tipos de demência (Qiu et al., 2009)	11
Figura 3- Idade de indivíduos com DA nos EUA no ano 2016 (Alzheimer’s Association, 2016)	12
Figura 4- Placas (plaques) e emaranhados (tangles) presentes no córtex cerebral de um indivíduo com DA (Blennow et al., 2006)	33
Figura 5- Cascata amilóide (Blennow et al., 2006)	34
Figura 6- A: Proteína tau ligada ao microtúbulo através dos seus domínios de ligação aos microtúbulos. Abaixo encontra-se um desenho esquemático de tau hiperfosforilada com locais de fosforilação, treonina (T) ou serina (S). B: Diagrama de fluxo de hiperfosforilação de tau e formação de emaranhados (Blennow et al., 2006)	35
Figura 7-TAC de indivíduo normal à direita e TAC de indivíduo com DA à esquerda (“Enfermedad de Alzheimer: El diagnóstico,,” 2013)	49
Figura 8- Mudanças estruturais longitudinais de RM num homem cognitivamente normal de 75 anos na linha de base (1993) e durante 10 anos (Blennow et al., 2006)	52
Figura 9- Exame FDG-PET efetuado numa mulher cognitivamente normal de 71 anos na linha de base (1989), com seguimento de 9 anos (Blennow et al., 2006)	57
Figura 10- Imagens PIB, IRM e FDG-PET de um controlo e indivíduo com DA.	58
Figura 11- Diferenças entre CLL e DA comparativamente com indivíduos controlo visualizadas através de ITD (Lacalle-Auriolesa et al., 2016)	62
Figura 12- Biomarcadores presentes no LCR na DA e outras demências (Michael S. Ritsner, 2009)	64
Figura 13- Biomarcadores potenciais putativos presentes no plasma (Ray et al., 2007)	71
Figura 14- Biomarcadores presentes no LCR e sangue na DA (Jain, 2017)	85

Índice de Tabelas

Tabela 1- Resumo de fatores de risco e proteção da DA de várias hipóteses etiológicas	15
Tabela 2- Sintomas característicos da DA, categorizados de acordo com a progressão da doença.	29

Lista de Abreviaturas

- [99mTc]-HMPAO - 99m tecnécio D L–hexametрилpropileno amina oxima
- A β – Beta amilóide
- AA- *Alzheimer Association*
- ABCA7 – cassete de ligação ATP da subfamília A membro 7 (*ATP Binding Cassette Subfamily A Member 7*)
- ADI - *Alzheimer's Disease International*
- ADNI – Iniciativa de Neuroimagem de Doença de Alzheimer
- ADRDA – *Alzheimer's Disease and Related Disorders Association Stroke*
- AF- Ansiotropia fracionada
- AINES – Anti-inflamatórios não esteróides
- ANN – Academia Norte Americana de Neurologia (*American Academy of Neurology*)
- APOE – Apolipoproteína E
- APOJ – Apolipoproteína J
- APP – Precursor de proteína amilóide (*amyloid precursor protein*)
- ASL- *arterial spin labeling*
- AVC- Acidente Vascular Cerebral
- BACE1- enzima 1 de clivagem APP no sitio- β (*beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1*)
- BHE- barreira hematoencefálica
- Coh – análise de coerência
- CCL – Comprometimento cognitivo leve
- CDK5 – cinase5 dependente de ciclina (*cyclin-dependent kinases 5*)
- CID – Classificação Internacional de Doenças
- CLU - clusterina
- CMSP –células mononucleares do sangue periférico
- CR1 – recetor do complemento 1 (*complement receptor 1*)
- Cr- Creatinina
- DA - Doença de Alzheimer
- DJC – Doença de Creutzfeldt-Jacob (*Creutzfeldt-Jacob Disease*)
- DCL – Doença dos corpos de Lewy
- DMAE – défice de memória associado à idade
- DMS – Diagnóstico Meso Scale

DMS-V - Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais V

EA – Doença de Alzheimer

ECL - eletroquimioluminiscência

EEG – eletroencefalograma

ELISA - ensaio de imunoabsorção enzimático

ERM- Espectroscopia por ressonância magnética

EUA – Estados Unidos da América

FDA- *Food and Drugs Administration*

FDG - [¹⁸F] fluoro-D-glucose

FDT- Doença frontotemporal (*Frontotemporal dementia*)

Fosto-tau – tau fosforilada

HIV – Vírus de imunodeficiência humano (*Human Immunodeficiency Virus*)

IDE – enzima degradante de insulina (*insulin-degrading enzyme*)

IDT- imagem de tensor de difusão (*Diffusion Tensor Imaging*)

IMC – Índice de Massa Corporal

IRM – imagem de ressonância magnética

LCR –líquido cefalorraquidiano

mI- mio inositol

MMSE – Mini teste ao estado mental (*Mini Mental State Examination*)

mRNA –ácido ribonucleico mensageiro (*messenger ribonucleic acid*)

Naa - N-acetil-aspartato

nAChR – receptor neuronal de acetilcolina nicotina (*neuronal nicotinic acetylcholine receptor*)

NF - neurofilamentos

NFG – fator de crescimento do nervo (*nerve growth factor*)

Ng - neuroganina

NIA – *National Institute of Aging*

NIMH – Instituto Nacional de Saúde Mental do Estados Unidos (National Institute of Mental Health)

NINCDS – National Institute of Neurological and Communicative Stroke

OMS – Organização Mundial de Saúde

PAC – atrofia cortical posterior (*posterior cortical atrophy*)

PET – tomografia por emissão de positrões (*positron emission tomography*)

PCR – proteína c reativa

PICALM – proteína de montagem de clatrina de fosfatidilinositol (*phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein*)

PIB – Produto Interno Bruto

PiB- Composto B de Pittsburgh

PNL- proteína dos neurofilamentos leve

PSENI – presenilina 1

PSEN2 - presenilina 2

PUFAs – ácidos gordos polinsaturados (*polyunsaturated fatty acids*)

SORL1 – recetor relacionado com sortilina 1 (*sortilin related receptor1*)

SPET- tomografia computadorizada de emissão de fotões simples (*Photon Emission Computed Tomography*)

SUV – valores de absorção padronizados (*standardized uptake value*)

TC – tomografia computadorizada

TAC – tomografia axial computadorizada

TNC – transtorno neurocognitivo

TSH – hormona tiroideia estimulante (*thyroid-stimulating hormone*)

T-tau – tau total

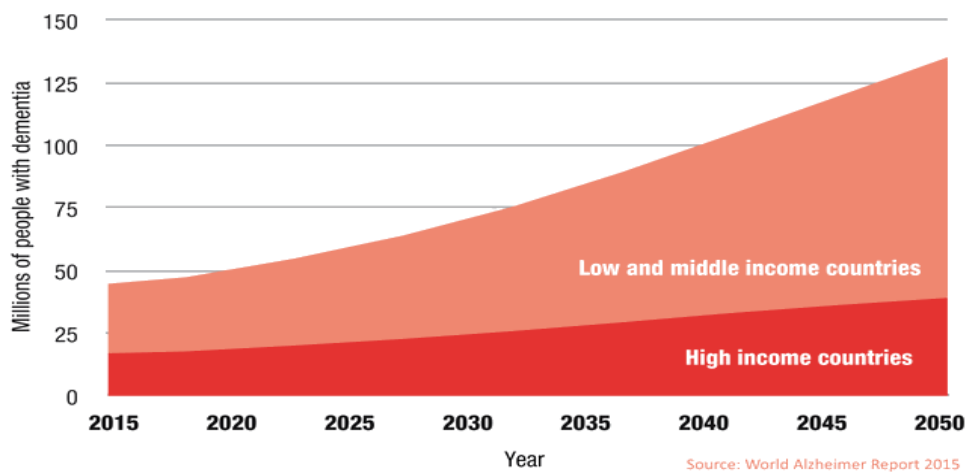
VHC- volume do hipocampo

I – Introdução

De acordo com os dados publicados pela *Alzheimer's Disease International* (ADI) no ano de 2015, estimou-se que cerca de 46,8 milhões de pessoas em todo o mundo viviam com demência nesse mesmo ano. O número tende a duplicar a cada 20 anos, atingindo 74,7 milhões em 2030 e 131,5 milhões no ano de 2050. As novas estimativas são entre 12 a 13% mais elevadas em comparação com estimativas feitas anteriormente para o *World Alzheimer Report 2009* (Alzheimer's Disease International (ADI), 2015).

Atualmente, existe anualmente mais de 9,9 milhões de novos casos de demência no mundo, ocorrendo um novo caso a cada 3,2 segundos. A maior parte destes casos verifica-se nos países em desenvolvimento, sendo que cerca de 58% dos indivíduos vive em países de baixo e médio rendimento, contudo em 2050 esse número aumentará para 68% (Figura 1) (Alzheimer's Disease International (ADI), 2015).

Figura 1- Número de pessoas com demência que vivem em países de baixo e médio rendimento comparativamente com países de rendimento alto(Alzheimer's Disease International (ADI), 2015)

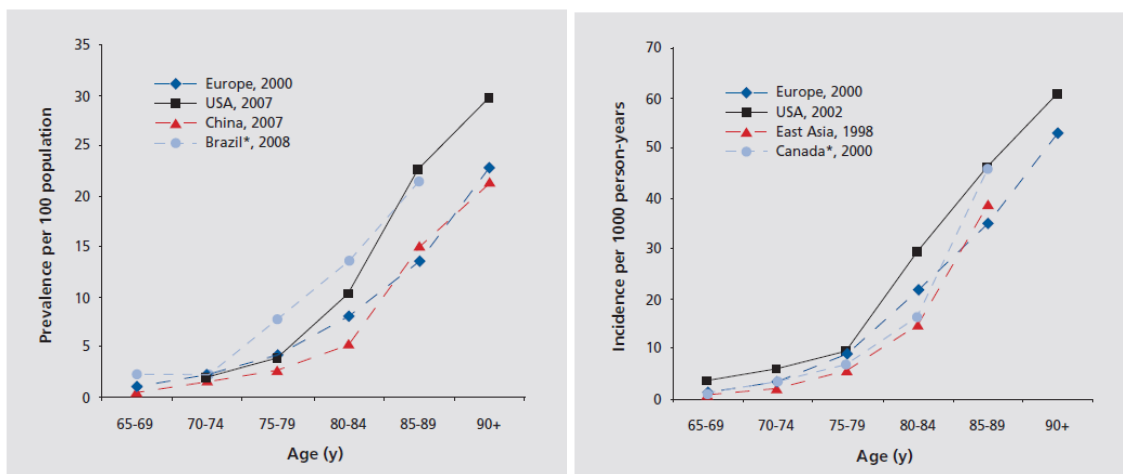


A demência é considerada uma síndrome clínica, caracterizada pelo desenvolvimento de deficiências cognitivas que interferem no funcionamento diário do indivíduo, afectando a sua atividade social e profissional. Estas deficiências de carácter cognitivo envolvem défice de memória e pelo menos um dos outros domínios cognitivos, nomeadamente afasia, apraxia, agnosia ou distúrbios no funcionamento executivo (Xu, Ferrari, & Wang, 2013).

A doença de Alzheimer (DA) corresponde à causa mais comum de demência na população idosa, representando cerca de 60 a 70% de todos os casos de demência

(Fratiglioni, Winblad, & von Strauss, 2007). O processo designado de transição demográfica caracteriza-se por um declínio da mortalidade e, em seguida, da fertilidade. A diminuição da fertilidade e prolongamento da esperança média de vida reestruturaram a idade da população na maioria das regiões do planeta, deslocando o número relativo de indivíduos mais jovens para grupos de indivíduos mais velhos. Tanto os países desenvolvidos como os países em desenvolvimento irão futuramente encarar o desafio de lidar com doenças crónicas, nomeadamente a demência, sendo esta uma característica das sociedades envelhecidas. Estes factos afetam a capacidade das pessoas idosas funcionarem de forma ótima na comunidade prejudicando também o bem-estar entre os indivíduos afetados e as suas famílias. Para além disso, estas condições estão associadas a custos significativos de saúde que devem ser sustentados pela sociedade. Deste modo, o fenómeno de envelhecimento demográfico tem um impacto sobre a saúde pública, sistemas de financiamento e de prestação de cuidados de saúde em todo o mundo (Xu et al., 2013). O envelhecimento da população tornou-se um fenómeno mundial, e uma vez que a DA está fortemente associada ao aumento da idade (Figura 2), prevê-se que esta patologia represente futuramente enormes desafios (Qiu, Kivipelto, & Von Strauss, 2009).

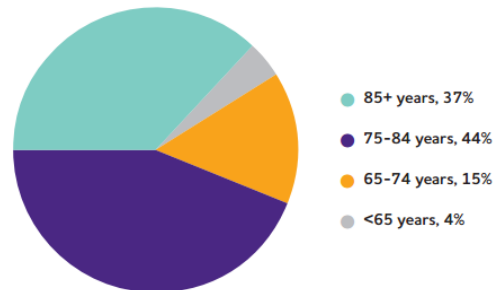
Figura 2- Prevalência específica da doença de Alzheimer (por 100 habitantes) através de continentes e países; prevalência de todos os tipos de demência (Qiu et al., 2009)



A prevalência da DA designa a proporção de pessoas de uma determinada população com DA num dado momento, sendo que a incidência reflete o número de novos casos por ano. A *Alzheimer's Association (AA)* considerou dados de vários estudos, de modo a obter dados recentes sobre a prevalência e incidência da DA nos Estados Unidos da América (EUA) no ano de 2016. Estima-se que 5,4 milhões de americanos de todas as idades sofressem de DA nesse mesmo ano. Este número inclui

5,2 milhões de pessoas de idade igual ou superior a 65 anos e sensivelmente 200.000 indivíduos com idade inferior a 65 anos (Figura 3) (Alzheimer's Association, 2016).

Figura 3- Idade de indivíduos com DA nos EUA no ano 2016 (Alzheimer's Association, 2016)



As estimativas de número e proporção de pessoas que sofrem de DA são baseadas em critérios comumente aceites para o diagnóstico da mesma, desde o ano de 1984. Estes critérios são aplicáveis tendo apenas em conta o aparecimento de sintomas. Contudo, os critérios e diretrizes revistos pelo *National Institute on Aging and the Alzheimer's (NIA)*, publicado em 2011, propõem que o início da DA ocorre antes do aparecimento dos sintomas, sendo coerente com o que a maioria dos investigadores aceita atualmente. Existe então necessidade de se efectuarem mais estudos, necessários para estimar quantas pessoas possuem comprometimento cognitivo leve (CCL), devido à DA; e quantas pessoas podem encontrar-se na fase pré-clínica da doença, sendo o número de pessoas que possuem DA muito maior do que o é apresentado atualmente (Alzheimer's Association, 2016).

O custo mundial estimado de demência foi de 818 bilhões de dólares americanos em 2015, representando 1,09% do PIB mundial. Prevê-se que até ao ano de 2018, o custo global suba acima de triliões de dólares americanos. Este valor inclui custos atribuídos aos cuidados informais (cuidados prestados pela família e outros não sendo remunerados), custos directos de assistência social (fornecidos por profissionais de cuidados comunitários e em residências) e custos directos de assistência médica (custos associados ao tratamento de demência e outras condições nos cuidados primários e secundários) (Alzheimer's Disease International (ADI), 2015).

A DA provoca morte de células nervosas e perda de tecido em todo o cérebro (Alzheimer's Association 2017). Em geral, ocorre primeiramente um declínio cognitivo com dano na capacidade de formar memórias, progredindo com o avançar da doença,

afetando inevitavelmente todas as funções, originando a uma completa dependência do indivíduo na execução das funções básicas da vida diária, por vezes conduzindo a uma morte prematura. Esta possui várias manifestações patológicas incluindo: doença das placas de amilóide extracelular neuríticas e emaranhados neurofibrilares intracelulares acompanhados por microgliose reativa, neurites distróficas, e perda de neurónios e número de sinapses. A presença das patologias anteriormente referidas não explica completamente as características da doença. Levanta-se então a hipótese das alterações na produção e transformação da proteína β -amilóide ($A\beta$) serem o principal fator desencadeante (Mayeux & Stern, 2012).

Tanto os pacientes afetados como as suas famílias geralmente não conseguem distinguir DA de uma síndrome clínica de demência genérica. Muitas vezes, médicos não especializados em DA usam esta patologia como um diagnóstico padrão para pessoas com demência, apesar dos testes de diagnóstico serem negativos. Para os sub-especialistas em DA, identificar e categorizar diferentes padrões de declínio cognitivo, a DA é mais uma entidade reconhecível do que um diagnóstico de exclusão. Estes sub-especialistas podem prever com uma exatidão razoável características histopatológicas existentes no cérebro de indivíduos com uma síndrome clínica consistente de DA. No entanto, a relevância dessas características histopatológicas não é clara (Swerdlow, 2007).

Ao longo da monografia serão discutidas todas as manifestações patológicas da DA bem como os critérios utilizados para o seu diagnóstico, de modo a enfatizar novas abordagens de diagnóstico da doença, que ainda não estejam incluídas nos critérios atualmente utilizados. Desde modo o objetivo deste trabalho será salientar tanto os defeitos como as qualidades dos métodos de diagnóstico da DA, evidenciando assim as dificuldades do diagnóstico da mesma. Para a realização da mesma, recorreu-se a pesquisa bibliográfica na base de dados PubMed, e documentos publicados pela *Alzheimer's Association*, *Alzheimer's Disease International* e *Alzheimer Society*. A pesquisa foi realizada em Inglês, Espanhol e Português recorrendo a palavras a palavras-chaves como: “Alzheimer” concomitantemente com “disease”, “diagnosis”, “etiology”, “epidemiology”, “pathogenesis”, “clinical criteria”, “brain imaging”, “laboratory tests”, “mild cognitive impairment”; e ainda “enfermedad de Alzheimer”, “demência” e “critérios de diagnóstico”.

II – Teoria da origem da Doença de Alzheimer

A demência pode ser designada de primária (degenerativa) ou secundária (de etiologia conhecida). A etiologia de uma demência secundária é geralmente conhecida podendo-se tratar de uma infecção do sistema nervoso ou então de um traumatismo crânio-encefálico. Caso a sua etiologia não seja conhecida recorre-se a meios utilizados de modo a auxiliar o seu diagnóstico. No caso das demências primárias estas dividem-se em dois grupos: as que se acompanham de outros sinais neurológicos e as que não se acompanham de outros sinais neurológicos além da demência. A DA trata-se então de uma demência primária (Garcia, 1984).

A DA trata-se de uma doença multifatorial determinada por fatores genéticos e ambientais, bem como interações entre os mesmos. O aumento da idade é o fator de risco de maior relevo, uma vez que este pode conduzir ao desencadeamento de processos biológicos relacionados com o envelhecimento, associados à patogenicidade da doença. Por outro lado, a relação entre o aumento da idade e a DA pode retratar o efeito cumulativo de diferentes fatores de risco e fatores protetores ao longo da vida, nomeadamente o efeito de interações complexas de susceptibilidade genética, fatores psicossociais, biológicos e exposições ambientais ocorridas ao longo da vida do indivíduo (Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013). Tendo em conta vários artigos fez-se uma revisão da literatura no que diz respeito aos principais fatores de riscos e de proteção para a DA encontram-se resumidos na seguinte tabela ¹.

¹ Informação retirada de Epidemiology of Alzheimer's disease - Qiu et al ;
Epidemiology of Alzheimer Disease - Richard Mayeux and Yaakov Stern;
Alzheimer disease: Epidemiology, Diagnostic Criteria, Risk Factors and
Biomarkers - Christiane Reitz and Richard Mayeux; Epidemiology of Alzheimer's
Disease - Weili Xu, Camilla Ferrari and Hui-Xin Wang ; Pathogenesis of
Alzheimer's disease - Russell H Swerdlow;

Tabela 1- Resumo de fatores de risco e proteção da DA de várias hipóteses etiológicas

Hipótese etiológica	Fatores de risco	Fatores de proteção
Hipótese vascular	Pressão arterial elevada; IMC elevado; Diabetes tipo II; Doença cerebrovascular e cardiovascular; Tabagismo e consumo de álcool; Colesterol elevado; Síndrome metabólica.	Consumo de álcool leve a moderado; Terapia anti-hipertensiva; Uso de estatinas.
Hipótese Psicossocial	Elevados níveis de escolaridade e socioeconômicos; Depressão.	Alto nível de escolaridade; Atividades estimulantes mentais; Atividade física e social; Rede social enriquecida; Aperfeiçoamento cognitivo.
Hipótese Nutricional e dietética	Deficiência de ácido fólico, vitamina B12, antioxidantes (vitaminas A, E e C) e ácidos gordos polinsaturados.	Dieta Mediterrânea; Consumo de peixe (ácidos gordos. ômega-3) e vegetais.
Hipótese de Susceptibilidade e genética	Alelo APOE ε4; Mutações APP, PSEN1 e PSEN2; Aβ ₄₂ ; Agregado familiar.	
Outras Hipóteses	Lesões traumáticas (cabeça); Exposição ocupacional a toxinas e campos eletromagnéticos; Terapia de reposição hormonal; Inflamação; Factores biológicos.	Uso de anti-inflamatórios não esteróides.

Hipótese Vascular

Existe evidência moderada/forte sugerindo que fatores de risco vascular tais como o tabagismo, obesidade e colesterol total; e fatores de morbidade vascular como é o caso da hipertensão arterial, diabetes, enfartes cerebrais silenciosos e lesões de matéria branca, estão relacionados com um risco aumentado de demência, incluindo DA. Esta evidência é suportada por pesquisa multidisciplinar epidemiológica, neuroimagem e estudos neuropatológicos (Qiu et al., 2009).

A pressão arterial elevada, particularmente hipertensão descontrolada na meia-idade, encontra-se relacionada com deterioração cognitiva e posteriormente, aumento do risco de desenvolvimento de DA e demência tardia (Mayeux & Stern, 2012; Qiu et al., 2009; Reitz & Mayeux, 2015; Xu et al., 2013). A hipertensão tem sido associada a marcadores neurodegenerativos cerebrais, o que leva a crer que a pressão arterial elevada a longo prazo pode desempenhar um papel causal no processo neurodegenerativo ou causar atrofia cerebral (Xu et al., 2013). A hipertensão arterial pode alterar a integridade vascular da barreira hematoencefálica (BHE), dando origem a um extravasamento de proteínas no tecido cerebral. Este extravasamento pode motivar danos celulares, redução da função neuronal e sináptica, apoptose e ainda aumento de acumulação de proteína A β , resultando por fim num comprometimento cognitivo (Reitz & Mayeux, 2015). Com o início da doença a pressão arterial tende a diminuir. Este fato pode ser indicativo de doença iminente em fase pré-clínica, uma vez que a demência possui um longo período de latência (Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013).

De acordo com Qiu et al., o uso de fármacos anti hipertensores demonstrou um efeito protetor contra o desenvolvimento de demência e DA (Qiu et al., 2009), este efeito pode depender da duração do tratamento e da idade dos indivíduos. A eficácia mais significativa observou-se em indivíduos com idade inferior a 75 anos e indivíduos que efetuaram tratamento a longo prazo. Alguns agentes anti hipertensores, como antagonistas de canais de cálcio podem possuir efeitos neuro protetores. Doentes de Alzheimer medicados com anti hipertensores demonstraram alterações neuropatológicas menores relativamente à placa neurítica e à densidade de emaranhado neurofibrilar comparativamente com o grupo não medicado, demonstrando o efeito benéfico do uso de terapia anti hipertensora (Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013).

A doença cardiovascular possui relação com o aumento de incidência de demência e DA, nomeadamente em indivíduos com doença arterial periférica, sugerindo

que a aterosclerose periférica extensiva é um fator de risco para DA. Outros fatores como fibrilhação auricular e insuficiência cardíaca, juntamente com aterosclerose severa estão relacionados com demência e DA (Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013). A insuficiência cardíaca encontra-se associada a um aumento superior a 80% de risco de demência e DA (Xu et al., 2013).

No que diz respeito à doença cerebrovascular, esta pode apresentar manifestações que se assemelham a demência, no entanto a existência de demência vascular não é comum. Contudo, a doença cerebrovascular e DA podem coexistir, dando origem a evidência de ambas as doenças e manifestações de DA (Mayeux & Stern, 2012). Segundo Xu et al., existem estudos que mencionam associação entre acidente vascular cerebral (AVC) com DA e declínio cognitivo. De acordo com revisões sistemáticas de estudos populacionais existe um aumento do risco duas a quatro vezes superior relativamente à ocorrência de demência associada a AVC clínico (demência pós-AVC). Enfartes cerebrais e acidentes vasculares recorrentes são os principais fatores de risco para demência pós-AVC (Xu et al., 2013). A ocorrência de AVC, AVC silencioso e lesões de matéria branca detetadas por ressonância magnética (RM) encontram-se associadas a um aumento do risco de demência, DA e declínio cognitivo (Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013). Os mecanismos pelos quais o AVC poderá conduzir a deficiência cognitiva incluem destruição do parênquima cerebral com atrofia, ocorrência de danos em locais estratégicos produzindo síndromes amnésicas, aumento de deposição A β e combinação entre doença vascular e DA (Mayeux & Stern, 2012). As lesões vasculares cerebrais podem interagir com lesões neurodegenerativas dando origem a síndrome demencial em indivíduos que não possuam danos neurodegenerativos suficientes para expressar demência (Xu et al., 2013). Mudanças cerebrovasculares, como enfartes hemorrágicos, enfartes corticais isquêmicos, vasculopatias e alterações de matéria branca aumentam o risco de demência (Mayeux & Stern, 2012; Reitz & Mayeux, 2015; Xu et al., 2013). A coexistência de lesões cerebrovasculares, aterosclerose e mudanças neurodegenerativas no cérebro geralmente originam danos que conduzem ao envelhecimento do cérebro e por sua vez, promovem a expressão clínica da síndrome demencial (Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013). As alterações de matéria branca e a doença vascular talâmica podem originar diretamente dano em regiões cerebrais, comprometendo o desempenho de tarefas cognitivas importantes para funções de armazenamento e recuperação da memória. Estas regiões incluem o tálamo, projeções tálamo-corticais, lobo frontal e temporal (Mayeux & Stern,

2012; Reitz & Mayeux, 2015). Do aumento da deposição de A β pode resultar declínio cognitivo ou ocorrer indução de respostas inflamação, prejudicando deste modo a função cognitiva. Finalmente, a hipoperfusão pode levar ao aumento da expressão de cinas5e dependente de ciclina (CDK5), tratando-se de um elemento crítico para formação de sinapse e plasticidade sináptica. A ativação anormal desta cinase está relacionada com a apoptose de neurónios e a sua morte. Esta pode também estar envolvida na fosforilação anormal da proteína tau, contribuindo para a formação de emaranhados neurofibrilares (Reitz & Mayeux, 2015).

De acordo com Reitz & Mayeux, vários estudos avaliaram a relação entre síndrome metabólica e risco de declínio cognitivo ou DA, indicando uma associação positiva (Reitz & Mayeux, 2015; Xu et al., 2013). Um conjunto de fatores de risco metabólicos inter-relacionados nomeadamente diabetes, obesidade, hipertensão arterial e dislipidemia receberam uma importância crescente nos últimos anos. Os componentes desta síndrome foram individualmente relacionados aos resultados cognitivos (Xu et al., 2013). A diabetes e hiperinsulinémia, foram associados a um risco aumentado de DA (Qiu et al., 2009). Segundo Qiu et al. e Xu et al., indivíduos com diabetes possuem um aumento de risco de desenvolvimento não só de demência vascular, como de demência neurodegenerativa, sendo esta relação confirmada através de uma revisão sistemática. A diabetes presente na meia-idade e uma maior duração desta patologia pode representar um papel determinante na demência e DA (Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013). Existem evidências substanciais que sugerem que a diabetes tipo II encontra-se relacionada com o comprometimento de comportamentos cognitivos envolvendo memória e função executiva (Xu et al., 2013). A insulina pode atravessar a BHE, dado que a infusão de insulina periférica no idoso aumenta os níveis de A β ₄₂ no LCR (Reitz & Mayeux, 2015). Ocorre então uma acumulação de A β no cérebro e a sua clearance é alterada, uma vez que a insulina irá competir pela enzima degradante de insulina (IDE) (Mayeux & Stern, 2012; Reitz & Mayeux, 2015). Tanto a insulina como A β são ambos substratos concorrentes para IDE. (Reitz & Mayeux, 2015). Os recetores de glicação avançada de produtos finais, estão presentes em células associadas a placas senis e emaranhados neurofibrilares, constituindo exemplos de receptores de superfície celular para A β (Mayeux & Stern, 2012). A hiperinsulinemia periférica pode regular a baixa absorção de insulina na BHE devido à saturação sobre os níveis fisiológicos. Pode então ocorrer uma redução dos níveis de insulina no cérebro, diminuição da regulação da expressão

de IDE e redução $A\beta$ mediada por IDE. Esta observação é usada no apoio do uso de rosiglitazona, um sensibilizador de insulina no tratamento da DA (Reitz & Mayeux, 2015). Um estudo em pacientes com DA com ausência do alelo APOE $\epsilon 4$ mostrou que o tratamento com pioglitazona diariamente, durante 6 meses conduziu a melhorias cognitivas do funcionamento e fluxo sanguíneo cerebral regional no lobo parietal (Mayeux & Stern, 2012).

Relativamente ao consumo de tabaco os resultados são discordantes. Segundo Qiu et al. e Xu et al., existem estudos que descreveram uma menor prevalência de DA entre os fumadores comparativamente com não fumadores, concluindo a existência de um efeito protetor (Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013). Estudos de coorte sem afiliações à indústria de tabaco produziram um aumento significativo do risco de DA, enquanto estudos com afiliações à indústria de tabaco sugerem que fumar produz um efeito protetor (Xu et al., 2013). Contrariando a teoria anterior, surgiram estudos onde se identifica aumento significativo do risco de DA associado ao consumo de tabaco, particularmente entre os não portadores do alelo APOE $\epsilon 4$. Meta-análises concluíram que fumar está associado a um risco aumentado de DA. Assim, em contraste com a hipótese inicial, o consumo de tabaco aumenta o risco de DA (Qiu et al., 2009). Este risco pode aumentar devido ao aumento do metabolismo colinérgico, através do regulador de recetores colinérgicos nicotínicos no cérebro. Ocorre défice colinérgico, caracterizado por níveis reduzidos de acetilcolina, acetilcolina transferase e/ou recetores acetilcolina nicotínica, sendo este fenómeno característico em cérebros de indivíduos com DA (Mayeux & Stern, 2012). A própria nicotina aumenta a liberação de acetilcolina aumentando assim número de recetores acetilcolina nicotínica (nAChR) contribuindo assim para uma melhoria da atenção e informação em processamento dando um efeito protetor, contrabalançando assim a perda de nAChR observada na DA levando a défices colinérgicos. Contudo, essas ações podem ser contrariadas por stresse oxidativo causado pelo tabagismo, sendo este responsável por um mecanismo susceptível de DA através da geração de radicais livres e afetando o sistema inflamatório e imunológico, que por sua vez pode ativar fagócitos gerando mais danos oxidativos (Mayeux & Stern, 2012; Reitz & Mayeux, 2015).

A ingestão excessiva de álcool pode causar demência alcoólica e aumentar o risco de demência vascular. A ingestão abusiva na meia-idade gera o triplo de hipóteses de desenvolver demência e DA no final da vida, especialmente em indivíduos portadores do alelo APOE $\epsilon 4$ (Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013). Em contrapartida, uma

meta-análise demonstrou que consumo leve/moderado está associado a um menor risco de demência e DA (Anstey, Mack, & Cherbuin, 2009) e a um menor risco de declínio cognitivo, demonstrando possuir efeito protector contra o desenvolvimento de demência. Este pode possuir efeitos benéficos em vários fatores cardiovasculares, incluindo nos níveis de lipídios e lipoproteínas, e em fatores inflamatórios e hemostáticos (Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013).

Vários estudos têm relacionado a diminuição e o aumento do índice de massa corporal (IMC) a um risco aumentado de comprometimento cognitivo e DA, estando dependente da idade em que o peso corporal é medido. Para além desta relação, existem evidências de que nos anos anteriores ao início da demência ocorre perda de peso corporal, devido à desnutrição durante a fase prodrômica da demência (Reitz & Mayeux, 2015). Um estudo de acompanhamento a longo prazo de indivíduos japoneses-americanos revelou uma diminuição do IMC aproximadamente 10 anos antes do início da síndrome clínica, acelerando no momento do diagnóstico, sugerindo assim uma associação entre DA e o declínio acelerado do IMC (Stewart et al., 2005). Um IMC elevado na meia-idade, ou a presença de obesidade torna-se um fator de risco de DA e demência 20 a 25 anos mais tarde, enquanto um declínio de IMC durante o período tardio pode antecipar a ocorrência de distúrbios demenciais (Qiu et al., 2009). Em concordância com estes resultados, vários estudos de acompanhamento de pessoas idosas sugeriram que o declínio acelerado de IMC está associado ao desenvolvimento futuro de DA. Assim, a diminuição do IMC e do peso podem ser interpretados como marcadores para DA pré-clínica, particularmente quando medidos 10 anos antes do diagnóstico clínico da doença (Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013).

Segundo Qiu et al. e Xu et al., a evidência de associação entre colesterol elevado em fase tardia da vida e ocorrência de demência ou DA é pouco clara, uma vez que vários estudos indicam uma não associação ou uma associação inversa de hipercolesterolemia e desenvolvimento subsequente de DA (Qiu et al., 2009; Reitz & Mayeux, 2015; Xu et al., 2013). A diminuição de colesterol total no sangue após a meia-idade pode refletir processos de doença em curso, podendo assim representar um marcador de DA e demência. A demência associada a um declínio adicional na pressão sanguínea e IMC geralmente torna-se detetável cerca de 3 a 6 anos antes da expressão clínica da doença, contudo o declínio de colesterol total começa mais cedo, e com menos evidência de aceleração antes do início da demência (Qiu et al., 2009). De

acordo com Xu et al. um estudo demonstrou existir uma queda dos níveis de colesterol total pelo menos 15 anos antes do início da demência (Xu et al., 2013). Vários estudos relataram que a toma de estatinas reduz a probabilidade de desenvolver a doença e que a lipofilicidade das mesmas é independente do risco associado (Qiu et al., 2009). Existem estudos experimentais que sugerem que a sua utilização pode reduzir a produção de A β in vitro e in vivo. Estas podem também possuir benefício a nível do sistema nervoso central (SNC) reduzindo o risco de DA (Qiu et al., 2009).

Recentemente, estudos apoiam relações genéticas onde se identificaram claramente vários genes envolvidos no metabolismo do colesterol e no seu transporte tais como genes de susceptibilidade à DA, como APOE, apolipoproteína J (APOJ), cassete de ligação a ATP da subfamília A membro 7 (ABCA7) e do receptor relacionado com sortilina (SORL1) e clusterina (CLU). Estudos funcionais de biologia celular apoiam o envolvimento crítico da balsa lipídica de colesterol na modulação do processamento de proteína precursora de A β por β -secretase e γ -secretase, resultando numa produção alterada de A β (Reitz & Mayeux, 2015).

Hipótese Psicossocial

Após feita uma pesquisa na literatura corrente considerou-se que os fatores psicossociais e o estilo de vida ativo ao longo da vida, podem reduzir o risco de demência, nomeadamente DA, nomeadamente maior nível de escolaridade na vida adulta, “*status*” socioeconómico, complexidade do trabalho desempenhado durante a vida adulta, riqueza da rede social onde se insere, elevada participação na comunidade, execução de atividade física e mental estimulante, e por fim atividades de lazer (Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013). Evidências demonstradas através de pesquisas epidemiológicas mostraram que estes fatores e um estilo de vida saudável podem adiar o início de demência, provavelmente através do aumento da reserva cognitiva (Xu et al., 2013).

Um nível de educação baixo encontra-se associado a um aumento do risco de demência e DA (Qiu et al., 2009). Indivíduos com estilos de vida intelectualmente enriquecidos, nomeadamente com alto nível educacional e realização profissional possuem uma menor incidência de demência, particularmente DA (Mayeux & Stern, 2012; Xu et al., 2013), demonstrando uma baixa prevalência entre estes indivíduos em inúmeras pesquisas (Xu et al., 2013). Uma meta-análise citada por Mayeux & Stern demonstrou que efeitos de educação, ocupação e atividades mentais possuem influência

sobre o risco de desenvolvimento de demência. A maioria mostrou ter um efeito protetor significativo. Contudo, existem estudos que contrariam as ideias acima descritas, defendendo que um maior nível educacional ou ocupacional assim como participação em atividades de lazer e cognitivas estão associados a um declínio cognitivo mais rápido em pacientes com DA (Mayeux & Stern, 2012).

Foram consideradas várias atividades que exigem esforço mental, tais como tricô, jardinagem, dança, jogos de tabuleiro e instrumentos musicais, leitura, dança, atividades sociais e culturais, e assistência a programas televisivos específicos. A realização destas atividades mostrou muitas vezes um efeito protetor em relação à demência e DA (Mayeux & Stern, 2012; Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013), sendo cognitivamente estimulantes e menos propícias ao desenvolvimento de demência (Reitz & Mayeux, 2015).

De acordo com Xu et al. vários estudos evidenciaram que um nível socioeconômico elevado encontra-se associado a um menor risco de desenvolvimento de DA. Por outro lado, um estudo prospetivo, sugeriu que o *status* socioeconômico já numa fase avançada da vida, avaliado no nível doméstico ou comunitário encontrava-se relacionado com o nível de cognição no final da vida, mas não com a taxa de declínio cognitivo ou risco de DA (Xu et al., 2013).

Uma rede social pouco enriquecida ou participação social pouco ativa está associada a um declínio cognitivo e ao desenvolvimento de demência. Pessoas idosas com maior isolamento social e com pouco contato com familiares e amigos possuem um maior risco de desenvolver demência e DA. Por sua vez, uma rede social extensa e rica e um alto envolvimento social fornecem estimulação afetiva e intelectual que poderá influenciar a função cognitiva através de mecanismos comportamentais, psicológicos e fisiológicos (Ferrari et al., 2013; Qiu et al., 2009), possuindo efeito protetor contra o desenvolvimento da demência (Mayeux & Stern, 2012).

Existem evidências que sugerem a existência de uma relação forte entre depressão e DA, considerando a depressão como um fator de risco para o desenvolvimento posterior de DA (Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013). A existência de sintomas depressivos pode afetar a conversão de CCL a DA. As placas neuronais e os emaranhados neurofibrilares encontram-se mais pronunciados em cérebro de indivíduos com DA e depressão simultaneamente, comparativamente com indivíduos com DA sem depressão. Observou-se em diferentes regiões cerebrais fenómenos degenerativos em

indivíduos com depressão. Contudo, continua a ser discutível se a depressão se trata de sintoma pré-clínico ou um fator de risco para demência e DA (Qiu et al., 2009).

De acordo com Reitz & Mayeux, o exercício físico pode promover a saúde cerebral (Reitz & Mayeux, 2015). A sua prática regular encontra-se associada ao atraso do início de demência e DA entre idosos cognitivamente saudáveis (Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013), contudo existem estudos que não demonstram uma associação entre as variáveis (Mayeux & Stern, 2012; Reitz & Mayeux, 2015). Verificou-se um efeito protetor forte particularmente em indivíduos portadores do alelo APOE ϵ 4. A atividade física promove mecanismos de ativação da plasticidade cerebral, remodela circuitos neuronais no cérebro, promove a vascularização cerebral, estimula a neurogênese, e afeta ainda fatores neurotróficos relevantes para a manutenção das funções cognitivas (Mayeux & Stern, 2012; Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013). Esta pode afetar a função cognitiva através do aumento do fluxo sanguíneo cerebral, utilização de glicose, extração de oxigénio e ativação de fatores de crescimento que promovem mudanças estruturais do cérebro, como um aumento na densidade capilar (Reitz & Mayeux, 2015). Uma dieta mediterrânica rigorosa e a prática de atividade física regular, tendo como modelo de comparação a não realização de atividade física, foi associada a uma redução do risco de DA (Mayeux & Stern, 2012).

Hipótese nutricional e dietética

As gorduras presentes na dieta podem aumentar os níveis de colesterol levando ao aumento do risco vascular cerebral, aumentando o risco de DA (Mayeux & Stern, 2012). Este risco pode ser diminuído através da realização de uma dieta ou uma ingestão complementar à dieta rica em antioxidantes (Qiu et al., 2009) e ácidos gordos polinsaturados (PUFAs) (Reitz & Mayeux, 2015; Xu et al., 2013). Por outro lado, existem estudos que não encontram associação entre estes fatores (Qiu et al., 2009), onde os resultados da relação entre PUFAs e o risco de disfunção cognitiva são inconclusivos (Reitz & Mayeux, 2015; Xu et al., 2013). A ingestão elevada ou suplementar de vitaminas C, E, B6, B12 e de ácido fólico tem sido associada a um risco diminuído de DA (Xu et al., 2013). Por outro lado uma maior adesão à Dieta Mediterrânica, encontra-se associada a um menor risco de desenvolvimento de DA e de CCL, independente das vias vasculares e da atividade física realizada (Mayeux & Stern, 2012; Qiu et al., 2009; Reitz & Mayeux, 2015; Xu et al., 2013). Níveis baixos de vitamina B12 e ácido fólico foram relacionados a um risco aumentado de DA (Mayeux

& Stern, 2012; Xu et al., 2013). A revisão sistemática Cochrane concluiu que as suplementações de ácido fólico e vitamina B12 não tem benefícios na cognição, apesar destes serem eficazes na redução da homocisteína no sangue. Uma dieta rica em gorduras insaturadas e peixe na meia-idade pode ser protetora contra demência e DA, no entanto uma ingestão moderada de gorduras saturadas e colesterol demonstrou aumentar o risco de demência e DA (Mayeux & Stern, 2012; Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013), especialmente entre os portadores do alelo APOE ϵ 4 (Xu et al., 2013). Os ácidos gordos não saturados possuem efeitos favoráveis nas funções neuronais e vasculares podendo conferir proteção através das suas propriedades anti-inflamatórias (Qiu et al., 2009; Reitz & Mayeux, 2015). Os ácidos gordos e o ômega-3 são componentes essenciais no desenvolvimento inicial do cérebro, estando o seu consumo associado a um menor risco de DA (Mayeux & Stern, 2012). Os ácidos gordos desempenham funções na síntese e fluidez das membranas das células nervosas, na plasticidade sináptica e na degeneração neuronal (Qiu et al., 2009).

A vitamina E reduz a apoptose de A β e os lípidos associados à sua peroxidação enquanto, os carotenos e vitamina C protegem contra peroxidação de lipídios e por fim, a vitamina C reduz também a formação de nitrosaminas e pode afetar a síntese de catecolaminas (Reitz & Mayeux, 2015). Portanto, uma dieta rica em antioxidantes e vitaminas C e E podem proteger contra a DA (Qiu et al., 2009) através da redução do risco de doença cerebrovascular, sendo que os PUFAs reduzem o stresse oxidativo (Reitz & Mayeux, 2015). No que diz respeito à vitamina D, segundo Mayeux & Stern, dois estudos encontraram menor risco de DA em indivíduos com uma dieta onde a ingestão de vitamina D é mais elevada (Mayeux & Stern, 2012).

Hipótese Genética

Relativamente ao fenómeno de agregação familiar, parentes em primeiro grau de indivíduos afetados por esta patologia são mais propensos ao desenvolvimento da mesma, comparativamente com a população em geral (Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013), sendo o risco de desenvolvimento de DA duas vezes superior (Reitz & Mayeux, 2015). Tanto fatores genéticos como ambientais contribuem para a situação de agregação familiar associada à DA. Contudo, alguns estudos sugerem que a agregação familiar só pode ser parcialmente explicada através de componentes genéticos conhecidos, nomeadamente através do alelo ϵ 4 de APOE, sugerindo que podem estar envolvidos outros genes de suscetibilidade (Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013).

APOE $\epsilon 4$ é uma das três formas ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$) do gene APOE, localizado no cromossoma 19q3, onde o alelo $\epsilon 2$ é considerado o alelo de proteção, o $\epsilon 3$ trata-se de um alelo neutro e o $\epsilon 4$ é a variante mais comum a nível genético que pode dar origem à DA, sendo considerando o alelo de risco (Mayeux & Stern, 2012; Reitz & Mayeux, 2015). Este pode ser responsável tanto pela DA “*early-onset*” como de “*late-onset*”. Trata-se de um gene de suscetibilidade, não sendo necessário para que a doença se desenvolva (Qiu et al., 2009). Encontra-se associado a menor desempenho cognitivo, particularmente no domínio da memória, estando também relacionado com CCL (Reitz & Mayeux, 2015). Cada indivíduo herda um gene de cada progenitor. Aqueles que herdam a forma $\epsilon 4$ aumentam proporcionalmente o risco de desenvolver a doença e de desenvolvê-la em idade mais precoce comparativamente com indivíduos que herdam a forma $\epsilon 2$ ou $\epsilon 3$ do gene (Xu et al., 2013). Cada alelo $\epsilon 4$ herdado diminui entre 6 a 7 anos a idade de início de DA (Reitz & Mayeux, 2015). O efeito de risco de DA em indivíduos portadores de APOE $\epsilon 4$ tende a diminuir com o aumento da idade, sendo que indivíduos com idade superior a 75 anos menos de 20% dos casos são atribuíveis ao alelo $\epsilon 4$ (Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013).

As mutações no precursor de proteína amilóide (APP), nos genes de presenilina-1 (PSEN1) e presenilina-2 (PSEN2) são classificadas como raras, e estão associadas à doença familiar de início precoce, ou seja a partir da quarta década de vida. São caracterizadas como mutações autossômicas dominantes (Mayeux & Stern, 2012; Qiu et al., 2009), sendo responsáveis pela melhoria dos níveis relativos do peptídeo $A\beta_{42}$ e conduzindo ao início precoce de doença (Mayeux & Stern, 2012). Com isto, estas três mutações são consideradas biomarcadores de diagnósticos da doença (Reitz & Mayeux, 2015). As mutações APP provocam uma falha do gene APP influenciando assim o processamento proteolítico de APP e/ou a sua agregação, e estão presentes menos de 1% dos casos de DA (Mayeux & Stern, 2012). A maioria das mutações PSEN envolvem a substituição de apenas um nucleótido, podendo também existir exclusões e inserções. Estas permitem a alteração da clivagem proteolítica mediada por γ -secretase, resultando no aumento da razão $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ originado por um aumento em $A\beta_{42}$ e/ou diminuição de $A\beta_{40}$, originando perda parcial de função em PSEN. Este amilóide é responsável pelos processos neurodegenerativos resultantes de um desequilíbrio entre a produção de $A\beta$ e a sua clearance, sugerindo assim que outros genes envolvidos nestes mecanismos possam ser também considerados fatores de risco (Mayeux & Stern, 2012).

A realização de estudos de associação “*genoma-wide*” tem por base genes candidatos, cujo objetivo é identificar locais de suscetibilidade adicionais (Mayeux & Stern, 2012; Reitz & Mayeux, 2015). A investigação de milhões de polimorfismos em todo o genoma, conduziu a um avanço significativo do conhecimento sobre fundamentos genéticos de “*late-onset*” da DA e identificação de 20 novos loci de risco (Reitz & Mayeux, 2015). Primeiramente foram identificados CLU, PICALM, CR1 e BIN1 (Mayeux & Stern, 2012; Reitz & Mayeux, 2015). Este primeiro conjunto de locus identificados encontra-se envolvido na resposta imunitária, no processamento de APP, no metabolismo lipídico e na endocitose. O segundo conjunto de genes de suscetibilidades adicionais identificado inclui CD33, MS4A4A/MS4A4E/MS4A6E Cluster, ABCA7, CD2AP e EPHA1. Este conjunto de loci provavelmente está envolvido no sistema imunológico, contudo ABCA7 para além dessa função encontra-se envolvido no metabolismo lipídico e no processamento de APP. Por fim, um Projecto Genómico Internacional de Alzheimer combinou todos os conjuntos de dados e realizou uma mega-meta-análise. Para além dos genes acima mencionados identificou-se 12 loci de suscetibilidade adicionais ao nível do genoma (HLA-DRB5 / HLA-DRB1, PTK2B, SORL1, SLC24A4 / RIN3, DSG2, INPP5D, MEF2C, NME8, ZCWPW1, CELF1, FERMT2, CASS4) e 13 loci candidatos adicionais (locus intergénico, HS3ST1, SQSTM1, TREML2, NDUFAF6, ECHDC3, AP2A2, ADAMTS20, IGH, SPPL2A, TRIP4, SCIMP, ACE) (Reitz & Mayeux, 2015). Existem outros genes candidatos onde foram realizados estudos, nomeadamente, enzima conversora de angiotensina-I, colesterol 24-hidroxilase, e por fim genes enzimáticos degradantes da insulina, contudo, os seus resultados mostraram-se inconsistentes (Qiu et al., 2009).

Outras Hipóteses

A inflamação pode ser também um fator associado à DA. Um nível elevado de proteína C reativa (PCR) no sangue encontra-se associado a um aumento do risco de DA e demências vasculares. Os marcadores de inflamação refletem doença periférica e mecanismos cerebrais relacionados com demência, sendo estes processos avaliáveis muito tempo antes da demência se manifestar. Segundo Qiu et al. estudos de acompanhamento de indivíduos revelaram uma associação de marcadores inflamatórios séricos como a PCR e interleucina-6, medidos em idades mais avançadas demonstrando aumento de incidência de demência e DA (Qiu et al., 2009). Posto isto, a PCR pode ser a mais promissora no prognóstico do risco de demência (Xu et al., 2013). Ao invés

disso, o uso de anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) a longo prazo, ou seja, superior a 2 anos, pode possuir um efeito benéfico contra DA e demência (Qiu et al., 2009; Xu et al., 2013). As placas neuríticas localizadas no cérebro estão associadas a proteínas inflamatórias. Com isto, a hipótese dos mecanismos inflamatórios poderem desempenhar um papel nos processos que levam à neurodegeneração torna-se plausível. Contudo, de acordo com Qiu et al. existem estudos neuro patológicos que não encontram evidências de relação entre o uso de AINEs e redução de alterações patológicas na DA(Qiu et al., 2009).

As exposições tóxicas ocupacionais, encontram-se associadas ao desenvolvimento de demência, nomeadamente DA. A exposição ocupacional a campos electromagnéticos e metais pesados, como alumínio e mercúrio são considerados fatores de risco para DA. A exposição a campos electromagnéticos de extrema-baixa frequência tem sido relacionada a um aumento do risco de demência e DA (Qiu et al., 2009).

A lesão cerebral traumática tem sido investigada como possível fator de risco de DA (Qiu et al., 2009; Reitz & Mayeux, 2015), contudo a opinião em relação à sua associação é controversa (Xu et al., 2013). Segundo Qiu et al. e Mayeux & Reitz, existem meta-análises que apoiam a relação entre um episódio de lesão anterior na cabeça e o risco de desenvolvimento de DA (Qiu et al., 2009; Reitz & Mayeux, 2015). Este risco possui uma maior evidência em indivíduos portadores de APOE ϵ 4 (Mayeux & Stern, 2012). Lesões moderadas na cabeça, como a perda de consciência ou amnésia pós-traumática, com duração inferior a 30 minutos, estão associadas a um duplo risco de desenvolvimento de DA, enquanto lesões graves, com duração superior a 24 horas, estão associadas a um risco quatro vezes e meio superior, comparativamente com indivíduos que não sofreram nenhuma lesão. Indivíduos que sofrem múltiplas lesões, possuem um aumento risco de demência, CCL e evidência de proteína tau na autópsia. Torna-se então necessária a realização de pesquisas adicionais de modo a compreender esta associação (Xu et al., 2013). Por fim, surgem evidências de que após a lesão cerebral, ocorre um aumento de A β e tau no tecido cerebral, os níveis de A β no líquido cefalorraquidiano (LCR) aumentam e ocorre sob produção de APP (Mayeux & Stern, 2012; Reitz & Mayeux, 2015). Contudo, alguns estudos mostraram que o risco de DA não se encontra associado a traumatismos cranianos ou a lesões graves(Qiu et al., 2009).

Encontra-se descrita uma associação entre a terapia de reposição hormonal e o aumento do risco de demência e DA entre mulheres pós-menopausa, associada à terapia com estrogénio (Qiu et al., 2009).

Como já referido anteriormente, o aumento a idade é um fator de risco bem estabelecido para a DA. A incidência de DA duplica a cada cinco anos de idade. O sexo feminino encontra-se associado a um maior risco de desenvolvimento de DA, especialmente em idades mais avançadas (Xu et al., 2013).

III- Sintomatologia

A DA trata-se de uma doença progressiva, onde os seus sintomas tendem a piorar gradualmente com o avançar dos anos (“Alzheimer’s worsens over time,” 2017). O seu percurso varia entre indivíduos, contudo a sintomatologia parece desenvolver-se nos mesmos padrões gerais. Geralmente, os sintomas aparecem na sexta década de vida do doente (“What Are the Signs of Alzheimer’s Disease?,” 2017). Os indivíduos com esta patologia vivem em média oito anos após o início dos sintomas se tornar perceptível, contudo a sua sobrevivência pode variar entre quatro a vinte anos, dependendo da idade com os indivíduos desenvolveram a doença e outras condições de saúde dos doentes (“Alzheimer’s worsens over time,” 2017) .

O sintoma mais comum da DA, caracteriza-se pela deterioração gradual da capacidade de reter informações recentemente aprendidas, isto deve-se ao dano e destruição de neurónios localizados em regiões cerebrais envolvidas na formação de memórias, afetando a aprendizagem (Alzheimer’s Disease International (ADI), 2015; “What Is Alzheimer’s?,” 2017). A sua progressão conduz a sintomas cada vez mais graves que se vão prenunciando, nomeadamente desorientação, mudanças de comportamento e humor, confusão sobre eventos, tempo e lugar. Pode ainda haver a ocorrência de suspeitas infundadas sobre familiares, amigos e cuidadores profissionais (“What Is Alzheimer’s?,” 2017).

A DA progride num espectro constituído por três fases: pré-clínica precoce com ausência de sintomas; intermediária, envolvendo CCL; e por fim, a fase final de demência de Alzheimer (“What Are the Signs of Alzheimer’s Disease?,” 2017).

A tabela seguinte evidencia e divide os sinais observados na DA de acordo com a progressão da mesma².

Tabela 2- Sintomas característicos da DA, categorizados de acordo com a progressão da doença.

Doença de Alzheimer Ligeira	Doença de Alzheimer Moderada	Doença de Alzheimer Severa
Problemas com a palavra ou nome certo; Problemas de memória relacionados com nomes de	Lapso de memória sobre eventos ou sobre o histórico pessoal; Comportamento impulsivo ou	Dificuldades cada vez maiores de comunicação, até à incapacidade; Alterações de habilidades

² Tabela construída com base na informação fornecida pela Alzheimer's Association 2017, National Institute of Aging e Alzheimer Society [GB].

<p> pessoas apresentadas recentemente; Dificuldade em acompanhar uma conversa ou repetição de ideias e perguntas; Dificuldade de realização de tarefas de caris social ou profissional; Esquecimento de conteúdo recentemente lido; Perda de objetos; Problemas com planeamento, organização e esquecimento de compromissos; Desorientação e perda; Problemas com visualização de imagens e relação espacial relacionados com distância e dimensões dos objectos; Problema em manusear dinheiro e pagamento de contas; Demora na execução de tarefas e resolução de problemas; Alterações de comportamento e personalidade. </p>	<p> sentimento de irritação, especialmente em situações de desafio social ou mental; Alterações de personalidade e mudanças comportamentais, incluindo desconfiança, delírios, comportamentos compulsivos e repetitivos; Problemas de reconhecimento de familiares e amigos; Incapacidade de aprender coisas novas; Incapacidade de recordar informações pessoais como morada ou número de telefone; Confusão sobre o local onde está ou dia em que se encontra; Risco aumentado de se perder; Necessidade de ajuda para escolher roupas adequadas para uma ocasião; Dificuldade em realizar tarefas múltiplas; Alterações nos padrões de sono; Problemas em lidar com situações novas; Alucinações, delírios e paranóia. </p>	<p> físicas, incluindo a capacidade de caminhar, sentar; Dificuldade de deglutição; Perda de peso; Assistência 24 horas por dia para execução de atividades diárias e cuidados pessoais; Execução de gemidos ou grunhidos; Aumento do sono; Falta de controlo sob intestino e bexiga; Vulnerabilidade a infecções na pele, e pneumonia. </p>
--	---	---

Os sintomas presentes nos diversos estádios podem ser sobreponíveis, consoante a progressão da doença. Numa fase inicial da doença, o indivíduo pode funcionar de forma independente. Executa funções como trabalhar, conduzir e faz ainda parte de atividades sociais. A perda de memória é ligeira, onde os seus lapsos são frequentes, tais como não recordar palavras familiares ou a localização dos objetos do quotidiano (“Stages of Alzheimer’s,” 2017). A ocorrência destes sintomas é originária do dano sucedido no hipocampo, tendo este um papel central na memória do quotidiano. A memória relacionada com eventos da vida longínquos não é afetada nesta fase da doença (“Alzheimer’s disease - Symptoms,” 2017). Com a progressão da doença os indivíduos tendem a perder a capacidade de manter uma conversa e responder ao seu envolvente. No decorrer desta fase amigos, familiares ou pessoas próximas começam a notar dificuldades. A progressão da doença exigirá cada vez mais um maior nível de cuidado em relação ao paciente (“Stages of Alzheimer’s,” 2017). Estes comportamentos podem ser angustiantes ou desafiadores tanto para o doente como para o seu cuidador (“Alzheimer’s disease - Symptoms,” 2017).

A fase moderada é normalmente o estágio mais longo, durando vários anos (“Stages of Alzheimer’s,” 2017). Caracteriza-se por apraxia e afasia fluente, representada pela dificuldade em designar objetos ou através da escolha de palavras corretas a fim de expressar uma ideia (Neto, Tamelini, & Forlenza, 2014). Os danos ocorrem em áreas do cérebro responsáveis pelo controlo de linguagem, raciocínio, processamento sensorial e pensamento consciente (“Alzheimer’s disease - Symptoms,” 2017). O dano ocorrido nas células nervosas cerebrais dificulta a expressão de pensamentos e a realização de tarefas de rotina, o que leva a agir de forma inesperada, ou recusar-se à execução de tarefas (“Stages of Alzheimer’s,” 2017).

No estado severo da doença os doentes não conseguem controlar o movimento, comunicar com outros indivíduos ou responder ao meio envolvente. Nesta fase os doentes dependem completamente de outras pessoas para realizarem os seus cuidados encontrando-se numa fase limite, acamados (“Alzheimer’s disease - Symptoms,” 2017, “Stages of Alzheimer’s,” 2017).

Existem casos em que a perda de memória não é o primeiro sintoma a surgir, denominando-se de DA atípica. A situação é mais comum entre indivíduos com menos de 65 anos. O dano ocorrido é o mesmo, contudo a primeira parte do cérebro a ser afetada não é o hipocampo, mas sim a parte de trás e parte superior traseira do cérebro, ocorrendo atrofia cortical posterior (PCA). Estas áreas são responsáveis pelo

processamento informações visuais e lidam com a consciência espacial (“Alzheimer’s disease - Symptoms,” 2017).

Cerca de 10% dos indivíduos com demência possuem demência mista, isto é, os eventos característicos de DA e demência vascular ocorrem em simultâneo (“Alzheimer’s disease - Symptoms,” 2017).

É de notar que as alterações no cérebro provenientes da DA iniciam-se anos antes da manifestação de qualquer sinal da doença. Este período designa-se de fase pré-clínica e pode durar anos (“Stages of Alzheimer’s,” 2017).

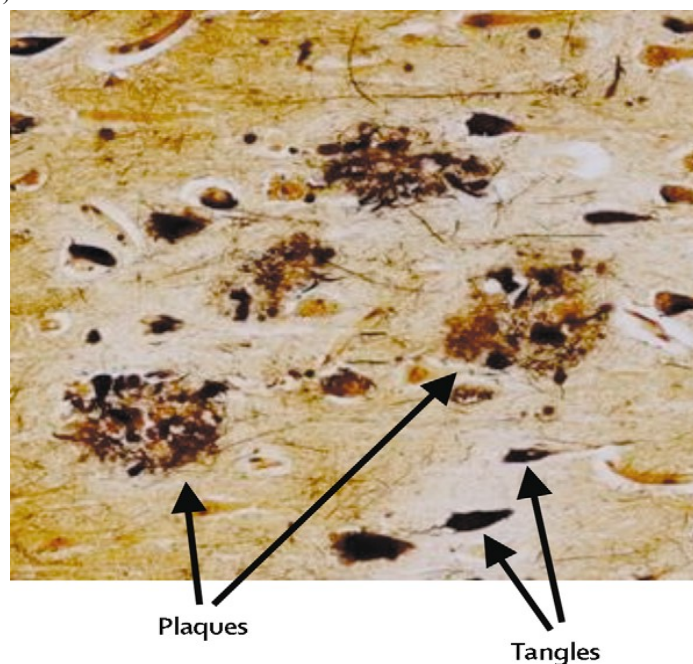
IV- Caracterização da doença de Alzheimer

A neurodegeneração na DA tem início estimado em 20 a 30 anos antes do início clínico da doença (Blennow et al., 2006). Este período designa-se de fase pré-clínica e pode durar anos (“Stages of Alzheimer’s,” 2017). O diagnóstico nesta fase proporcionaria uma intervenção terapêutica mais precoce, altura em que algumas terapêuticas são mais eficazes. Torna-se então necessário elucidar a cascata patológica da DA e a emergência dos seus sintomas clínicos de modo a que o diagnóstico seja feito o mais rapidamente possível, para que a terapêutica seja iniciada (Sperling et al., 2012).

De acordo com o quinto Manual Diagnóstico e Estático de Transtornos Mentais (DSM-V), a demência é caracterizada como um transtorno neuro cognitivo (TNC) maior. Além disso, DSM-V designa de transtorno neuro cognitivo ligeiro (TNL) um nível menos grave de prejuízo cognitivo, sendo este também foco de cuidado. Estes TNC conduzem a um declínio cognitivo num ou mais domínios (American Psychiatric Association, 2014).

A DA trata-se de uma demência de condição progressiva complexa derivada de cascatas patológicas que interagem de modo sequencial (Blennow, Leon, & Zetterberg, 2006). Histopatologicamente caracteriza-se por duas lesões principais: deposição de placas senis contendo proteína $A\beta$ acumulando-se nos espaços entre células nervosas; e formação de emaranhados neurofibrilares constituídos por proteína tau acumulando-se no interior das células. Estas lesões são as principais responsáveis pelo dano e morte de células nervosas (“What Is Alzheimer’s?,” 2017).

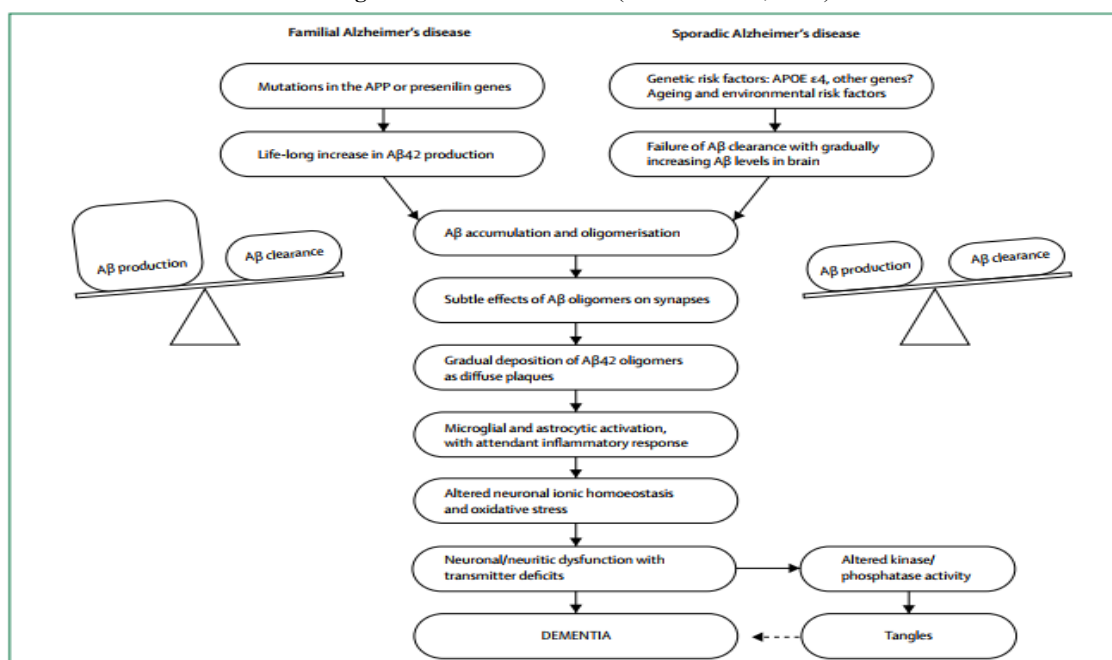
Figura 4- Placas (plaques) e emaranhados (tangles) presentes no córtex cerebral de um indivíduo com DA (Blennow et al., 2006)



A deposição de placa A β a nível extracelular é proveniente de proteína formada através de clivagem da grande proteína precursora de amilóide através de diferentes enzimas (Michael S. Ritsner, 2009), denominadas de β -secretase e γ -secretase. A maioria das actividades de SS-secretases é originária de uma protease de aspartil de membrana integral denominada de enzima 1 de clivagem APP no sitio- β (BACE1) (Blennow et al., 2006).

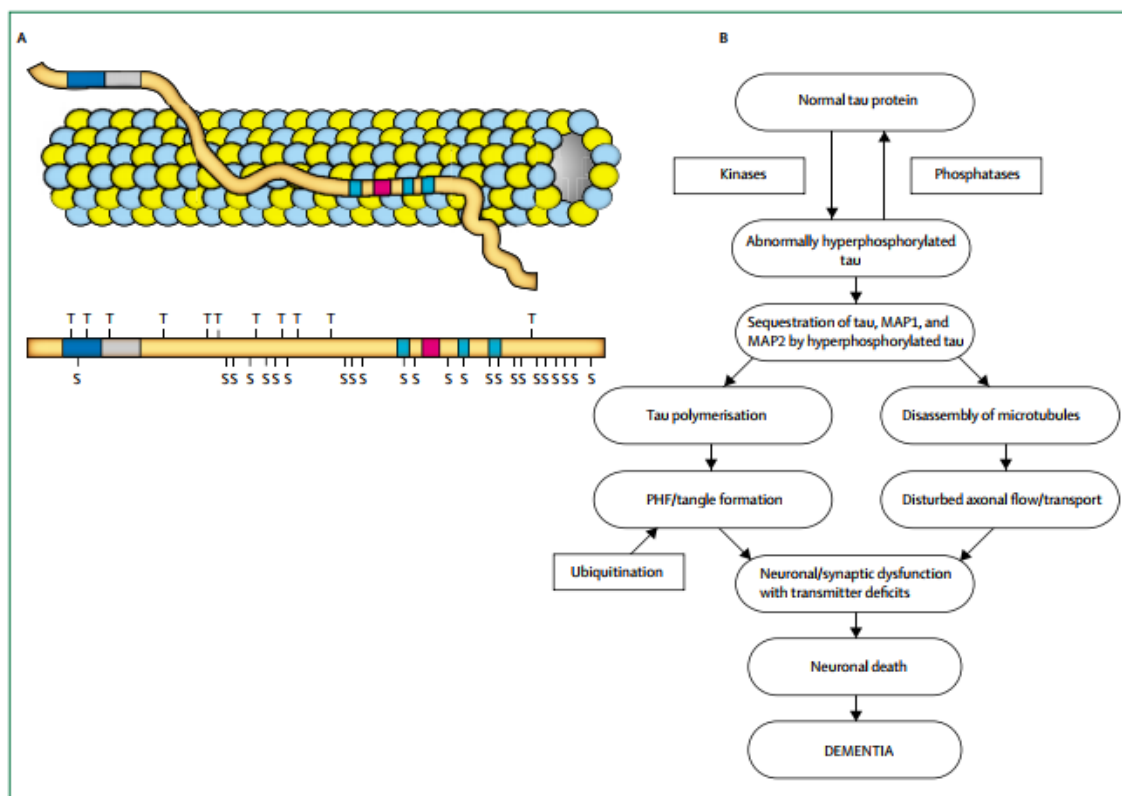
A hipótese da cascata amilóide, representada na figura 5, provoca um desequilíbrio entre a produção e a depuração de A β no cérebro, sendo este o evento desencadeador, originando em última instância degeneração neuronal e demência. O suporte para esta hipótese inclui a descoberta de que mutações presentes em familiares, localizadas tanto para genes para o substrato (APP) como para a enzima chave (presenilina). Geralmente as mutações da APP dispõem-se em redor de sítios de secretases, estas juntamente com presenilina aumentam a produção de A β_{42} . Suspeita-se que A β solúvel sofre uma mudança conformacional de modo a possuir um alto teor de folhas β , tornando propensa a formação de um agregado composto por oligómeros solúveis e fibrilas insolúveis formando placas. Os oligómeros solúveis de A β podem inibir diretamente a potencialização do hipocampo a longo prazo e prejudicar ainda a função sináptica (sinaptotóxicos), além do stresse inflamatório e oxidativo causado pela agregação e deposição de A β . Neste processo, a isoforma fibrillogénica de A β_{42} desencadeia o desdobraimento de outras espécies de A β (Blennow et al., 2006).

Figura 5- Cascata amilóide (Blennow et al., 2006)



Num processo paralelo à cascata amilóide, ocorre a formação de emaranhados, compostos por proteína tau hiperfosforilada. A proteína tau trata-se de uma proteína axonal ligada a microtúbulos através dos seus domínios de ligação a microtúbulos, promovendo assim a estabilidade dos mesmos. A fosforilação desta proteína é regulada através do equilíbrio entre múltiplas sinapses e fosfatos (Blennow et al., 2006). A sua disfunção é designada de taupatia, e o aumento dos seus níveis é característico da DA e outras doenças neurode generativas (Michael S. Ritsner, 2009). A sua hiperfosforilação na DA inicia-se a nível intracelular, conduz ao sequestro de tau normal e outros microtúbulos, originando a sua desintegração e, portanto, comprometendo o transporte axonal, a função neuronal e sináptica (figura 6). É ainda propensa a agregação de fibras finas insolúveis promovendo a formação de emaranhados, comprometendo por sua vez ainda mais a função neuronal (Blennow et al., 2006).

Figura 6- A: Proteína tau ligada ao microtúbulo através dos seus domínios de ligação aos microtúbulos. Abaixo encontra-se um desenho esquemático de tau hiperfosforilada com locais de fosforilação, treonina (T) ou serina (S). B: Diagrama de fluxo de hiperfosforilação de tau e formação de emaranhados (Blennow et al., 2006)



Outros mecanismos como a disfunção neuro vascular, anormalidades do ciclo celular e disfunção mitocondrial também se encontram relacionados com a doença (Blennow et al., 2006).

A primeira fase clínica é designada de CCL, tipicamente caracterizada por distúrbios na memória episódica, podendo também ocorrer distúrbios precoces noutros domínios cognitivos. O CCL trata-se de uma síndrome etiologicamente heterogénea, tendo origem em diversos distúrbios (apenas cerca de metade dos casos possui DA), o que apresenta dificuldades diagnósticas óbvias (Blennow, 2017). O problema a nível de memória ou outra função mental é suficientemente grave para que seja detetado pelo próprio indivíduo, indivíduos próximos ou através de um teste ao estado mental. Contudo, os problemas não são graves o suficiente para interferir nas atividades diárias. Deste modo o indivíduo não atende aos critérios diagnósticos atuais para a DA ou outra forma de demência (“Alzheimer’s and Dementia Testing for Earlier Diagnosis,” 2017).

O CCL amnésico designa um termo mais específico, descrevendo um subtipo de CCL, onde ocorrem sintomas subjetivos de memória e comprometimento de memória objetiva. Neste caso outros domínios cognitivos e atividades da vida diária geralmente não são afectados. Os indivíduos não atendem também aos critérios de diagnóstico de demência ou DA recomendados actualmente (Dubois et al., 2007).

O termo DA pré-clínica representa o período assintomático ocorrido entre as primeiras lesões cerebrais e a primeira aparição dos sintomas. Aplica-se a indivíduos normais que mais tarde cumprem os critérios de diagnóstico DA (Dubois et al., 2007). Destina-se ao uso exclusivo em pesquisas, indivíduos assintomáticos com presença de biomarcadores positivos, podendo estes desenvolver, ou não demência posteriormente. É composta por três fases, sendo a primeira composta por indivíduos assintomáticos com evidência para biomarcadores de amiloidose cerebral. A segunda fase corresponde às características presentes na primeira fase com adição de evidência de biomarcadores de disfunção sináptica ou neurodegeneração. Por fim, a terceira fase combina a evidência dos três biomarcadores referidos anteriormente com a presença de declínio cognitivo subtil, sendo esta fase o primeiro passo para a DA (López-álvarez & Agüera-ortiz, 2015). Esta patologia é designada de DA quando os sintomas são suficientemente graves para atender à definição de demência atualmente aceite pelos critérios de diagnóstico de DA (Dubois et al., 2007).

V - Critérios de Diagnóstico da doença de Alzheimer

Classificação Internacional de Doenças (CID)

A CID, trata-se de uma nomenclatura de doenças criada para fins estatísticos. Esta permitiu a criação dos primeiros critérios clínicos elaborados para a classificação de demência, surgindo no século IXX, sendo mantida até à atualidade pela Organização Mundial de Saúde (OMS)(CIDES, 2003).

De acordo com a versão do ano de 2016 da 10ª Revisão da Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados com Saúde (CID-10) a demência é caracterizada como *“uma síndrome devido a doença cerebral, geralmente de natureza crónica ou progressiva, com ocorrência de distúrbios de múltiplas funções corticais superiores, incluindo memória, pensamento, orientação, compreensão, cálculo, capacidade de aprendizagem, linguagem e julgamento. A consciência não é afectada. As deficiências da função cognitiva são comumente acompanhadas e ocasionalmente precedidas pela deterioração do controle emocional, comportamento social ou motivação. Esta síndrome ocorre na doença de Alzheimer, na doença cerebrovascular e em outras condições afectando o cérebro principalmente ou secundariamente”* (“International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision (ICD-10),” 2016). O anexo 1, demonstra a categorização da doença de Alzheimer segundo a classificação CID-10.

Atualmente, está a ser desenvolvida uma nova versão, CID-11, contudo as alterações não são significativas. Nesta nova versão a classificação continua a excluir as fases pré-clínicas assintomáticas, não incentivando o diagnóstico precoce da doença (López-álvarez & Agüera-ortiz, 2015).

Critérios DMS

Anteriormente, o diagnóstico de demência tinha como base o critério presente no DSM-IV indo de encontro com a CID-10, destacando o paradigma cognitivo. Nesta classificação os sintomas psiquiátricos possuem pouca relevância, dando ênfase à presença de distúrbios de memória e a comprometimento de pelo menos um domínio cognitivo adicional (American Psychiatric Association, 2000).

Atualmente, existe uma atualização do DMS-IV, DSM-V. Este manual sofreu alterações substanciais relativamente aos critérios presentes na versão anterior. A classificação de doenças não inclui estádios pré-clínicos, mas fornece um estágio patológico de pré-demência, revelando deterioração cognitiva patológica ligeira. A

designação de transtornos neuro cognitivos (TNC) é implementada, substituindo o conceito das edições anteriores, “transtornos mentais orgânicos”. Deste modo, os TNC encontram-se em três categorias: delírio, TNC ligeiro e TNC major. Os domínios sintomáticos relevantes para o diagnóstico de demência englobam: atenção, função executiva, aprendizagem, memória, linguagem, função preceptomotora e cognição social. Os TNCs diferem dependendo da intensidade dos sintomas, impacto na autonomia do paciente, e ainda nos resultados dos testes neuro psicológicos, contudo as fronteiras entre eles são inerentemente arbitrárias. Estas diferenças encontram-se mencionadas no anexo 3. As características principais dos TNC incluem declínio cognitivo adquirido em um ou mais domínios (Critério A) e alteração da independência individual (Critério B). Os critérios de diagnósticos presentes neste manual relativamente ao TNC ligeiro e major encontram-se descritos nos anexos 2 e 4 (American Psychiatric Association, 2014).

Segundo DSM-V, estes transtornos englobam diferentes subtipos, organizados de acordo com as entidades etiológicas/patológicas, encontrando-se entre eles a DA. O decurso do TNC varia de acordo com o subtipo etiológico, sendo que essa variação pode ser útil no diagnóstico diferencial. No caso da DA, tratando-se de uma doença degenerativa, é caracterizada por início insidioso e progressão gradual, o seu padrão de surgimento de défices cognitivos e características associadas ajudam a diferencia-la de outras patologias. Isto é, as funções específicas comprometidas, como perda de memória e função executiva, ajudam a diferenciar os domínios cognitivos afetados, contribuindo para o seu diagnóstico. Primeiramente, torna-se necessário fazer distinção entre TNC e transtorno específico de aprendizagem ou outros transtornos de neuro desenvolvimento, constituindo um esclarecimento criterioso da condição basal do paciente. Para além do critério A, esta patologia possui características centrais de TNC que incluem início insidioso e progressão gradual dos sintomas cognitivos e comportamentais (Critério B). É necessária a especificação do nível de certeza diagnóstica, denotando a DA como etiologia "provável" ou "possível" (Critério C). Por fim, independentemente do caso, as características clínicas não devem sugerir outra etiologia primária para o TNC (Critério D). Os critérios de diagnóstico correspondente a TNC ligeiro ou major relativamente à DA de acordo com DMS-V encontram-se expressos no anexo 4 (American Psychiatric Association, 2014).

Critérios NINCDS-ADRDA

No ano de 1984 foi publicado pela *American Academy of Neurology* um relatório cujo objectivo se centra em descrever e estabelecer critérios clínicos servindo de base para o diagnóstico da DA, sendo até hoje os mais utilizados. Este relatório foi elaborado com base na história médica, exames clínicos, testes neuro psicológicos e avaliações laboratoriais. O grupo responsável pela elaboração destes critérios foi convocado pelo *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke* (NINCDS) e pela *Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* (ADRDA). Tornou-se uma necessidade acentuar critérios de diagnóstico para esta patologia, uma vez que cerca de 20% dos casos diagnosticados como DA, após autópsia revelaram possuir outras condições e não DA. Este passo representou grande importância para protocolos de pesquisa, assim como descrever abordagens úteis para a avaliação da história natural da doença (G. Mckhann, Drachman, & Folstein, 1984).

De acordo com Mckhann et al., o diagnóstico de demência não pode ser efetuado quando a consciência se encontra afetada pelos seguintes fatores: delírio, sonolência, coma ou outras anormalidades clínicas; que possam prejudicar a avaliação correcta do estado mental. O diagnóstico da demência baseia-se no comportamento não podendo ser determinado por tomografia computadorizada (TC), electroencefalografia (EEG), ou outros instrumentos de laboratório. Contudo, as causas específicas de demência podem ser identificadas por esses meios (Mckhann et al., 1984).

Os critérios clínicos utilizados no diagnóstico de DA provável, possível, e definida foram estruturados de acordo com o anexo 5. Estes critérios clínicos de DA provável incluem especificação de início insidioso da doença, e ausência de outras doenças sistémicas ou cerebrais que possam explicar o declínio de memória progressiva e outros défices cognitivos. O diagnóstico definido de DA só é feito de acordo com os critérios NINCDS-ADRDA quando existe confirmação histopatológica do diagnóstico clínico. A informação necessária à aplicação destes critérios é obtida através de métodos standart de exame, nomeadamente, histórico médico, exames neurológicos, psiquiátricos e clínicos, testes neuro psicológicos e por fim estudos laboratoriais. Na altura, estes critérios eram apoiados por métodos electrofisiológicos, TC, fluxo de sangue cerebral regional, tomografia por emissão de positrões (PET), imagem através de ressonância magnética (IRM), e exame de fluidos corporais e tecidos não-neuronais (G. Mckhann et al., 1984).

Devido aos avanços na neurociência nos últimos anos, os critérios NINCDS-ADRDA foram revisados no ano de 2011 e atualmente possuem como denominação critérios NIA-AA (G. M. Mckhann et al., 2011).

Crítérios Dubois et al.

No ano de 2007 foram propostos novos critérios, uma vez que houve um aumento do conhecimento da fisiopatologia da DA e de novos métodos de diagnóstico. Tendo em conta as limitações dos critérios NINCDS-ADRDA, foram propostos novos critérios, não sendo estes aplicáveis a outro tipo de demência. Estes critérios têm por base o diagnóstico de DA provável e recorrem a métodos complementares de diagnóstico: IRM, PET ou biomarcadores líquidos (βA_{42} e tau); uma vez que estes podem sinalizar alterações fisiopatológicas da DA em indivíduos assintomáticos. Estes critérios visam adquirir o diagnóstico mais precocemente possível e com maior precisão. Este é realizado quando existe evidência clínica do fenótipo da doença e evidência biológica in vivo da patologia de Alzheimer. Os autores destes critérios implementaram uma nova definição da doença, não a limitando à fase de demência, uma vez que pretendiam detetá-la em fase pré-clínica, baseando-se em alterações detetadas nos exames anteriormente referidos, em indivíduos assintomáticos e ainda indivíduos com características atípicas da doença. Os aspetos atípicos incluem síndromes não amnésicas corticais focais, afasia progressiva não flutuante, afasia logopénica e atrofia cortical posterior, sendo confirmadas neuropatologicamente como DA. Estes critérios destinam-se principalmente a servir a comunidade de pesquisa, fornecendo um quadro da doença abrangendo todo o seu espectro clínico, sendo utilizados em protocolos de pesquisa e ensaios clínicos dirigidos à intercessão precoce na cascata patogénica da doença (Dubois et al., 2007).

Os critérios encontram-se discriminados no anexo 6. Estes critérios, utilizados para a determinação de DA provável, são compostos por um diagnóstico central (Critério A) que se caracteriza por um prejuízo de memória precoce e significativo, e pela presença de uma ou mais características de suporte (B, C, D e E). A presença atrofia do lobo temporal medial, alterações de biomarcadores de LCR, alterações nos testes de neuroimagem funcional com PET ou uma mutação autossómica dominante num familiar de primeiro grau são características de suporte incluídas nestes critérios (Dubois et al., 2007).

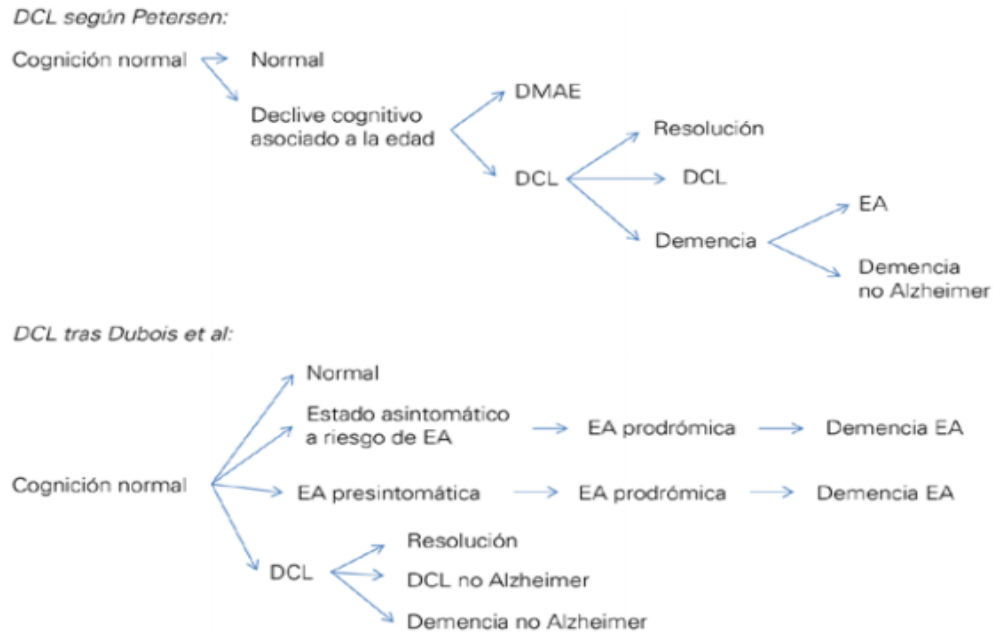
Os critérios de exclusão encontram-se mencionados no anexo 7. Este grupo faz referência a velocidade de restauração dos sintomas, presença de doenças psiquiátricas ou condições médicas ou farmacológicas que fundamentem o quadro clínico, e existência de informação sugerindo uma outra fonte de neurodegeneração. O diagnóstico da DA é definitivo na presença mútua de evidência clínica e histopatológica (obtido através de biópsia ou necropsia) de doença, de acordo com os critérios NIA-Reagan para o diagnóstico *postmortem*, ou quando a evidência genética se agrupa à evidência clínica (mutações nos cromossomas 1, 14 ou 21) de DA (Dubois et al., 2007).

Em oposição aos critérios anteriormente mencionados, este grupo classifica diferentes fases de DA pré-sintomáticas, tendo início em alterações cerebrais que conduzem a alterações cognitivas. A primeira fase é designada de DA pré-clínica, tratando-se de uma fase onde a DA é assintomática correspondendo ao período entre o surgimento das primeiras lesões cerebrais e o início de sintomas. Esta fase pode ser detetada através da pesquisa de amilóidose cerebral ou determinações de proteína tau e proteína amilóide no LCR. Nesta fase alguns indivíduos não demonstram sintomas, uma vez que desenvolvem a patologia devido a serem portadores de mutação autossómica dominante monogénica. O surgimento dos primeiros sintomas cognitivos marca o início de uma fase prodrómica, sendo esta definida como fase pré-demência sintomática, onde ocorrem alterações de memória e surgem biomarcadores, contudo, a alteração cognitiva não é suficientemente importante para constituir um quadro de demência. Geralmente, esta é incluída na categoria de CCL. A progressão da alteração cognitiva marca o início da fase de demência, podendo considerar-se DA típica uma vez que as manifestações clínicas são as mais comuns (Dubois et al., 2007). O anexo 8 menciona características representativas das diferentes fases clínicas de acordo com Dubois et al.

Anteriormente, o CCL era caracterizado por uma afetação cognitiva que excedia o declínio cognitivo associado à idade e podia degenerar num quadro demencial, tipo Alzheimer ou não. De acordo com os novos critérios, o uso do termo CCL deve destinar-se à deterioração incipiente, isto é, por ausência de biomarcadores ou défice específico de memória episódica, não podendo atribuir-se à DA. Ou seja, a DA num estágio inicial pode causar CCL, recebendo o nome de DA embora ainda não tenha sido produzida demência. Os critérios atuais para CCL têm baixa sensibilidade e especificidade para identificar DA prodrómica, podendo prejudicar os resultados de ensaios clínicos para o tratamento da DA com medicamentos que modificam o curso da

doença. A Figura 5 compara as diferenças do conceito CCL segundo Petersen e segundo Dubois (López-álvarez & Agüera-ortiz, 2015).

Figura 1- CCL e evolução da demência antes e depois dos critérios de Dubois et al. DMAE: déficit de memória associado à idade; EA: DA (López-álvarez & Agüera-ortiz, 2015).



Em suma, estes novos critérios dão ênfase à teoria de que a origem da DA encontra-se na alteração da memória episódica devido à existência de uma síndrome amnésica do tipo hipocampo. Devido à envolvimento deste campo são recomendados testes que avaliem a sua funcionalidade, ou seja, a capacidade de armazenamento de informações. Nas fases mais avançadas pode haver outras alterações cognitivas, contudo não devem ser as primeiras manifestações clínicas. O uso de biomarcadores obtidos por testes adicionais têm um papel de relevância para o diagnóstico deste tipo de demência. O impacto funcional, os sintomas psicológicos e comportamentais ganham ênfase uma vez que estes são considerados inespecíficos e não se encontram presentes em fases iniciais da doença (Dubois et al., 2007). Estes novos critérios conjugam os dados clínicos, bioquímicos, radiológicos e anatomopatológicos, estabelecendo uma definição clínico-biológica com maior precisão. Contudo, é evidente a necessidade de recurso a meios técnicos e financeiros para usar estes critérios e obter diagnósticos de maior probabilidade de certeza, algo que não está ao alcance de muitos ambientes clínicos (López-álvarez & Agüera-ortiz, 2015).

Critérios NIA-AA

Após 27 anos da publicação dos critérios NINCDS-ADRDA, foi feita uma revisão dos mesmos. A colaboração de duas entidades, *National Institute on Aging* (NIA) e AA, formou um grupo de trabalho tendo como objetivo a revisão dos critérios publicados no ano de 1984. As novas recomendações foram apresentadas na *Internacional Conference on Alzheimer's Disease* no ano de 2010 e publicadas no ano seguinte. O grupo de trabalho propôs critérios para todas as causas de demência e posteriormente, critérios para demência causada por DA (G. M. Mckhann et al., 2011).

Os critérios possíveis de utilizar em todos os casos de demência são descritos por M. McKhann et al. e encontram-se mencionados no anexo 9. Estes critérios usam a seguinte terminologia para classificar os indivíduos afetados por este tipo de demência: Demência DA provável, Demência DA possível, e Demência DA provável ou possível com evidência do processo fisiopatológico de DA. A última terminologia é destinada a propósitos de pesquisa, enquanto as restantes são utilizadas em todas as configurações clínicas. A tabela 11 especifica os critérios utilizados por M. McKhann et al. para determinar DA provável. Indivíduos cujos quais preenchem os critérios e em adição possuem as seguintes características mencionadas no anexo 10 são portadores de DA provável (G. M. Mckhann et al., 2011).

A presença das características que atendem aos critérios acima mencionados, juntamente com a ausência de doenças mencionadas no tópico D, aumenta o grau de confiabilidade do diagnóstico clínico da demência de DA provável. O grau de certeza aumenta com a existência das seguintes características: evidência de declínio cognitivo progressivo através de avaliações sucessivas ao longo do tempo, comprovação da presença de mutações genéticas (APP, PSEN1 ou PSEN2) e positividade de biomarcadores que reflitam o processo patogênico da DA. Contudo o transporte do alelo $\epsilon 4$ do gene da APOE não foi considerado suficientemente específico (G. M. Mckhann et al., 2011).

O diagnóstico de demência DA possível deve ser feito quando o indivíduo atende a critérios de diagnóstico para demência não DA, contudo possui evidência de biomarcador do processo fisiológico para DA. Estes casos podem apresentar um curso atípico ou possuir apresentação mista. O curso atípico da doença possui a mesma natureza de défices cognitivos, contudo neste caso a doença pode ter um início abrupto de comprometimento cognitivo ou ainda demonstrar detalhes históricos insuficientes relativamente à instalação e progressão da doença. No que diz respeito à DA mista esta

possui evidência concomitante de um dos itens mencionados no critério D (a; b; ou e) (G. M. Mckhann et al., 2011).

Os novos critérios permitem adicionar aos termos anteriores de DA possível ou provável o termo “evidência de processos fisiopatológicos da DA”, no caso em que se possa realizar um estudo de biomarcadores. Este termo pode ser aplicável nos casos em que se confirma a presença de biomarcadores com evidência de depósito de proteína A β , evidência de lesão ou degeneração neuronal (como a presença de níveis elevados de proteínas tau total e tau fosforilada no LCR), diminuição da absorção de [18 F] fluoro-D-glucose (FDG) no córtex parietal temporal, que se verifique através de estudos de PET, e atrofia desproporcional nos lóbulos temporal medial, basal e lateral e no córtex parietal medial verificado por IRM. O resultado dos testes de biomarcadores pode ser de três gêneros: positivo, claramente negativo ou indeterminado (G. M. Mckhann et al., 2011).

Posto isto, o termo “demência devida a DA fisiopatologicamente comprovada” destina-se a casos onde ocorre o cumprimento dos critérios clínicos e cognitivos da DA, e a existência de exame neuropatológico demonstrando a presença da patologia. Já o termo “ demência improvável devido à DA” aplica-se a casos em que o processo não cumpre os critérios de DA, ou em situações que, mesmo atendendo aos critérios, existem provas suficientes de que se trata de outra patologia, sobrepondo-se à DA. Esta situação é aplicável ainda nos casos em que o indivíduo cumpre os critérios, contudo ambos biomarcadores de lesão neuronal e A β são negativos (G. M. Mckhann et al., 2011).

Em comparação com os critérios de Dubois et al, estes critérios revelam uma abordagem clínica, valorizando o exame neuro psicológico dos vários domínios cognitivos, a exploração psicopatológica e a avaliação funcional, não dando valor apenas a alterações do nível de memória. Esta abordagem possui como vantagem uma menor exigência de sofisticação tecnológica na detecção de biomarcadores, em relação aos critérios de Dubois et al. Para critérios NIA-AA, a presença de biomarcadores suporta o diagnóstico, contudo o seu uso não é obrigatório. Estes critérios também mantêm o conceito de CCL e definem critérios para o diagnóstico de demência, devida ou não, à doença de Alzheimer (López-álvarez & Agüera-ortiz, 2015).

VI - Exames complementares ao diagnóstico da doença de Alzheimer

Caso a DA pudesse ser diagnosticada antes do surgimento dos primeiros sintomas, os futuros tratamentos poderiam atingir a doença nos seus estágios iniciais, isto é, antes do dano cerebral irreversível ou declínio mental ocorrer. A pesquisa de novas estratégias para o diagnóstico precoce de DA é uma das áreas mais ativas da ciência no momento (“Alzheimer’s and Dementia Testing for Earlier Diagnosis,” 2017).

Tradicionalmente, o diagnóstico clínico de demência foca-se na avaliação clínica, testes neuro psicológicos e exclusão de outras etiologias (Albert et al., 2011; G. M. Mckhann et al., 2011). Não existe um teste único que comprove que o indivíduo é portador de DA. O diagnóstico é feito através de uma avaliação completa que considere todas as causas possíveis, englobando história médica, exame físico e neurológico, imagem cerebral e teste ao estado mental. Existe uma série de testes de triagem de demência que foram comercializados diretamente para os consumidores. A AA acredita que estes testes não podem e não devem ser utilizados em substituição ao exame minucioso efetuado por um médico qualificado (“Tests for Alzheimer’s Disease and Dementia,” 2017).

A revisão do histórico médico consiste em perguntas sobre quaisquer doenças atuais e passadas, bem como medicamentos que o indivíduo está a tomar, condições médicas importantes que afetem outros membros da família, inclusive se estes são portadores de DA ou demências relacionadas. Durante a consulta o médico deve ainda informar-se sobre a dieta efetuada, nutrição e uso de álcool; revisar todos os medicamentos (atualmente em uso, incluindo medicamentos sem receita médica e suplementos); verificar a pressão sanguínea, temperatura e pulso; auscultar coração e pulmões; executar procedimentos de avaliação da saúde geral; e por fim colher amostras de sangue ou urina para a realização de testes laboratoriais (“Tests for Alzheimer’s Disease and Dementia,” 2017).

Durante um exame neurológico, o médico avaliará de perto o paciente de modo a detetar situações que possam sinalizar distúrbios cerebrais além da DA, tais como sinais de AVC, doença de Parkinson, tumores cerebrais, acumulação de líquido no cérebro ou outras doenças que possam prejudicar a memória ou o pensamento. Durante a avaliação o médico testará reflexos, coordenação, tónus muscular e força, movimentos oculares, discurso e sensação (“Tests for Alzheimer’s Disease and Dementia,” 2017).

O teste efetuado ao estado mental avalia memória, capacidade de resolver problemas simples e outras habilidades do pensamento. O teste aborda as seguintes questões: se o paciente se encontra ciente dos sintomas; se tem conhecimento da data e hora actual e de onde é; se consegue memorizar uma pequena lista de palavras; se consegue seguir instruções e fazer cálculos simples. Os testes mais utilizados dão por nome mini exame ao estado mental (MMSE) e o teste mini-cog. O primeiro consiste numa série de perguntas sobre atividades diárias realizadas pelo paciente, com uma pontuação máxima de 30 pontos. Uma pontuação entre 20 a 24 sugere demência leve, de 13 a 20 sugere demência moderada e menos de 12 é indicativa de demência grave. Em média, a pontuação diminui cerca de dois a quatro pontos por ano, num indivíduo com DA. Durante o mini-cog, o paciente é convidado a completar duas tarefas, primeira: lembre-se e, alguns minutos depois, repita os nomes de três objetos comuns; segunda: esboce o mostrador de um relógio contendo os 12 números nos lugares certos e um horário específico pedido pelo examinador. Os resultados deste teste ajudam o médico a determinar se é necessária uma avaliação mais profunda. Por fim, além do estado mental o médico avaliará o estado de espírito do paciente, de modo a que seja possível detetar uma possível depressão ou outros transtornos de humor que possam causar problemas de memória, perda de interesse e outros sintomas que se possam sobrepor à demência (“Tests for Alzheimer’s Disease and Dementia,” 2017).

As informações fornecidas por exames físicos e testes laboratoriais auxiliam na identificação de problemas de saúde que possam causar sintomas demenciais. Existem condições para além da DA que podem causar problemas como confusão de raciocínio e memória. São exemplos: anemia, infeção, diabetes, doença renal, doença hepática, certas deficiências vitamínicas, anormalidades da tiróide e problemas cardíacos (“Tests for Alzheimer’s Disease and Dementia,” 2017).

Para que seja feita uma avaliação das alterações existentes na doença é fundamental possuir medidas sensíveis, específicas e confiáveis. O declínio cognitivo, particularmente no contexto da DA, atraiu um grande número de estudos recentes e, como tal, os biomarcadores propostos utilizados nessas investigações precisam ser validados (Mcconathy & Sheline, 2014). O diagnóstico atual da DA depende em grande parte de documentação que registe declínio mental. Os especialistas acreditam que os biomarcadores oferecem um dos caminhos mais promissores. Atualmente, não existem biomarcadores validados para a DA, contudo os encontram-se em análise vários

candidatos promissores, incluindo imagens cerebrais, proteínas no LCR, proteínas no sangue e perfil de risco genético (“Alzheimer’s and Dementia Testing for Earlier Diagnosis,” 2017).

The Handbook of Neuropsychiatric Biomarkers denomina biomarcador de “marcador biológico medido objetivamente e avaliado como um indicador de processos biológicos normais, processos patogênicos ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica. Serve de indicador de saúde e doença ou confirma o risco de desenvolver uma doença. O biomarcador pode ser principalmente associado à doença ou pode ser simplesmente de natureza epifenomenal. A sensibilidade e a especificidade e a facilidade de uso são os fatores mais importantes que, em última instância, definem a utilidade de um biomarcador para o diagnóstico” (Michael S. Ritsner, 2009).

Para que um biomarcador possa ser utilizado na prática clínica médica, tem de ser validado através de múltiplos estudos, em grandes grupos de pessoas, indicando de forma precisa e confiável a presença de doença. Além disso, os métodos laboratoriais utilizados para medir o biomarcador devem ser demonstrados como estáveis e confiáveis (“Alzheimer’s and Dementia Testing for Earlier Diagnosis,” 2017).

Grupos de trabalho, convocados pela AA e pelo NIA, uma agência do National Institutes of Health (NIH), emitiram em conjunto quatro novos critérios e diretrizes para diagnosticar a DA. Estes novos critérios atualizam, aprimoram e ampliam as diretrizes utilizadas anteriormente (“New Diagnostic Criteria and Guidelines for Alzheimer’s Disease,” 2017), onde sugerem que o uso de biomarcadores e neuroimagem pode aumentar a confiança do diagnóstico (G. M. Mckhann et al., 2011). As novas diretrizes visam melhorar o diagnóstico atual, fortalecer a notificação das alterações cerebrais presentes na autópsia em doentes de Alzheimer, estabelecer uma agenda de pesquisa para o progresso futuro na detecção precoce e fornecer ainda maior precisão diagnóstica, uma vez que incorporam novos avanços tecnológicos e conhecimentos científicos. Três das novas orientações concentram-se em três estágios da DA: demência por DA, CCL devido à DA e DA pré-clínica (pré-sintomática). A quarta orientação atualiza critérios para documentar e relatar mudanças relacionadas com a doença observadas durante a autópsia (“New Diagnostic Criteria and Guidelines for Alzheimer’s Disease,” 2017).

Muitas das alterações cerebrais que ocorrem ao longo deste processo neurodegenerativo contínuo podem ser quantificadas por várias tecnologias de neuroimagem, utilizadas para medir a gama de processos biológicos. A mudança mais

saliente a nível cerebral diz respeito à atrofia originada pela degeneração e perda sináptica neuronal, ocorrendo em todo o cérebro, contudo a região afetada varia de acordo com a demência ocorrida. Particularmente na DA, os indivíduos demonstram atrofia medial temporal no estágio inicial da doença (W Small et al., 2009).

Exames de neuroimagem estrutural

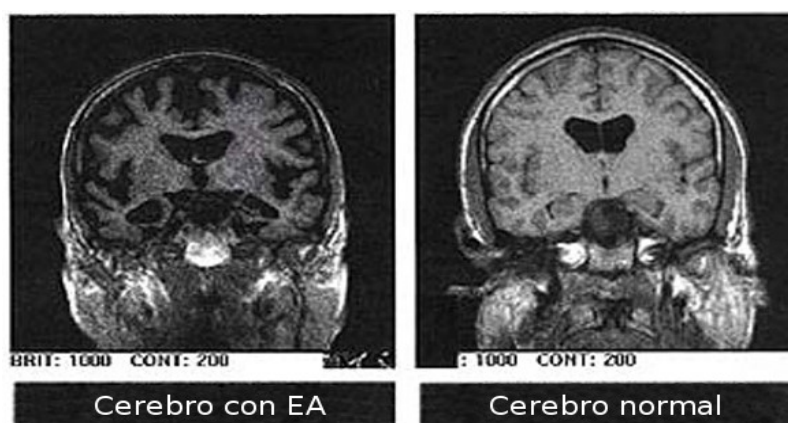
A realização deste tipo de exames ao encéfalo é utilizada na avaliação inicial de pacientes portadores de demência (Caramelli, Buchpiguel, Lee, Fernandez, & Anghinah, 2011). A neuroimagem é das áreas de pesquisa mais promissoras, focando-se na detecção precoce da patologia. Este exame no diagnóstico de DA é utilizado para exclusão de outras condições que possam causar sintomas semelhantes à DA, mas que requerem tratamento diferente. Este tipo de exames é capaz de detetar tumores, evidências de traços pequenos ou grandes, danos causados por traumatismo craniano e ainda acumulação de líquido no cérebro (“Alzheimer’s and Dementia Testing for Earlier Diagnosis,” 2017). Existem várias modalidades de imagem utilizadas no diagnóstico de DA: IRM estrutural, ressonância magnética funcional (fIRM), espectroscopia de ressonância magnética (MRS), tomografia por emissão de positrões (PET) e tomografia axial computadorizada (TAC)(“Alzheimer’s and Dementia Testing for Earlier Diagnosis,” 2017; Hampel et al., 2010).

Tradicionalmente, estas técnicas são classificadas como estruturais ou funcionais, de acordo com a informação primária que fornecem. Contudo, os métodos geralmente utilizados permitem olhar para estrutura e ainda podem ser alterados, de modo a observar a função, sendo exemplo a fIRM. Do mesmo modo, métodos funcionais tradicionais, como PET, podem também ser utilizados de modo a visualizar a estrutura, como a imagem de placa amilóide (W Small et al., 2009).

A DA possui alguns sinais precoces como a redução volumétrica do hipocampo, do córtex entorrinal e do cíngulo posterior. Alguns estudos demonstraram atrofia hipocampal numa fase de CCL, sendo que a taxa de atrofia nesta zona pode identificar indivíduos com CCL que posteriormente evoluirá para DA. Posteriormente, a redução volumétrica estender-se-á ao neocórtex frontal, parietal e temporal (Caramelli et al., 2011). Até à data, não existe concordância em relação a valores padronizados estabelecidos como significativos de redução de volume cerebral (“Alzheimer’s and Dementia Testing for Earlier Diagnosis,” 2017).

Os métodos de neuroimagem estrutural comumente utilizados são realizados através de TAC e IRM (Caramelli et al., 2011), sendo que as diretrizes mais recentes concordam que este tipo de procedimento deve ser realizado uma vez em cada paciente (Hort et al., 2010). A *American Academy of Neurology Practice Parameter* recomendou a neuroimagem estrutural com TAC de não-contraste ou IRM para a avaliação inicial de pacientes com demência (Knopman et al., 2001). Estes métodos fornecem informações sobre a forma, posição e volume do tecido cerebral (“Alzheimer’s and Dementia Testing for Earlier Diagnosis,” 2017). A TAC proporciona a obtenção informações de alta resolução (~ 1 mm) e pode ser usada na identificação de acidentes vasculares cerebrais, hipocefalia, atrofia ou em lesões que ocupem espaço (W Small et al., 2009). Esta é então utilizada com o propósito de afastar causas secundárias e reversíveis de demência (Caramelli et al., 2011). A utilização de material de contraste intravenoso permite o aumento da imagem de sangramento, neoplasias, infecção e inflamação. A exposição à radiação é de aproximadamente 1·3 mSv. Apesar desta exposição, a TAC é frequentemente empregada em vez de IRM em ambientes clínicos, devido ao baixo custo e ampla disponibilidade (W Small et al., 2009).

Figura 7-TAC de indivíduo normal à direita e TAC de indivíduo com DA à esquerda (“Enfermedad de Alzheimer: El diagnóstico.,” 2013)



A IRM é considerado o método de eleição devido à sua capacidade superior de detalhamento anatômico e detecção de alterações, excepto na existência de contra-indicações para a sua realização. Esta possui um papel de diagnóstico central em algumas demências, nomeadamente demência vascular e doença de Creutzfeldt-Jacob (DCJ), e contribui ainda para a identificação de degeneração lobar frontotemporal (Caramelli et al., 2011). Fornece informações de alta resolução (~ 1 mm) relativamente à estrutura cerebral, incluindo diferenciação de matéria cinzenta e matéria branca, e delimitação da hiperintensidade de substância branca (W Small et al., 2009). É sensível

a alterações vasculares súteis e alterações que possam indicar condições específicas (como esclerose múltipla, atrofia de sistemas múltiplos e doença de prião). O contraste não se encontra indicado (Hort et al., 2010). Contudo, os agentes de contraste são utilizados por vezes com o intuito de melhorar a visualização das lesões cerebrais. Na prática clínica, no scanning estrutural de IRM os radiologistas interpretam os resultados com base em leituras visuais. Os programas de análise de imagem que quantificam os volumes regionais na IRM e TAC demonstraram que as medições temporais de atrofia temporal ou do hipocampo podem fazer a distinção entre pacientes com diagnóstico clínico de DA e controlos. Embora a atrofia do hipocampo possa prever a progressão do dano a nível da memória, essas mudanças podem não ser específicas para DA, podendo ocorrer noutros distúrbios demenciais (W Small et al., 2009). Na DA, a IRM demonstra tipicamente um padrão de diminuição da matéria cinzenta no “gyrus” parahipocampal, no hipocampo, na amígdala, no córtex da associação posterior e nos núcleos subcorticais, incluindo o proencéfalo basal colinérgico (Hampel et al., 2010). Estudos relacionados mostraram um padrão mais generalizado de atrofia cortical em início precoce e tardio de demência, enquanto alterações corticais específicas foram associadas a um declínio específico de linguagem e aumento de apatia. A hiperintensidade de substância branca subcortical foi observada através de IRM tanto em indivíduos com DA como em indivíduos com envelhecimento normal, concluindo-se que esta característica não se encontra fortemente associada à gravidade da doença. Pessoas idosas com alterações graves de substância branca possuem um risco maior de declínio funcional rápido comparativamente com indivíduos que possuem alterações leves. A extensão e a localização espacial destas lesões parecem determinar o grau de influência na cognição (W Small et al., 2009). Em estudos longitudinais, a IRM pode ser utilizada como marcador potencial, uma vez que taxas de atrofia cerebral global e de hipocampo são marcadores sensíveis para progressão de neurodegeneração, sendo cada vez mais utilizadas na pesquisa clínica com terapêuticas potencialmente modificadoras da evolução da doença, com o intuito de discriminar os efeitos dessa terapêutica (Caramelli et al., 2011; Hampel et al., 2010).

Os pacientes podem realizar múltiplos scans, uma vez que o método não envolve radiação ionizante. Alguns pacientes não toleram este método, devido ao seu tubo longo e estreito, sentindo efeitos de claustrofobia; ou caso estes possuam no seu corpo

materiais metálicos ou *pacemakers*, não podendo ser submetidos aos elevados campos magnéticos dos scanners (W Small et al., 2009).

O CCL observado através de IRM caracteriza-se por diminuição volumétrica relativamente a estruturas do lóbulo temporal medial, incluindo o hipocampo, onde o volume do hipocampo (VHC) se encontra associado à proteína A β e declínio de memória (Mcconathy & Sheline, 2014), tratando-se de um preditor de função cognitiva (W Small et al., 2009). A medida mais comumente utilizada na IRM é o VHC, medido por inspeção visual ou desenho manual em fatias (Hampel et al., 2010). A avaliação VHC pode ser realizada de forma manual ou automatizada, com acréscimo na sensibilidade (90%) e especificidade (91%) na diferenciação de DA e CCL comparativamente com controlos. A atrofia do lóbulo temporal medial é um marcador de diagnóstico válido para o diagnóstico da DA em situações de pesquisa (Caramelli et al., 2011). A confiabilidade das medidas volumétricas obtidas por exames repetidos de IRM é geralmente alta, constituindo um pré-requisito importante para seu uso como marcador de progressão da doença (Hampel et al., 2010).

Existe a necessidade de normatização de dados volumétricos para que a sua aplicação seja feita na prática clínica, sobretudo na avaliação individual de casos de CCL. A avaliação longitudinal deve ser realizada de preferência na mesma instituição, uma à existência de variabilidade das técnicas de aquisição, processamento e, quando realizada volumetria manual, ainda variabilidade inter-examinadores (Caramelli et al., 2011).

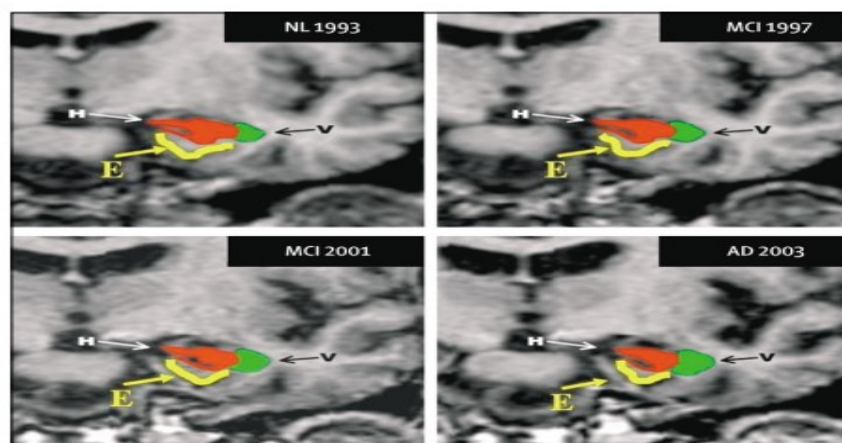
De acordo com a revisão feita por Mcconathy & Sheline, a taxa de atrofia do hipocampo no CCL antevê a taxa de conversão para DA. Vários grupos descobriram que pequenas taxas de atrofia do hipocampo conduziram a transições mais lentas para DA, ao invés disso, a rápida conversão para DA caracterizou-se por uma taxa elevada de atrofia do hipocampo. Indivíduos pré-sintomáticos que posteriormente apresentam DA também apresentaram perfil de redução da espessura cortical e taxas aceleradas de atrofia do hipocampo (Mcconathy & Sheline, 2014). Esta atrofia pode ser detetada através de IRM, ou visualizada através de scanner de TAC. Vários estudos estruturais efetuados com auxílio de IRM localizam o padrão de atrofia, no início da DA, em regiões posteriores com envolvimento proeminente do córtex precúneo e cingulado posterior (Hort et al., 2010). Para a avaliação da atrofia medial temporal a IRM também demonstra ser superior. Contudo, na indisponibilidade deste método ou na contra-indicação da sua realização, é aconselhável a realização da TAC na orientação coronal

(ou reconstrução coronal), uma vez que pode auxiliar na avaliação da atrofia medial temporal (Caramelli et al., 2011). Além das características referidas anteriormente, a IRM pode ser útil na monitorização de mudanças ao longo do tempo e pode auxiliar o médico no seguimento do processo da doença de modo a explicá-lo de melhor forma ao paciente (Hort et al., 2010). Além das funções referidas, a IRM pode ser utilizada de modo a identificar biomarcadores no LCR (Mcconathy & Sheline, 2014). Este assunto será abordado posteriormente.

Um estudo do ano de 2012 utilizando a definição NIA-AA relativamente à DA pré-clínica demonstrou que, após um ano de acompanhamento, as taxas de amilóide eram significativamente diferentes em todos os estágios pré-clínicos. A taxa no estágio 0 foi de 5%, no estágio I (apenas presença de amilóide) foi de 11%, o estágio II (incluindo anormalidades estruturais de IRM) foi de 21% e o estágio III (com a adição de alteração cognitiva) foi de 43%. (Knopman, Wiste, Weigand, Senjem, & Boeve, 2012). Assim, adicionar IRM estrutural ao amilóide isolado melhora a previsão de progressão da doença. A combinação de volumes estruturais de matéria cinzenta, imagem de tensor de difusão e biomarcadores de proteína presentes no LCR resultou numa precisão de 91%, sensibilidade de 85% e especificidade de 96% na previsão de conversão de CLL em DA (Menke et al., 2013).

A Figura 8 demonstra o desenvolvimento de CCL num indivíduo, que mais tarde evoluiu para DA. O conjunto de imagens de alta resolução regista três regiões: hipocampo (vermelho), córtex entorrinal (amarelo) e ventrículo contendo LCR (verde). As imagens demonstram que o hipocampo e o córtex entorrinal tornam-se menores com a progressão da doença, enquanto o ventrículo aumenta o seu tamanho (Blennow et al., 2006).

Figura 8- Mudanças estruturais longitudinais de RM num homem cognitivamente normal de 75 anos na linha de base (1993) e durante 10 anos (Blennow et al., 2006)



A fronteira mais recente na previsão de neuroimagem ocorre na conversão de indivíduos pré-sintomáticos em indivíduos com CCL. De acordo com a revisão de McConathy & Sheline, vários estudos de controlos normais demonstram que o volume de partes restritas do hipocampo (CA1 e *subiculum*) possuem maior associação comparativamente com o VHC total no que diz respeito à conversão para CCL (McConathy & Sheline, 2014). De acordo com uma revisão mencionada pelos mesmos, a redução de volume de matéria cinzenta no lóbulo parietal, especialmente no giro angular e córtex pré-frontal, encontra-se descrito antes do desenvolvimento de CLL. A atrofia nessas regiões pré-selecionadas precedeu a perda de VHC, sendo detetável mais de 10 anos antes do início clínico da doença, encontra-se ainda correlacionada com a carga amilóide e ratio $A\beta_{42}$ / tau do LCR (medida pelo Composto B de ligação Pittsburgh (PiB))(McConathy & Sheline, 2014).

A espectroscopia por ressonância magnética (ERM) trata-se de uma aplicação da RM. Esta permite a avaliação dos metabólitos *in vivo*, de forma não invasiva. Esta fornece informações bioquímicas quantitativas sobre o substrato de tecido cerebral ou concentrações de metabólitos (W Small et al., 2009). É um método de neuroimagem funcional, sendo discutido simultaneamente com os parâmetros e dados obtidos através de RM. As descobertas reveladas por este de ERM na DA são a redução do N-acetil-aspartato (Naa) e as suas relações (Naa/creatina (Cr) e Naa/água), bem como o aumento de mioinositol (mI) e as suas relações (mI/Cr e mI/água). A relação mI/Naa, que reúne as duas alterações metabólicas mais significativas na DA, é considerada relevante para a deteção da doença. Contudo, estas alterações não são específicas (Caramelli et al., 2011). Outros metabólitos, como compostos contendo colina, Cr e fosfo-Cr, glutamato e glutamina são detetáveis através de ERM. Contudo, o seu potencial a candidatos como biomarcadores na DA é controverso e requer pesquisas refinadas (Hampel et al., 2010).

Naa reflete o estado funcional das mitocôndrias neuronais. A redução dos níveis de Naa independentes da atrofia cerebral é um achado consistente na DA (Hampel et al., 2010). Indivíduos com CCL e DA demonstram o nível de Naa reduzido no hipocampo em comparação com controlos. Esta técnica pode também possuir utilidade na monitorização de alterações dos metabólitos em ensaios clínicos e na diferenciação entre pacientes com CLL e DA (W Small et al., 2009). Deste modo, a correlação com dados clínicos e análise preferencial dos locais precocemente afetados e típicos da doença, pode aumentar o aperfeiçoamento do método. O cíngulo posterior é uma destas regiões, sendo bastante utilizada em diversos estudos, e possuiu uma realização e

reprodução tecnicamente mais fácil, comparativamente com o hipocampo (Caramelli et al., 2011).

Na ERM embora os seus achados possibilitem a distinção entre grupos de indivíduos com DA e controlos, existe a necessidade de ampla normatização de valores normais para a aplicação individual na prática clínica. Contudo, quando os achados característicos se encontram presentes em indivíduos com declínio cognitivo, podem comprovar o diagnóstico clínico (Caramelli et al., 2011).

Outras técnicas volumétricas de RM como imagem de tensor de difusão (ITD), tractografia por RM, transferência de magnetização, RM de perfusão, “*arterial spin labeling*” (ASL) e fIRM são considerados marcadores com menor grau de validação nos protocolos de pesquisa, não possuindo papel estabelecido na prática clínica (Caramelli et al., 2011).

A realização do exame de neuroimagem estrutural possui algumas recomendações: “1- O exame de neuroimagem estrutural, TAC ou preferencialmente IRM, é indicado na investigação diagnóstica de síndrome demencial, para exclusão de causas secundárias (Padrão); 2- A identificação de atrofia medial temporal em exames de IRM, por análise visual, volumetria manual ou automatizada, contribui para o diagnóstico de DA na prática clínica (Opção Prática), embora seu valor seja mais elevado na comparação de grupos, em protocolos de pesquisa; 3- A ERM pode ser recomendada para protocolos de pesquisa” (Caramelli et al., 2011).

Exames de neuroimagem funcional

A tecnologia de imagem funcional fornece informações sobre a estrutura do cérebro, contudo a sua resolução espacial é menor comparativamente com TAC ou IMR (W Small et al., 2009). Esta área engloba PET, TC de emissão de fótons simples (SPECT) e fIRM. Este tipo de tecnologia permite avaliar o quão bem trabalham as células nas várias regiões do cérebro, através do uso ativo de açúcar e oxigénio pelas mesmas (“Alzheimer’s and Dementia Testing for Earlier Diagnosis,” 2017).

A imagem funcional sugere que a atividade das células cerebrais em certas regiões se encontra tipicamente reduzida em pacientes com DA. Por exemplo, estudos com 2-desoxi-2-[¹⁸F] fluoro-D-glucose(FDG) -PET indicam que a DA se encontra frequentemente associada ao uso reduzido de glucose em áreas cerebrais que envolvam memória, aprendizagem e resolução de problemas (“Alzheimer’s and Dementia Testing for Earlier Diagnosis,” 2017). Os estudos de função cerebral são frequentemente

realizados com SPECT, utilizando [^{99m}Tc] D, L-hexametilpropileno amina oxima ([^{99m}Tc] HMPAO) ou PET, utilizando FDG de modo a medir o fluxo sanguíneo e o metabolismo de glucose. O valor de scanning funcional é composto por informação obtida através do fluxo sanguíneo cerebral ou do metabolismo de glicose, mesmo quando défices estruturais não se encontram presentes, permitindo auxílio médico no diagnóstico diferencial de demência (W Small et al., 2009). Estes marcadores, com cinética e padrões de produção in vivo, indicam e quantificam a presença ou atividade de processos bioquímicos específicos, como receptores, transportadores, enzimas e vias metabólicas. Atualmente, PET e SPECT são técnicas de imagem molecular aplicadas na imagem de demência em humanos e utilizam marcadores radioativos (radiotracers) (Mcconathy & Sheline, 2014). Estes são altamente direcionados para a deteção de alterações celulares ou químicas associadas a doenças específicas (“Alzheimer’s and Dementia Testing for Earlier Diagnosis,” 2017). O radiotracer acumula-se em áreas cerebrais, na proporção de taxa de entrega de nutrientes para esse volume de tecido cerebral. PET também fornece medidas de metabolismo cerebral regional de glucose. Pacientes com DA apresentam normalmente défices parietais, temporais, de cíngulo posterior e frontal, enquanto pacientes com demência frontotemporal apresentam défice frontal e temporal. A demência de corpos de Lewy (DCL) possui um padrão semelhante à da DA, contudo possui adicionalmente défices occipitais (W Small et al., 2009).

As tecnologias de imagem molecular estão entre as áreas de pesquisa mais ativas visando encontrar novas abordagens para diagnosticar a patologia nos seus estágios iniciais. As estratégias moleculares podem detetar pistas biológicas que indiquem que a DA se encontra em desenvolvimento antes que a doença mude a estrutura e função do cérebro, e ainda que ocorra alteração irreversível de memória, pensamento e raciocínio. Este tipo de tecnologia pode ainda oferecer uma nova estratégia de monitorização da progressão da doença e avaliar a eficácia de tratamentos modificadores da doença. Atualmente, existem quatro compostos de imagem molecular aprovados, enquanto os restantes continuam a ser estudados. No ano de 2012, a Food and Drug Administration (FDA) aprovou o primeiro marcador de imagem molecular utilizado em pacientes avaliados com possível DA ou outras causas de declínio cognitivo. Florbetapir (Amyvid®), trata-se de uma molécula que se liga a A β no cérebro. Por ser um radiotracer este pode ser visualizado durante um scanning cerebral de PET, revelando a presença de placas amilóides no cérebro de pacientes vivos. Um ano mais tarde, foi aprovado o segundo marcador de imagem molecular, Flutemetamol (Vizamyl®). Este

liga-se a A β revelando placas amilóides no cérebro, durante imagens de PET. Por fim, no ano de 2014, foi aprovado o terceiro marcador de imagem molecular, Florbetaben (Neuraceq®). Estes três radiotraçers foram aprovados para detecção de A β cerebral; enquanto PIB foi o primeiro radiotracer capaz de destacar depósitos de A β na DA, em indivíduos vivos, durante uma análise de PET (“Alzheimer’s and Dementia Testing for Earlier Diagnosis,” 2017). As avaliações mais rigorosas da correlação entre os achados de imagem e a confirmação patológica de DA em autópsia estão atualmente disponíveis para florbetapir, flutemetamol e florbetaben. A comparação com os resultados de autópsias demonstrou que os estudos positivos de florbetapir-PET, flutemetamol-PET e florbetaben-PET correspondem à existência de placas A β moderadas ou frequentes em neuropatologia. Erros do leitor, atrofia cerebral, movimento do paciente durante o scan e a aquisição de imagens muito cedo ou muito tarde após a injeção do radiotracer podem levar a falsos negativos e falsos positivos (Mcconathy & Sheline, 2014).

A fase original do projeto Iniciativa de Neuroimagem da Doença de Alzheimer (ADNI) já se encontra concluída, contudo a AA apoiou três fases de estudo de acompanhamento, conhecidas como ADNI-GO, ADNI-2 e ADNI-3. O seu objetivo final será determinar se os protocolos de imagem padronizados, possivelmente combinados com testes laboratoriais e psicológicos, podem oferecer uma melhor identificação de indivíduos de alto risco, fornecer diagnóstico prévio, rastrear a progressão da doença e monitorizar efeitos do tratamento. Neste momento estão a ser testados radiotraçers para a proteína tau (“Alzheimer’s and Dementia Testing for Earlier Diagnosis,” 2017), contudo, não existem evidências suficientes para apoiar seu uso como biomarcadores de imagem clínica em demência e comprometimento cognitivo (Mcconathy & Sheline, 2014).

[¹⁸F] FDG-PET é o marcador de PET mais utilizado nos EUA, tanto para imagem oncológica como em demência. A absorção e retenção regional deste marcador no cérebro fornece uma medida quantitativa do metabolismo da glicemia cerebral. Segundo Mcconathy & Sheline, numerosos estudos demonstraram que indivíduos com DA ao longo do tempo diminuem progressivamente a absorção cerebral de FDG, refletindo lesão neuronal e perda predominantemente nos córtices tempo-parietal, frontal e cíngulo posterior (Mcconathy & Sheline, 2014). As alterações mencionadas estão intimamente relacionadas com comprometimento cognitivo demonstrado através de estudos longitudinais “*cross-sectional*”. As alterações na absorção de FDG são

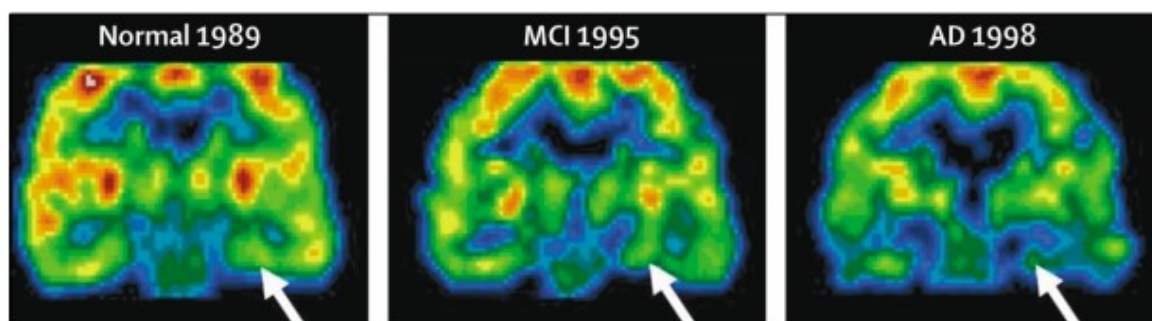
atribuídas a efeitos de fármacos farmacodinâmicos, podendo reflectir também a progressão da doença, especialmente quando medidas após vários meses de acompanhamento. Esta técnica tem sido usada como parâmetro de resultado secundário em alguns ensaios clínicos (Hampel et al., 2010).

PET possui maior resolução espacial e temporal, sendo também mais facilmente quantificada do que SPECT. A interpretação clínica dos estudos de FDG-PET no diagnóstico de demência pode ser realizada através de análise visual qualitativa dos níveis relativos de absorção de FDG em regiões relevantes do cérebro. A análise quantitativa da absorção regional de FDG também pode ser realizada através de comparação com bancos de dados normativos. Existem dados sugerindo que este tipo de análise pode melhorar a precisão diagnóstica, particularmente em casos de leitores menos experientes. A sensibilidade desta técnica, para o diagnóstico de DA precoce é cerca de 90%, contudo a especificidade para distinguir DA de outros tipos de demência é menor (71-73%) em estudos que utilizaram a confirmação de autópsia como padrão de referência (Mcconathy & Sheline, 2014).

Existem dados que suportam o uso desta técnica com o intuito de prever quais os indivíduos saudáveis que desenvolverão CCL e quais o que progredirão para DA. Alguns estudos sugerem que FDG pode ser um melhor marcador de declínio cognitivo progressivo, comparativamente com a imagem de amilóide e a pesquisa de A β no LCR (Mcconathy & Sheline, 2014).

Subsistem estudos que examinaram a capacidade de distinção de FDG entre pacientes com DA e pacientes com FTD ou DLB. Na FTD, o padrão típico de hipometabolismo envolve predominantemente os lobos frontal e temporal, geralmente assimetricamente. O padrão de hipometabolismo de glucose é semelhante na DA e DLB, contudo na DLB está tipicamente presente hipometabolismo occipital, o que não acontece na DA, podendo ser usado na distinção destas demências (Mcconathy & Sheline, 2014).

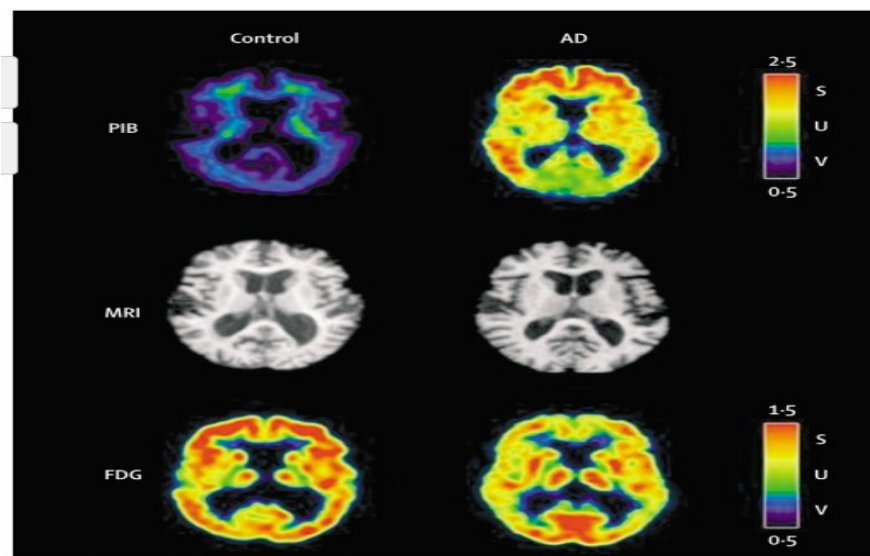
Figura 9- Exame FDG-PET efetuado numa mulher cognitivamente normal de 71 anos na linha de base (1989), com seguimento de 9 anos (Blennow et al., 2006)



A Figura 9 demonstra que durante o período de estudo, a paciente desenvolveu CLL que mais tarde evoluiu para DA, confirmado através de autópsia. Para cada observação, foi descrita uma análise de PET coronal a nível do córtex entorrinal e hipocampo anterior. As setas indicam a superfície inferior do córtex entorrinal, possuindo cores progressivamente mais escuras, indicando reduções progressivas no metabolismo da glucose(Blennow et al., 2006).

Segundo Hampel et al., vários estudos demonstraram que a ligação de ^{11}C -PIB a $\text{A}\beta$ pode ser visualizada através de exames PET em indivíduos portadores de DA (Hampel et al., 2010). Contudo, os três radiotracers referidos anteriormente são mais adequados para o uso clínico de rotina, devido à maior semi-vida de ^{18}F em comparação com ^{11}C - (110 min vs. 20 min) (Mcconathy & Sheline, 2014). Os locais de ligação de PIB no cérebro estão associados a folhas de $\text{A}\beta$, sendo que este não se liga a amilóide solúvel e oligómeros de $\text{A}\beta$. O aumento da captação cortical de PIB é observado em 2 a cada 3 pacientes com CCL com progressão provável para DA. Contudo, uma porção significativa de indivíduos idosos com CCL mostra aumento da captação de PIB com implicações prognósticas ainda desconhecidas. Os ensaios de Fase II já foram iniciados para radiotracers amilóides, rotulados como isótopos ^{18}F . Estes possuem uma maior semi-vida e maior disponibilidade comparativamente com PIB (Hampel et al., 2010). Medidas de test-retest de valores de absorção padronizados (SUV) com ^{11}C -PIB, ^{18}F -florbetapir, ^{18}F -florbetaben e ^{18}F -flutametamol mostraram boa confiabilidade test-retest, com diferenças médias da ordem de 1 a 6% entre sessões de imagem repetidas (Mcconathy & Sheline, 2014).

Figura 10- Imagens PIB, IRM e FDG-PET de um controlo e individuo com DA.



O controlo representado na Figura 10 de 71 anos e possui um score MMSE de 30, enquanto o paciente com DA de 69 anos possuía um MMSE de 21. O doente com DA possui acumulação de PIB, juntamente com uma análise FDG típica da doença com hipometabolismo temporoparietal e frontal. As barras da escala indicam os SUV para PIB e FDG. É de notar que o alcance dinâmico do PIB é o dobro do FDG.

No ano de 2013, um relatório elaborado pela Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging e pela AA emitiu critérios adequados para o uso de PET-amilóide. As recomendações baseiam-se principalmente numa revisão da literatura combinada com o consenso de especialistas. Estas diretrizes consideram PET-amilóide apropriado em determinados cenários clínicos para indivíduos que atendem aos seguintes critérios: 1- Reclamação cognitiva confirmada objetivamente; 2- Possíveis etiologias incluindo DA, contudo o diagnóstico permanece incerto após o preenchimento da avaliação por um especialista em demência; 3- Espera-se que a segurança diagnóstica seja afetada pelos resultados obtidos por PET-amilóide (Mcconathy & Sheline, 2014).

Os seguintes cenários clínicos são considerados adequados por estas diretrizes para o uso clínico de PET-amilóide em indivíduos que atendem aos critérios acima: 1- CCL inexplicável progressivo ou persistente; 2- Curso atípico ou apresentação mista em pacientes que atendem aos critérios clínicos fundamentais para possíveis doentes de Alzheimer; 3- Idade precoce do início da demência progressiva, idade inferior a 65 anos tipicamente (Mcconathy & Sheline, 2014).

Os seguintes cenários são considerados inadequados para o uso clínico de PET-amilóide: 1- DA provável com idade típica de início; 2- Avaliação da gravidade da demência; 3- História familiar positiva, presença de APOE4 ou transportador suspeito de mutação autossómica dominante; 4- Nenhuma confirmação objetiva de comprometimento cognitivo no exame clínico; 5- Indivíduos assintomáticos; 6- Cobertura de seguro, seleção de emprego e outros usos não médicos (Mcconathy & Sheline, 2014).

A SPECT fornece medidas do fluxo sanguíneo cerebral detetando um marcador que emite um único fóton após sua injeção intravenosa e absorção no cérebro. A resolução espacial é de cerca de 10 mm e a exposição à radiação é de aproximadamente 9 mSv. Embora os estudos de comparação sugiram que SPECT possui menor precisão diagnóstica do que PET, avanços na análise estatística baseada em voxel melhoraram a precisão de perfusão cerebral de SPECT ao diagnosticar DA precoce. Na prática clínica a imagem SPECT pode ser útil no diagnóstico de demência e na diferenciação de DA e

FTD. Anteriormente, SPECT era usada mais frequentemente devido à sua maior disponibilidade e menor custo (W Small et al., 2009).

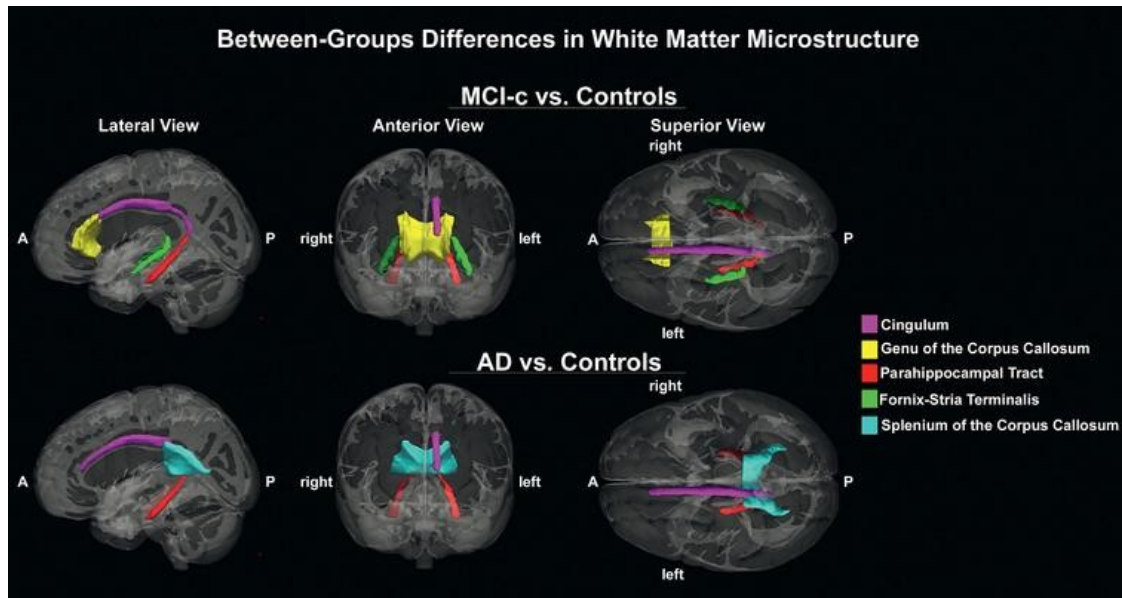
A fIRM é significativamente menos reconhecida como uma potencial ferramenta clínica. Esta apoia-se em alterações em tarefas na atividade do hipocampo, principalmente durante a codificação, hiperativação do hipocampo no início do processo da doença e ainda alterações na conectividade funcional no estado de repouso (Mcconathy & Sheline, 2014). É utilizada na medição de intensidades de sinal associadas ao fluxo sanguíneo cerebral relativo, durante a memória ou outras tarefas cognitivas. A intensidade do sinal da IRM associado a uma determinada tarefa em comparação com a condição de controlo corresponde ao fluxo sanguíneo e atividade neural, mas apenas indiretamente. Estudos de fIRM de pacientes com DA mostram atividade cerebral reduzida nas regiões parietais e hipocampal e atividade relativamente maior nos cortices primários não afetados pela doença (W Small et al., 2009). A utilização de fIRM demonstrou um padrão de ativação alterado nos lobos temporais mediais e parietais, mostrando-se consistentes com os resultados estruturais da IRM. Ainda não foram efetuados estudos multicêntricos e longitudinais que utilizem fIRM em pacientes com DA, o que futuramente representará um passo importante no desenvolvimento posterior de biomarcadores utilizados em fIRM (Hampel et al., 2010).

Uma aplicação relativamente nova deste tipo de tecnologia envolve a medida de extensão em que diferentes áreas do cérebro estão funcionalmente conectadas. Comparativamente com controlos, os pacientes com DA demonstram, durante o descanso mental, uma atividade menos coordenada numa rede cerebral padrão (cingulado posterior, hipocampo e lóbulos parietais inferiores). Os estudos de fIRM de repouso e ativação relataram interrupções semelhantes na conectividade funcional em doentes de Alzheimer, o que pode explicar em parte a diminuição do metabolismo de glucose em repouso, encontrada através da utilização de FDG-PET (W Small et al., 2009). A fIRM também demonstrou maior ativação do cérebro durante tarefas que envolvam memória, em portadores APOE ϵ 4 cognitivamente intactos, comparativamente com não-portadores, sendo que o grau de ativação prevê subsequente diminuição da memória. Assim, combinando medidas de risco genético e fIRM, durante o desempenho da tarefa de memória, existe um futuro potencial como preditor pré-sintomático do declínio cognitivo (W Small et al., 2009).

Embora a fIRM possa eventualmente ser usada como auxiliar no diagnóstico e monitorização do tratamento, a identificação de paradigmas cognitivos apropriados para diferentes níveis de comprometimento cognitivo representa um desafio prático. Indivíduos com CCL submetidos a fIRM podem realizar tarefas de memória semelhantes que ativem o hipocampo durante a codificação de memória bem-sucedida, enquanto pacientes com demência são prejudicados geralmente na execução de tais tarefas de memória. Contudo, o uso de paradigmas de codificação de memória menos exigentes durante a fIRM demonstrou correlações significativas entre a ativação regional e as pontuações de desempenho cognitivo (W Small et al., 2009).

Por último, a ITD fornece imagens de conectividade neuronal sob a forma de dados quantitativos relativamente à direcionalidade (anisotropia) da difusão de água, indicando a orientação e integridade das fibras brancas na matéria branca. Doentes de Alzheimer demonstraram uma diminuição da densidade das fibras na matéria branca, provavelmente estas alterações derivam da degeneração secundária da matéria cinzenta temporal medial (W Small et al., 2009). A anisotropia pode sofrer alterações mesmo nas fases pré-clínicas da DA, fazendo com que a IDT se torne uma ferramenta auxiliar de diagnóstico relativamente ao estudo de alterações microestruturais nas fibras durante a progressão da doença. A anisotropia fracionada (AF) é a medida de IDT que quantifica indiretamente o grau de organização geométrica dos feixes axonais através do cérebro (Lacalle-Aurioles et al., 2016). A AF das fibras do cíngulo encontra-se significativamente reduzida em pacientes com CCL e ainda mais em indivíduos com DA. Ao correlacionar os resultados de IDT com as medidas do VHC, existe uma diferenciação significativamente maior entre os grupos de CLL, DA e controlo. Contudo, o significado das descobertas de IDT relativamente ao envelhecimento não é claro, uma vez que vários fatores podem influenciar os resultados, incluindo a capacidade mental durante a infância, bem como mudanças iniciais no desenvolvimento (W Small et al., 2009).

Figura 11- Diferenças entre CLL e DA comparativamente com indivíduos controle visualizadas através de ITD (Lacalle-Auriolesa et al., 2016)



É de notar que a imagem amilóide não é recomendada para o uso rotineiro em pacientes suspeitos de DA, uma vez que a sua presença não significa a existência de sintomas de declínio cognitivo ou DA, apesar da presença destas placas no cérebro ser característica da DA, não podendo ser usada para diagnosticar a doença (“Alzheimer’s and Dementia Testing for Earlier Diagnosis,” 2017).

Exame ao líquido cefalorraquidiano (LCR)

O LCR trata-se de um líquido claro que imerge e amortece o cérebro e a medula espinhal. O ser humano adulto possui cerca de 1 litro de LCR. O seu exame é feito através de um procedimento minimamente invasivo, chamado de punção lombar ou torção espinhal. A DA nos seus estágios iniciais pode causar alterações nos níveis de tau e A β presentes no LCR (“Alzheimer’s and Dementia Testing for Earlier Diagnosis,” 2017). A realização de uma análise de rotina ao LCR do individuo pode constituir uma vantagem para a detecção de DA, uma vez que complementa o diagnóstico de causas específicas de demência (Caramelli et al., 2011).

Os exames de rotina, como contagem de células no LCR, avaliação de glucose e proteína através de eletroforese são obrigatórios quando se suspeita de vasculite, doença inflamatória, doença hematológica ou doença desmielinizante, e em casos de suspeita de CJD, diferenciando a DA das restantes patologias. A verificação do aumento da proteína 14-3-3 reflete perda neuronal e apoia o diagnóstico de CJD, assim como baixos

níveis de proteína $A\beta_{42}$ e níveis elevados de proteína tau e tau fosforilada (fosfo-tau) (Hort et al., 2010).

Relativamente à DA e a formas mistas de demência, os biomarcadores presentes no LCR constituem uma área bastante promissora, relativamente ao diagnóstico das mesmas. Estão presentes três biomarcadores no LCR que delimitam a “assinatura patológica” da doença, nomeadamente proteína $A\beta_{42}$, proteína tau e fosfo-tau (Michael S. Ritsner, 2009). As alterações que podem estar presentes no indivíduo são as seguintes: diminuição da proteína $A\beta_{42}$, uma vez que se trata do principal constituinte das placas neuríticas; aumento dos níveis de proteínas tau e fosfo-tau, resultado da acumulação intracelular de emaranhados neurofibrilares originários da degeneração neuronal (Caramelli et al., 2011). De modo a melhorar a precisão diagnóstica, estes biomarcadores devem ser combinados, calculando índices e desenvolvendo modelos baseados nestes biomarcadores. Por exemplo, as relações $A\beta_{1-42}$ / fosfo-tau₁₈₁ e t-tau / fosfo-tau₁₈₁ são capazes de diferenciar DA de pacientes com demência vascular e CJD, respectivamente (Engelborghs, 2013).

A análise da proteína $A\beta_{1-42}$ no LCR revela uma redução bastante significativa da mesma, em indivíduos com DA, comparativamente com controlos (<500 pg/ml) e indivíduos que sofrem de formas mistas de demência incluindo CCL. Esta redução de níveis deve-se à existência de uma depuração reduzida da proteína do cérebro para o sangue/LCR e a um aumento da agregação e deposição de placa no cérebro. Indivíduos que possuam demência vascular apresentam valores de $A\beta_{1-42}$ no LCR significativamente maiores, comparativamente com indivíduos saudáveis de controlo, diferenciando-se de indivíduos com DA que possuem lesões de substância branca (<750 pg/ml). Estes valores são observáveis na Figura 12. Os níveis de $A\beta_{1-40}$ melhoram a quantidade total de proteína $A\beta$ no cérebro em comparação com $A\beta_{1-42}$ e, portanto, permite uma melhor interpretação das diferenças interindividuais da quantidade de $A\beta$ em comparação com a concentração de $A\beta_{1-42}$ (Engelborghs, 2013). Apesar de não existir alteração no peptídeo $A\beta_{1-40}$ no LCR, existe uma diminuição acentuada na proporção de $A\beta_{1-42}/1-40$, tornando-se útil no diagnóstico da doença. Contudo, os níveis de $A\beta_{1-42}$ no LCR também se encontram reduzidos em patologias como paralisia supranuclear progressiva e degeneração cortico-básica, não se diferenciando da DA por meio desta análise (Michael S. Ritsner, 2009).

Nos controlos normais os níveis de t-tau presente no LCR aumentam consoante a idade: <300 pg/ml (21-50 anos), <450 pg/ml (51-70 anos) e <500 pg/ml (> 71 anos).

Um elevado número de estudos concluiu que a proteína t-tau presente no LCR constitui um biomarcador válido para o diagnóstico de DA e outras formas de neurodegeneração, uma vez que os seus níveis se encontram significativamente aumentados em indivíduos com DA, comparativamente com indivíduos controlo-idade (> 600 pg/ml) e pacientes com demência mista, incluindo o grupo de CCL. Os níveis de t-tau são altamente elevados na DCJ (> 1.300 pg/ml), sendo possível fazer a distinção entre as patologias. Os níveis desta proteína podem constituir também um marcador de prognóstico com boa validade preditiva no que diz respeito à conversão de CCL a DA, uma vez que níveis elevados de tau foram encontrados em 90% casos dos CCL que posteriormente progrediram para DA, excluindo casos de CCL estável (Michael S. Ritsner, 2009).

Como o próprio nome indica, a proteína tau, na DA é altamente hiperfosforilada em diferentes locais. A deteção de fosfo-tau na posição 181 é específica para DA em comparação com indivíduos-controlo. Com isto, fosfo-tau₁₈₁ encontra-se significativamente aumentada comparativamente com os controlos (> 50 pg/ml) na DA e em pacientes que sofrem de demência mista, incluindo indivíduos com CCL (Fig.12). Contudo, quando os níveis de fosfo-tau₁₈₁ mostram uma variabilidade intragrupo relativamente alta, a relação fosfo-tau₁₈₁/A β ₁₋₄₂ possui menor variabilidade. Um ratio superior a 10 entre fosfo-tau₁₈₁ e A β ₁₋₄₂ diferencia a DA de controlos. A análise de outras formas de fosfo-tau (fosfo-tau₁₉₉, fosfo-tau₂₃₁, fosfo-tau₂₃₅, fosfo-tau₃₉₆, fosfo-tau₄₀₄) pode oferecer melhorias significativas no diagnóstico da patologia. O declínio ligeiro dos níveis de fosfo-tau₁₈₁ podem, em alguns casos, indicar demência frontotemporal (DFT) (<15 pg ml), excluindo outras hipóteses (Michael S. Ritsner, 2009).

Figura 12- Biomarcadores presentes no LCR na DA e outras demências (Michael S. Ritsner, 2009)

Beta-amyloid(1-42)	Decreased (<500 pg/ml)
Total tau	Increased (>600 pg/ml)
Phospho-tau-181	Increased (>50 pg/ml)
Ratio (phospho-tau-181/beta-amyloid)*100	Increased (>10)
Nerve growth factor	Increased
Monocyte chemoattractant protein-1	Increased/unchanged
Vascular endothelial growth factor	Increased/unchanged
Transforming growth factor-beta	Increased/unchanged
Interleukin-8	Enhanced in MCI and AD
Insulin-like growth factor binding protein-6	Enhanced in AD
Macrophage-Colony stimulating factor	Enhanced in AD
Tumor necrosis-factor-alpha	Enhanced/reduced in MCI/AD/vascular dementia
Neuroserpin	Enhanced in AD
24-OH-cholesterol	Increased/unchanged

A avaliação combinada destas três alterações apresenta uma sensibilidade entre 85% e 94% e uma especificidade entre 83% a 100% para o diagnóstico de DA versus controlos (Hort et al., 2010).

A precisão de diagnóstica obtida através da utilização de biomarcadores no LCR na DA é alta. De acordo com Kaj Blennow, esta precisão foi posteriormente validada em casos de DA prodrómica em vários grandes estudos multicêntricos, incluindo o estudo DESCRIPA na Europa, o estudo americano ADNI e o estudo the Swedish Brain Power. Em conjunto, estes estudos apoiam o perfil dos biomarcadores de LCR na DA, pois possuem valor diagnóstico na identificação de casos de DA prodrómica com CCL, em populações com CCL não seleccionadas (Blennow, 2017), comprovando o alto desempenho diagnóstico destes biomarcadores no LCR (Hampel et al., 2010).

Em fases pré-clínicas e pré-demenciais da DA já é possível observar uma diminuição de $A\beta_{1-42}$ no LCR. Posteriormente, mas ainda na ausência de manifestação clínica da doença, é possível observar um aumento da proteína tau e fosfo-tau demonstrado através dos marcadores de degeneração neuronal. No caso de pacientes com CCL que posteriormente progridem para DA, os marcadores anteriormente mencionados já se encontram alterados (Caramelli et al., 2011). Um estudo prospetivo realizado ao longo de 5 anos comprovou que em pacientes com CCL, as concentrações de $A\beta_{1-42}$, t-tau e fosfo-tau₁₈₁ presentes no LCR estão fortemente associadas ao desenvolvimento futuro de DA (Hansson et al., 2006).

Os índices no LCR de t-tau / $A\beta_{1-42}$ e fosfo-tau₁₈₁ / $A\beta_{1-42}$ demonstram um forte compromisso como biomarcadores pré-clínicos, prevendo o declínio cognitivo em idosos cognitivamente normais (Fagan et al., 2007). São necessários então estudos prospetivos e longitudinais de modo a descrever o valor preditivo de um perfil de biomarcador patológico em idosos saudáveis. É de notar, que a interpretação destes biomarcadores deve ser feita de modo criterioso e deve ser confrontada com o quadro clínico do paciente, uma vez que em algumas situações não se observa um perfil clássico, onde todos os biomarcadores presentes no LCR se encontram alterados (Caramelli et al., 2011). É importante que os biomarcadores não se alterem no seguimento da doença, até atingirem o estágio de demência (Blennow, 2017). Antes deste exame constituir uma ferramenta confiável no diagnóstico de DA é necessário chegar a um consenso em relação ao processamento e manipulação das amostras (Hort et al., 2010).

Apesar de até hoje não terem sido encontrados biomarcadores com especificidade e sensibilidade superiores aos referidos anteriormente, existem outros biomarcadores presentes no LCR (Michael S. Ritsner, 2009). Estes candidatos refletem elementos do processo patogénico primário na DA ou eventos secundários da doença. São exemplos: oligómeros de A β , BACE1, isoformas segregadas de APP e produtos de degradação A β . O potencial de diagnóstico destes biomarcadores não está tão bem estudado. Contudo, alguns biomarcadores como atividade BACE1 e isoformas de APP podem também fornecer informações importantes sobre efeitos bioquímicos desejados de certos medicamentos candidatos, tais como inibidores de BACE1 (Hampel et al., 2010).

Outro biomarcador bastante promissor é designado de fator de crescimento do nervo (NGF). Trata-se de um fator trófico potente que suporta a sobrevivência dos neurónios colinérgicos, que degeneram no início da DA, possivelmente devido ao transporte retrógrado defeituoso de NGF para o núcleo basal de Meynert. NFG encontra-se aumentado em pacientes com DA, sendo o aumento dependente da extensão da degeneração neuronal, manifestada através da proporção fosfotau₁₈₁/A β ₁₋₄₂. Os dados de NGF em bruto não revelam uma diferença significativa. Contudo, a comparação de NGF entre pacientes com a patologia (relação fosfotau₁₈₁/A β ₁₋₄₂ rácio >10) e indivíduos saudáveis de controlos (proporção fosfotau₁₈₁/A β ₁₋₄₂ rácio <6) demonstra uma diferença significativa. Esta diferença sugere que NGF é provavelmente acumulável apenas numa determinada fase da doença (Michael S. Ritsner, 2009).

Relativamente às citocinas e fatores de crescimento presentes no LCR, os resultados são heterogéneos tornando-se inconsistentes, não constituindo um biomarcador seletivo para DA. No que diz respeito ao fator de crescimento de hepatócitos e ao fator de crescimento endotelial vascular observou-se um aumento dos seus níveis no LCR em pacientes com DA, contudo, o aumento não é significativo. Por outro lado, os níveis de interleucina-8, fator estimulante de colónias de macrófagos e proteína-6 de ligação do fator de crescimento semelhante a insulina foram reforçados no LCR de pacientes com DA. Por fim, sugeriu-se que o hidroxicolesterol de 24-S poderia ser um biomarcador sensível para CCL, uma vez que se correlaciona com t-tau no LCR. Os níveis de neuroserpina presentes no LCR são significativamente aumentados na DA comparativamente com os controlos. Nenhum destes factores à excepção de NGF pode

ser específico e identificado no LCR para CCL, demência vascular ou outras formas de demência (Michael S. Ritsner, 2009).

A técnica mais utilizada para a medição dos biomarcadores é o ensaio imunoenzimático (ELISA), incluindo um ensaio para t-tau, medindo todas as suas isoformas, independentemente do estado de fosforilação, para fosfotau₁₈₁ e para as 42 formas de aminoácidos $A\beta_{(1-42)}$. Embora estes biomarcadores tenham sido validados clinicamente, existe um problema de variabilidade nas medidas entre laboratórios clínicos e entre lotes de reagentes, mais pronunciados para $A\beta_{42}$ do que para t-tau ou fosfo-tau. O problema resulta de diferenças presentes nos procedimentos analíticos usados pelos métodos de utilização de ELISA entre laboratórios e da variabilidade da qualidade e fabrico de reagentes para os kits. A resolução deste problema passa pelo desenvolvimento de uma massa totalmente validada de procedimentos de medição de referência baseados em espectrometria para $A\beta_{42}$ no LCR, servindo de "padrão-ouro" para a medição $A\beta_{42}$ e materiais de referência certificados para os biomarcadores presentes LCR na DA (Blennow, 2017).

A análise dos níveis de proteína na mesma amostra geralmente varia significativamente de instituição para instituição. Alcançar uma medida consistente é uma barreira que foi superada noutras condições médicas utilizando um protocolo de procedimento padrão e comparando os resultados da mesma amostra em múltiplos sítios designados como laboratórios de referência. De modo a facilitar a consistência na análise das proteínas LCR relacionadas à DA, a AA financiou o Programa de QC para biomarcadores do LCR. As organizações podem comparar os resultados da análise da amostra com os resultados em laboratórios de referência nos EUA e na Europa ("Alzheimer's and Dementia Testing for Earlier Diagnosis," 2017).

O diagnóstico diferencial de demência poderá ser melhorado caso seja possível usar outros biomarcadores de LCR, particularmente aqueles que reflitam etiologias de patologias de demência não DA (Engelborghs, 2013).

A realização deste exame, para punção lombar possui algumas recomendações: *"1- O exame ao LCR é indicado na investigação de demência de início pré-senil (antes dos 65 anos), em casos com apresentação ou curso clínico atípicos, hidrocefalia comunicante, e ainda qualquer evidência ou suspeita de doença inflamatória, infecciosa ou priônica do sistema nervoso central (Padrão). 2- A dosagem do peptídeo $A\beta_{1-42}$ e das proteínas tau e fosfo-tau no LCR pode ser empregada em protocolos de pesquisa ou em ensaios clínicos terapêuticos. Na prática clínica, seu uso pode*

contribuir para maior precisão diagnóstica da DA, tanto na fase demencial quanto na fase de CCL (Norma)” (Caramelli et al., 2011).

Exames laboratoriais

Os investigadores têm estudado a existência de alterações consistentes e mensuráveis de tau, A β ou outros biomarcadores observáveis na urina e níveis sanguíneos (“Alzheimer’s and Dementia Testing for Earlier Diagnosis,” 2017). Este grupo engloba os seguintes exames: hemograma completo, Cr, concentrações séricas de ureia, tiroxina livre, hormona tiroideia-estimulante (TSH), albumina, enzimas hepáticas, vitamina B12, cálcio, reacções sorológicas para sífilis e, em indivíduos com idade inferior a 60 anos, que manifestem apresentações clínicas atípicas ou sintomas sugestivos, sorologia para HIV. Estes exames têm sido realizados com intuito propedêutico de síndrome demencial, para que causas secundárias possam ser excluídas (Caramelli et al., 2011).

No caso de indivíduos com suspeita clínica de demência, a Academia Norte-Americana de Neurologia (AAN) recomenda a investigação de deficiência dos níveis de vitamina B12 e a existência de hipotiroidismo. A deficiência de vitamina B12 é comum nos idosos, conduzindo a um desempenho cognitivo ligeiramente inferior comparativamente com os indivíduos sãos. Deste modo, a avaliação dos seus níveis deve ser feita. No que diz respeito ao hipotiroidismo este também é comum na população idosa, tendo influencia na fala, habilidades visuo espaciais, apresentando ainda pontuações menores nos testes ao estado mental. Na maioria dos estudos os indivíduos que possuíam hipotiroidismo desenvolvem demência. Portanto, devido à sua frequência, o rastreio deve ser realizado em pacientes idosos (Knopman et al., 2001).

Tanto os biomarcadores de imagem como a medição no LCR de A β e t-tau funcionam bem, identificando a fisiopatologia da DA. Contudo, a imagem PET é bastante dispendiosa e de acesso restrito a centros especializados tornando-se uma ferramenta de diagnóstico de rotina improvável na avaliação de um número elevado de pacientes com sintomas cognitivos. Apesar da colheita de LCR ser considerada uma análise de rotina para benefício da neurologia clínica, e os seus custos sejam menores comparativamente com exames PET, a punção lombar pode ser considerada por muitos clínicos complicada, invasiva e demorada (Blennow, 2017), podendo originar potenciais efeitos colaterais, tornando-se difícil a análise contínua do paciente ao longo dos anos (Michael S. Ritsner, 2009).

Nos últimos trinta anos, o sangue tem sido considerado uma fonte potencial de biomarcadores para o diagnóstico de DA, possuindo também uma abordagem mais prática. A obtenção de amostras de sangue é superior, comparativamente com o LCR (Michael S. Ritsner, 2009). O sangue é eleito como escolha para a realização de análises de biomarcadores devido à sua facilidade de acesso, à sua constante renovação e às suas interações únicas com todos os outros tecidos no corpo. Para a análise bioquímica, o sangue é geralmente fracionado em plasma, soro, glóbulos vermelhos, plaquetas e células mononucleares do sangue periférico (Decourt & Sabbagh, 2011). Este fato torna os biomarcadores plasmáticos/séricos particularmente interessantes para a prática clínica e pesquisa. Outro ponto a salientar é a dispendiosidade do uso de ELISAs comerciais para o rastreamento de pacientes relativamente à proteína A β , t-tau e fosfo-tau, não sendo muitas vezes possível. Com isto, existe uma necessidade evidente de recorrer a biomarcadores presentes no sangue para diagnosticar DA (Michael S. Ritsner, 2009).

Um grande desafio presente no desenvolvimento de biomarcadores plasmáticos diz respeito à diminuição de concentrações no sangue comparativamente com o LCR de mecanismos moleculares na DA, refletidos através de proteínas específicas do cérebro. Exemplo disso é a diferença do nível de proteína tau neuronal no LCR, sendo cerca de 2-300 pg/ml, enquanto o seu nível plasmático é 100 vezes menor, cerca de 5 pg/mL. Níveis muito baixos devem ser quantificados dentro de uma matriz de outras proteínas (por exemplo, albumina e imunoglobulinas), uma vez que são 10 bilhões de vezes mais altas. A evolução tecnológica originou técnicas de medição ultra-sensíveis, como o método de redução imuno-magnético e de matriz única (Simoa), que permitem análises precisas de biomarcadores em amostras de sangue. A utilização destes métodos permitiu encontrar aumento dos níveis de tau no plasma em indivíduos com DA (Blennow, 2017). Um estudo recente sobre as grandes coortes ADNI e BIOFINDER confirmou um aumento de tau plasmático na demência DA.. Além disso, os dados longitudinais da análise de ADNI demonstraram associações significativas entre tau plasmático e a pioria da cognição, durante o seguimento. Estas análises permitiram demonstrar que o nível elevado de tau plasmático prediz uma taxa futura de declínio cognitivo, aumentos na atrofia cerebral medida através de IRM e reduções do metabolismo de glucose cortical examinado através FDG-PET (Mattsson et al., 2016). Estudos de ELISA demonstraram que imunoglobulinas de ALZAS estão presentes no plasma de indivíduos com DA, e estudos piloto de ELISA confirmaram que as ALZAS induzem auto-anticorpos específicos anti ct-12, sugerindo a indução de uma reação auto-imune. Além

disso, marcadores de stress oxidativo, como cistatina C, que se encontra aumentada no plasma, e catepsina D que se encontra diminuída, encontram-se alterados em pacientes com DA. O cobre livre pode correlacionar-se com o declínio cognitivo, sendo maior em indivíduos portadores de APOE₄. As colinesterases, acetilcolinaesterase e butiril-colesterase, não se encontram alteradas no plasma de pacientes com DA e CCL. Em suma, a análise de um único biomarcador presente no plasma não produz nenhuma informação nova para o diagnóstico de DA (Michael S. Ritsner, 2009). Apesar dos factos mencionados acima, um estudo promissor, envolvendo 18 biomarcadores, seleccionados no plasma poderá permitir o diagnóstico de DA. São esses fatores quimiocinas, citocinas, fatores de crescimento e proteínas de ligação envolvidos em inflamação, transmigração de células, proliferação, diferenciação, sobrevivência de células sanguíneas e neurónios, fatores angiogénéticos e fatores que regulam outras proteínas. Estes biomarcadores foram seleccionados entre 120 proteínas de sinalização por base de filtro ELISA sanduíche em rede, podendo diagnosticar CCL com uma precisão de aproximadamente 90% em pacientes que evoluíram para DA, dois a seis anos mais tarde. A análise biológica destes biomarcadores aponta para desregulação sistémica de hematopoiese, respostas imunes, apoptose e suporte neuronal na DA pré-sintomática (Ray et al., 2007). A Figura 13 contém os 18 biomarcadores de sinalização presentes plasma sanguíneo, referidos no estudo.

Figura 13- Biomarcadores potenciais putativos presentes no plasma

(Ray et al., 2007)

Biomarker	Change	Role in	Chromosome
Angiopoietin-2	↑	Angiogenesis	8
CCL5	↓	Inflammation	17
CCL7	↓	Inflammation	17
CCL15	↓	Inflammation	17
CCL18	↑	Inflammation	17
CXCL8	↑	Inflammation	4
Epidermal growth factor	↓	Proliferation	4
Granulocyte-colony stimulating factor	↓	PDS	17
Glial cell line-derived neurotrophic factor	↓	Survival	5
Intracellular cell adhesion molecule-1	↑	Transmigration	19
Insulin-like growth factor binding protein-6	↑	Control of IGFs	12
Interleukin-1 α	↓	Inflammation	2
Interleukin-3	↓	PDS	5
Interleukin-11	↑	Inflammation	19
Macrophage-colony stimulating factor	↓	PDS	1
Platelet-derived growth factor-BB	↓	Mitogenesis	22
Tumor necrosis factor- α	↓	Inflammation	6
TRAIL-R4	↑	Control of TRAIL	8

Relativamente aos biomarcadores presentes nas células sanguíneas, as plaquetas de pacientes com DA possuem aumento do nível de A β , aumento da ativação da β -secretase, diminuição da ativação da α -secretase e ainda diminuição da proporção de proteína amiloide-precursora (130 kDa / 110 kDa). É sugestivo de diagnóstico de DA o processamento da proteína do precursor amilóide nas plaquetas. A detecção de parâmetros nas células mononucleares do sangue periférico (CMSP) parece ser bastante promissora. Na DA existe um aumento significativo de glicogénio sintase quinase-3 nos glóbulos brancos comparativamente com indivíduos saudáveis. Estes níveis também aumentaram nos casos de CCL, concluindo assim que a glicogénio sintase quinase-3 poderá ser um parâmetro importante para o diagnóstico de CCL e DA. Da mesma forma, indivíduos com CCL, em culturas de CMSP estimuladas com fitohemaglutinina, possuem uma secreção bastante aumentada de interleucina-6 em comparação com controlos após 24h. Contudo, os pacientes com DA não diferiram dos controlos (Michael S. Ritsner, 2009).

No que diz respeito a diferentes citocinas (interleucinas-12, -16, -18 e fator de crescimento transformante β 1), estas possuem um aumento significativo no plasma de indivíduos com DA e demência vascular, confirmando o processo inflamatório da doença. Na via inflamatória, existe um aumento significativo da percentagem de

monócitos, produzindo diferentes citocinas (interleucinas-1, -6, -12 e fator de necrose tumoral) em condições basais e após exposição a estímulos inflamatórios. Estas células responderam diferencialmente a desafios inflamatórios comparativamente com os controles. Uma produção espontânea maior de interleucina-1 ou fator de necrose tumoral α por CMSPs está associada ao risco de incidente de DA (Michael S. Ritsner, 2009).

A degradação de proteínas através do sistema ubiquitina-proteassoma é um mecanismo celular essencial, ajudando na pesquisa em envelhecimento, uma vez que sua atividade diminui durante o processo de envelhecimento. Com a progressão do envelhecimento celular, a atividade defeituosa do sistema proteolítico principal conduz à sobrecarga do proteassoma e à acumulação intracelular de produtos proteicos danificados e desdobrados. As proteínas dobradas geralmente agregam-se e acumulam-se nas células. Os agregados de proteína ubiquitinados insolúveis são características patológicas da DA, presentes particularmente em placas neuríticas e emaranhados neurofibrilares. O fracasso da função da via ubiquitina-proteassoma tem sido associado à toxicidade A β . Os níveis de ubiquitina aumentam muitas vezes no córtex cerebral, estando correlacionado com o grau de alterações neurofibrilares presentes no tecido. Além disso, os níveis de ubiquitina também aumentam no LCR de pacientes com DA. Uma deleção de dinucleótidos no mRNA de ubiquitina B humana leva à formação de poliubiquitina, estando implicada na morte de células neuronais na DA e outras doenças neurodegenerativas. Com isto, torna-se importante analisar dos níveis de ubiquitina e linfócitos nas CMSP (Michael S. Ritsner, 2009).

A senescência celular é um fenômeno de resposta ao stress, resultando numa retirada permanente do ciclo celular e surgimento de mudanças morfológicas e funcionais distintas, como o encurtamento de telômeros. O encurtamento do telômero observa-se em glóbulos brancos, sendo que este foi associado a glóbulos brancos periféricos na demência vascular. Recentemente, verificou-se que os fibroblastos esporádicos de pacientes com DA expressam especificamente um estado conformacional anômalo e detetável do marcador senescente p53 (p53 mutante), permitindo assim diferenciá-los de fibroblastos de indivíduos não DA. Curiosamente, o mesmo grupo mostrou que as células sanguíneas mononucleares de pacientes com DA expressam uma maior quantidade de p53 mutante (Michael S. Ritsner, 2009).

Electroencefalograma (EEG) e potenciais evocados

A análise visual de rotina através de EEG é utilizada como meio auxiliar de diagnóstico diferencial em caso de demência, incluindo distinção entre síndrome demencial, queixas cognitivas e transtornos psiquiátricos. Esta pode ainda ser aplicada como auxiliar de diagnóstico na DCJ, sugerir a possibilidade de transtorno tóxico-metabólico ou de amnésia transitória por epilepsia (Caramelli et al., 2011).

Caso exista suspeita de demência, a lentificação da atividade elétrica cerebral sugere a existência de doença orgânica, ao contrário de casos depressivos e ansiedade (Nitrini et al., 2005). Na DA os achados mais comuns caracterizam-se por lentificação da frequência de fundo, com aumento das bandas delta (δ) e teta (θ), e pela diminuição ou inexistência de frequência das bandas alfa (α). Assim sendo, a análise da frequência constitui uma ferramenta útil, uma vez que melhora a detecção de ondas lentas. No caso da DA, permite a detecção do aumento de ondas θ e a diminuição de ondas α e β , comparativamente com indivíduos saudáveis, assim como uma frequência média menor são características eletroencefalográficas presentes nestes indivíduos. Contudo, existem situações (cerca de 14% dos casos) em que o EEG pode ser normal no início da doença (Frota & Nitrini, 2011).

Esta análise possui ainda valor preditivo relativamente ao desenvolvimento de comprometimento cognitivo, independentemente dos parâmetros clínicos. Para além das características mencionadas anteriormente, existe uma forte correlação entre EEG e as funções cognitivas quantificadas por escalas específicas de avaliação. Contudo, estas alterações observadas ocorrem usualmente em estágios moderados e avançados da DA. Existe correlação inversa entre o grau de comprometimento cognitivo e a potência da atividade eléctrica de frequências mais altas, α e β no EEG. O EEG, apenas com anormalidades difusas, associa-se mais frequentemente à DA, comparativamente com EEG com alterações difusas e focais, podendo sugerir DA ou outras formas de demência (Caramelli et al., 2011). A análise quantitativa do EEG aplica-se em casos de diagnóstico e avaliação evolutiva, destinadas a fases iniciais ou intermediárias de demências, em casos em que os dados clínicos não sejam conclusivos (Frota & Nitrini, 2011).

De acordo com a revisão feita por Carmelli et al., desde os primeiros estudos quantitativos de EEG foram aplicadas análises espectrais e estatísticas ao método. O ritmo da atividade de α poderia tratar-se de um marcador de diagnóstico, uma vez que

ocorre diminuição da frequência de α de 6,0Hz para 8,0Hz, em indivíduos com DA leve. A sua sensibilidade varia entre 71% a 81% em vários estudos e apresenta correlação significativa com testes neuro psicológicos (Caramelli et al., 2011).

O EEG também possui como função a realização de análise de coerência (Coh). Esta avalia o nível de covariância entre as medidas espectrais obtidas por um par de eléctrodos. A alta Coh tem sido considerada como evidência de ligações estruturais e funcionais entre áreas corticais. É recomendado o uso combinado de tais parâmetros do EEG e instrumentos de avaliação cognitiva, de modo a melhorar a detecção de demência (Caramelli et al., 2011).

Relativamente aos potenciais evocados, o retardo na latência de P300 é considerado o parâmetro mais sensível para o diagnóstico eletrofisiológico de demência e alterações cognitivas. Contudo, a grande variação interindividual limita sua confiabilidade diagnóstica em estágios iniciais de DA, uma vez que esta pode ocorrer também em depressão, esquizofrenia e em outras demências (Caramelli et al., 2011; Nitrini et al., 2005).

A realização de EEG segue as seguintes recomendações: “1- O EEG de rotina tem uso estabelecido como método auxiliar no diagnóstico diferencial de síndrome demencial em relação a outras condições que interferem no funcionamento cognitivo, como epilepsia, encefalopatias tóxico-metabólicas e infecciosas (Padrão). 2- O EEG tem importante valor diagnóstico na doença de DCJ (Padrão). O EEG não contribui para o diagnóstico precoce da DA (Padrão). 3- Potenciais evocados relacionados a eventos (P300, N400) são recomendados apenas para pesquisa” (Caramelli et al., 2011).

Testes genéticos e risco de Alzheimer

Os cientistas identificaram três genes com variações raras que causam a DA e vários genes que aumentam o risco de desenvolvimento da mesma. Contudo, estes não garantem o desenvolvimento da doença. Atualmente, ocorrem pesquisas em todo o mundo com o objectivo de encontrar genes de risco adicionais. Com o desenvolvimento de tratamentos mais efetivos, o perfil genético pode tornar-se uma mais-valia para a avaliação de risco (“Alzheimer’s and Dementia Testing for Earlier Diagnosis,” 2017).

Os três genes envolvidos são denominados de APP, PSEN1 PSEN2. As mutações presentes no gene da APP (cromossoma 21) são responsáveis por menos de

5% dos casos de DA familiar. A maioria dos casos de DA familiar são provocados por mutações na PSEN1, sendo as mutações PSEN2 as mais raras (Caramelli et al., 2011).

O acompanhamento de portadores do alelo $\epsilon 4$ do gene APOE sugere evidências de disfunção sináptica precoce (indivíduos jovens e de meia idade) observada através de estudos de neuroimagem funcional. A presença deste alelo (indivíduo heterozigótico) triplica o risco de desenvolver DA, e indivíduos portadores homozigotos para este alelo possuem 12 vezes mais hipóteses de desenvolver DA, comparativamente com indivíduos homozigóticos para alelo $\epsilon 3$ (Caramelli et al., 2011).

Os testes preditivos classificam indivíduos em risco de desenvolver a DA em três grupos. O primeiro grupo inclui indivíduos que são homozigotos APOE $\epsilon 4$ com alto risco de desenvolver a DA. Esse risco é modulado por outros genes e os polimorfismos do promotor APOE. O segundo grupo inclui indivíduos heterozigotos para APOE $\epsilon 4$ com risco modesto de desenvolver a DA. Para este grupo, o risco preciso é modulado por outros alelos APOE ($\epsilon 2$ sendo menos arriscado do que $\epsilon 3$) e pelos polimorfismos do promotor APOE, bem como por outros exames de estudo de associação genômica. O terceiro grupo inclui indivíduos que não sejam portadores de nenhum alelo $\epsilon 4$ e, portanto, possuem baixo risco de desenvolver a doença. Espera-se que o uso complementar desses testes genéticos ajude na identificação de indivíduos com CCL que mais tarde desenvolveram DA (Hampel et al., 2010). Portanto, indivíduos com CCL de início precoce e a presença de mutações nos genes APP, PSEN1 ou PSEN2, na sua maioria, desenvolvem DA, assim como indivíduos de “*late-onset*” que apresentam um ou dois alelos $\epsilon 4$ da APOE (Caramelli et al., 2011).

O teste genético para APOE- $\epsilon 4$, está incluído em alguns ensaios clínicos, com o propósito de identificar os participantes com alto risco para a doença. Atualmente, este teste não é recomendado fora das configurações de pesquisa, uma vez que ainda não existem tratamentos disponíveis que mudem o curso da DA (“Alzheimer’s and Dementia Testing for Earlier Diagnosis,” 2017). O exame de sangue a APOE- $\epsilon 4$ só deve ser realizado após discussão com o médico ou conselheiro genético (“Tests for Alzheimer’s Disease and Dementia,” 2017). A presença deste alelo não é suficientemente específica para que seja incluído nos novos critérios para DA provável com alto índice de certeza (Sperling et al., 2012). Em futuros estudos de biomarcadores pré-mórbidos potenciais para DA, a inclusão da genotipagem de APOE é indicada para aumentar a precisão diagnóstica (Caramelli et al., 2011).

Os exames ao sangue podem fornecer informações sobre mutações genéticas que causam a doença (W Small et al., 2009). Encontram-se disponíveis testes para indivíduos assintomáticos com risco para DA de início precoce por mutações APP, PSEN1 e PSEN2. Estes testes não devem ser realizados na infância e devem ser precedidos de aconselhamento genético cuidadoso e extenso. A monitorização destes indivíduos, deve ser implementada (Caramelli et al., 2011). A história familiar pode ser um melhor preditor de risco de DA, uma vez que familiares em primeiro grau de um único indivíduo com DA apresentam cerca de 20-25% mais hipótese de desenvolver a doença durante a sua vida, comparativamente com indivíduos sem história familiar (apresentando estes cerca de 10%) (Bird, 2008). O teste também se encontra disponível para genes que causam DA autossómica dominante ou "Alzheimer familiar", uma forma rara de DA que representa 1% de todos os casos ("Tests for Alzheimer's Disease and Dementia," 2017), estes são feitos de acordo com o protocolo de Huntington (Hampel et al., 2010).

Esta análise segue as seguintes recomendações: *"1- A genotipagem da APOE não é recomendada para finalidade diagnóstica em pacientes com DA, nem como fator preditivo de desenvolvimento da doença em indivíduos assintomáticos ou com CCL na prática clínica (Padrão). O mesmo é válido para outros polimorfismos de suscetibilidade descritos até o momento (Padrão). 2- A investigação das mutações da APP, PSEN1 e PSEN 2, quando disponível, é recomendada em casos de DA com história familiar compatível com herança autossómica dominante (Padrão). 3- A investigação das mutações da APP, PSEN1 e PSEN 2, quando disponível, em indivíduo assintomático com familiares com diagnóstico genético confirmado de DA só deve ser indicada após extenso aconselhamento genético e com o pleno consentimento do mesmo (Opção Prática)"* (Caramelli et al., 2011).

Em estudos recentes, que utilizam exames integrais ao genoma, identificaram APOJ e receptor de complemento 1 (CR1) como loci de risco, sugerindo que estas proteínas podem ser biomarcadores úteis para a DA. Estes resultados sugerem também que a cascata do complemento, de onde APOJ e CR1 fazem parte, deve ser investigada (Hampel et al., 2010). Através da identificação de variantes de risco relativamente comuns, como APOJ, CR1 e PICALM (proteína de montagem de clatrina de fosfatidilinositol e proteína de montagem de clatrina) e da identificação individual posterior de variantes raras de risco elevado, poderá ser possível a construção de um

algoritmo preditivo de risco de DA para indivíduos assintomáticos. Embora melhore consideravelmente, é improvável que este algoritmo seja acessível a um número grande de populações (Hampel et al., 2010).

Pesquisas de polimorfismos de um único nucleótido, realizadas em todo o genoma, são usados com o objetivo de caracterizar e confirmar genes de suscetibilidade adicionais. Variantes hereditárias no gene do recetor de classificação neuronal SORL1 têm sido associadas à DA de “*late-onset*”. Embora a pesquisa futura possa determinar um perfil genético que auxilie no diagnóstico, o grande número de potenciais riscos genéticos representa um grande desafio (W Small et al., 2009).

VII - Novas abordagens do diagnóstico da doença de Alzheimer

Detecção de Neurogranina

Embora existam biomarcadores de LCR bem validados para a neurodegeneração, bem como de patologia (em placas e emaranhados), não existe um teste de biomarcador estabelecido ou validado para disfunção ou degeneração sináptica, sendo esta uma característica fisiopatológica fundamental na DA. A degeneração e perda sináptica é um dos melhores correlatos pato-anatômicos dos défices cognitivos na DA, prevendo melhor a patologia comparativamente com a deposição de placa A β . Foram propostos vários mecanismos patogénicos como potencial causa de disfunção sináptica, com perda de coluna dendrítica na DA, incluindo fibrilhas A β , oligómeros de A β difusíveis, acumulação intracelular de A β e ainda hiperfosforilação de tau e ativação da microglia (Blennow, 2017).

A neurogranina (Ng) é altamente expressa nas regiões cerebrais afetadas na DA, isto é, córtex cerebral, hipocampo e amígdala, sendo quase ausente no tálamo, cerebelo, tronco encefálico e medula espinhal (Repress & Christophe, 1990). Esta proteína sináptica é expressa principalmente em neurónios excitatórios, concentrando-se nos dendritos distais e espinhas dendríticas, onde regula a disponibilidade de calmodulina, desempenhando um papel importante na regulação da sinalização óptica, indução de potenciação e consolidação de memória a longo prazo (To et al., 2016), e ainda um papel na plasticidade sináptica. A expressão de Ng no cérebro de um indivíduo saudável é mais elevada nas áreas corticais associativas, comparativamente com um indivíduo com DA. Em indivíduos com DA, os níveis de Ng encontram-se mais elevados no córtex e no hipocampo, refletindo deste modo a perda sináptica. Os seus níveis de concentração refletem o grau de degeneração e disfunção sináptica. Deste modo a medição de Ng no LCR poderá constituir um biomarcador que reflita instabilidade dendrítica, degeneração, servindo assim de ligação direta aos sintomas clínicos da DA (Blennow, 2017).

Um estudo-piloto com imunoprecipitação combinada com transferência de Western Blot, avaliou a presença de Ng no LCR como um biomarcador de DA, demonstrando o seu aumento acentuado na DA, comparativamente com os controlos (Thorsell et al., 2010). Após o desenvolvimento de novos anticorpos monoclonais para medir Ng por ELISA, verificou-se níveis elevados de Ng no LCR, prevendo DA prodrómica em CCL. Este estudo concluiu que a Ng possui potencial como biomarcador

diagnóstico e prognóstico na DA, refletindo degeneração sináptica. Assim, Ng pode tornar-se um biomarcador altamente relevante, além dos estabelecidos, para incluir em ensaios clínicos de fármacos modificadores da doença candidatos contra a DA, ou como um biomarcador de prognóstico na prática clínica (Andersson et al., 2014).

De acordo com Kaj Blennow, a Ng elevada no LCR em DA e no estágio prodromático da DA foi confirmada em vários trabalhos subsequentes, inclusive no estudo ADNI (Blennow, 2017). De acordo com este estudo, as suas concentrações aumentadas encontram-se correlacionadas com uma maior taxa de deterioração cognitiva, diminuição do metabolismo da glucose e maiores taxas de atrofia do hipocampo. Este propõe que os níveis de Ng no LCR sejam uma medida independente da integridade sináptica, que anteriormente era difícil de avaliar em pacientes vivos. A alta concentração de Ng no LCR correlaciona-se também com o aumento futuro da taxa de atrofia no hipocampo, observada através de IRM, e taxa de reduções metabólicas observadas por FDG-PET (To et al., 2016). Um estudo do ano 2016 sugere que a presença elevada de Ng no LCR pode ser específica para DA, não estando presente em outras patologias neurodegenerativas, nomeadamente DFT, DCL, doença de Parkinson, paralisia supra nuclear progressiva e atrofia do sistema múltiplo (Wellington et al., 2016).

A caracterização da espectrometria de massa da Ng no LCR sugere a existência de uma série de péptidos C-terminais no LCR (Andersson et al., 2014). Um estudo usando um imunoensaio baseado na combinação de anticorpos de Ng N-C-terminal em formato sanduíche, medindo a Ng de comprimento total, encontrou níveis elevados desta no LCR, em indivíduos com DA e CCL, comparativamente com os controlos (Kester et al., 2015). São então necessários mais estudos sobre a forma como a Ng é processada antes de ser liberada no LCR, incluindo estudos que comparem o potencial de diagnóstico de péptidos de Ng de comprimento total versus C-terminal (Blennow, 2017).

Pesquisa de proteína dos neurofilamentos leve (PNL)

São necessários métodos altamente sensíveis para detetar biomarcadores solúveis para danos neuroaxonais em doenças neurodegenerativas. Os neurofilamentos (NF) são proteínas estruturais altamente específicas dos neurónios, constituídas maioritariamente de três subunidades de NF: neurofilamento leve, NF médio e cadeias NF pesadas (Teunissen & Khalil, 2012).

A interrupção da membrana axonal liberta NF para o fluido intersticial, eventualmente para o LCR e sangue. Portanto, os níveis de NF no sangue podem ser úteis tanto para prever e monitorizar o progresso da doença como para avaliar a eficácia e toxicidade de futuras estratégias de tratamento neuro protetoras. Contudo, a obtenção de amostras de LCR é relativamente invasiva, impedindo o uso clínico mais amplo de NF. Em contraste, as amostras de sangue podem ser facilmente obtidas. Com isto, a quantificação confiável de NF no sangue seria um grande passo para um biomarcador do curso de neurodegeneração (Kuhle et al., 2016).

Enquanto os níveis de tau no plasma e no LCR possuem uma correlação baixa (Mattsson et al., 2016), a correlação da PNL no plasma e no LCR é maior, incluindo um aumento paralelo em ambos, na presença de lesão neuronal em curso, em pacientes infectados pelo HIV (Gisslén et al., 2015). A PNL pode ser medida no sangue (soro ou plasma) através de um imunoensaio desenvolvido na plataforma Simoa. O teste de Simoa possui uma sensibilidade analítica de 25 a 125 vezes superior, comparativamente quando os mesmos anticorpos anti-PNL são usados em imunoensaios baseados na eletroquimioluminescência (ECL), Diagnóstico Meso Scale (DMS) ou padrão ELISA (Kuhle et al., 2016). Isto significa que a PNL pode ser medida em amostras de sangue de indivíduos normais, que se encontrem abaixo do nível para quantificação precisa ao usar métodos ECL-MSD ou ELISA (Blennow, 2017). O ELISA comercialmente disponível usa dois anticorpos monoclonais altamente competitivos e não competitivos (mAB47: 3 e mAB2: 1) quantificando PNL solúvel, contudo este ensaio não é recomendado para medições sanguíneas pelo produtor (Rosengren & Stigbrand, 2002). A ECL é conhecida pela sua alta sensibilidade, exibe um amplo alcance dinâmico e requer pequeno volume de amostra (Gaiottino et al., 2013).

Usando o teste de Simoa, um estudo recente sobre o grande coorte ADNI, mostrou um aumento acentuado na PNL plasmática em pacientes com DA e CCL, comparativamente com controlos, possuindo um desempenho diagnóstico comparável aos biomarcadores de DA no LCR. Além disso, a PNL plasmática revelou-se mais elevada em casos de DA e CCL, com scans PET positivos, correlacionando-se com uma menor cognição e maior taxa de atrofia cerebral futura, medida por IRM e hipometabolismo, conforme medido por FDG-PET (Mattsson Niklas; Andreasson Ulf; Zetterberg Henrik; Blennow Kaj, 2017). No entanto, níveis elevados de PNL também estão presentes em outras doenças neurodegenerativas, como DFT e plasia progressiva

supranuclear (Rohrer et al., 2016; Rojas et al., 2016). Num cenário de ensaio clínico, é possível que a PNL plasmática seja utilizada, juntamente com dados demográficos e genótipos de APOE $\epsilon 4$, para prever a progressão longitudinal da doença. Esta pode tornar-se uma ferramenta valiosa não invasiva, avaliando a neurodegeneração e identificando indivíduos em risco de declínio cognitivo futuro e atrofia cerebral (Mattsson Niklas; Andreasson Ulf; Zetterberg Henrik; Blennow Kaj, 2017).

Futuramente, uma possível aplicação da PNL e tau plasmática estará na avaliação clínica de pacientes com distúrbios cognitivos. Neste caso, tanto tau plasmática como PNL poderão servir de ferramentas de triagem simples, não invasivas e baratas, que permitam identificar ou excluir a neurodegeneração. Porém, são necessários futuros grandes estudos longitudinais de modo a determinar o coorte da positividade, sensibilidade e especificidade de modo a identificar DA (Blennow, 2017).

Pesquisa de BACE1

O processo pelo qual a proteína A β é gerada designa-se de amiloidogénese, resultando da proteólise sucessiva da APP por enzimas com actividade β -secretase e γ -secretase (Brouwers, Sleegers, & Broeckhoven, 2008). Posto isto, vários grupos identificaram a BACE1 como uma β -secretase de extrema importância. A realização de estudos em ratinhos transgénicos sugeriu que esta β -secretase pode ser a principal responsável pela formação de placas no cérebro, embora possam estar envolvidas outras proteases (BACE2) e catepsinas. A BACE1 encontra-se não só no cérebro como na maioria dos tecidos do corpo, surgindo a possibilidade desta proteína poder ser utilizada como biomarcador na DA (Decourt & Sabbagh, 2011).

Para que BACE1 tenha utilidade como biomarcador é necessário que esta possua sensibilidade e especificidade elevadas. As alterações a nível desta β -secretase são examinadas através do método Western blot, contudo não existe consenso sobre qual o anticorpo específico e sensível a utilizar. Estes anticorpos reconhecem várias isoformas e/ou regiões de BACE1, conduzindo a diferentes perfis de migração, o que impede a comparação direta de resultados obtidos de diferentes laboratórios. O cérebro tem sido amplamente estudado e comparando com tecidos periféricos, conduzindo ao estudo futuro de vários anticorpos de modo a identificar quais os anticorpos que são extremamente específicos e sensíveis para BACE1 nos múltiplos tecidos, a fim de padronizar os resultados obtidos entre laboratórios. Este facto poderia resultar no

desenvolvimento de novos imunoenaios, como ELISA, que funcionam de forma confiável e sensível em múltiplos tecidos (Decourt & Sabbagh, 2011).

Existem poucos kits disponíveis no mercado, tornando a escolha do tecido limitada, e os registos de publicação são muito raros. Posto isto, é necessário o desenvolvimento de ferramentas melhoradas antes de determinar com precisão os níveis de BACE1 nos diversos tecidos e de avaliar o nível de alterações em situações patológicas (Decourt & Sabbagh, 2011).

A atividade de uma enzima pode ser alterada através de modificações pós-tradução, no entanto existe pouca informação disponível sobre as modificações submetidas a BACE1 e se estas afetam os seus níveis absolutos nas células. Contrariando este facto, diversos grupos realizaram a medição direta da atividade de BACE1 nos fluidos corporais, bem como em tecidos celulares e lisados de células cultivadas. Contudo, estas análises bioquímicas dependem frequentemente de substratos fluorogénicos APP^{swe} (mutação sueca) e de outros sítios- β de clivagem de APP modificados, que fazem uma má distinção de BACE1 de outras enzimas de β -secretase, como BACE2, catepsina D e E, *in vitro* (Andrau et al., 2003; Grüninger-leitch et al., 2002). Contudo, até à data, não se sabe quanto destes valores medidos pertence ao resultado da atividade de BACE1 (vs. outras β -secretases). Este facto levou a que alguns kits de análise de atividade BACE1 fossem retirados do mercado ou que a sua aplicação fosse alterada a partir de medidas de lisado de tecido, para testar inibidores de BACE1 *in vitro*. Além disso, pouco se sabe sobre possíveis co-fatores que tenham influencia na atividade BACE1 e β -secretases (Decourt & Sabbagh, 2011).

O desenvolvimento de inibidores BACE1 não peptídicos extremamente específicos pode bloquear a atividade enzimática em amostras complexas, como lisados cerebrais, resultando numa medida mais específica da atividade de BACE1. Contudo, a estrutura complexa de BACE1 dificulta a descoberta de compostos com alta afinidade que possam competir com substratos celulares (Klaver et al., 2010; Silvestri, 2008).

A pesquisa inicial de atividade e níveis de BACE1 focou-se no córtex e no hipocampo de cérebros humanos pós-mortem. Estas investigações revelaram um aumento aproximadamente de 30% nos níveis e atividade BACE1, em indivíduos DA, comparativamente com indivíduos não dementes. Contudo, os valores absolutos diferiram entre os centros de estudo, devido ao tempo decorrido entre a morte do individuo e a realização das autópsias, bem como o método de análise utilizado. Não foi

publicado nenhum dado relativamente aos níveis cerebrais BACE1 para pacientes que sofrem CCL (Decourt & Sabbagh, 2011).

In vitro, BACE1 demonstrou resultar de neurónios in vitro. Posto isto, pode-se antecipar um processo semelhante a ocorrer in vivo. Consequentemente, o LCR parece óptimo para avaliar com precisão o BACE1, uma vez que o LCR enche os espaços intercelulares em todo o SNC (Decourt & Sabbagh, 2011). Até à data, apenas um estudo mediu os níveis de BACE1 no LCR, tanto por Western blot como por ELISA, demonstrando níveis significativos em indivíduos CCL versus DA e não dementes, onde ambos tiveram valores semelhantes (Zhong et al., 2007). Os níveis elevados de BACE1 no LCR, correlacionam-se com o aumento da atividade β -secretase, podendo refletir uma sobreprodução de BACE1 por neurónios stressados e/ou células gliais, na condição de CCL que, em seguida, diminui devido a morte das células durante a progressão para DA (Okonkwo et al., 2010). Estes resultados exigem confirmação de outros centros de estudo (Zhong et al., 2007).

Além dos níveis de BACE1, a atividade de β -secretases foi avaliada no LCR em estudos transversais, contudo os resultados são divergentes. Por um lado, vários centros de estudos observaram um pequeno aumento da sua atividade em pacientes com DA e CLL, comparativamente com indivíduos de não dementes (Decourt & Sabbagh, 2011). Contudo, outros estudos relataram uma diminuição desta atividade em pacientes com DA, ajustados pela idade (Wu et al., 2008). Um estudo demonstrou o aumento desta atividade, não só em indivíduos com DA, como em pacientes que sofrem de DCJ (Holsinger RM, Lee JS, Boyd A, Masters CL, 2006). Este facto pressupõe que ambas as doenças compartilham mecanismos e características patológicas, ou então, o ensaio utilizado não discriminou BACE1 de outras β -secretases (Decourt & Sabbagh, 2011).

A relação entre aumento da atividade e níveis de BACE1, e envelhecimento normal ainda não se encontra clara. Recentemente, demonstrou-se que a atividade da β -secretase aumenta com a idade nos humanos, macacos e ratos, enquanto os níveis de proteína BACE1 permanecem inalterados. Dada a importância de BACE1 na amiloidogénese, o próximo passo será obter mais informações relativamente à expressão e atividade BACE1 no cérebro humano durante o envelhecimento e ainda, explorar se existe aumento dos níveis de BACE1 em pacientes com CCL e outras neuropatologias. Embora o cérebro (córtex) seja o melhor tecido para estudar este biomarcador, a análise em grande escala é limitada pelo custo, recurso a pessoal médico especializado e perigo associados a biópsias em indivíduos vivos. Portanto, tecidos

onde a recolha de amostras seja de fácil obtenção devem ser estudados em primeiro lugar. Os dados sobre a deteção de BACE1 no plasma e sua possível ligação a outras proteínas circulantes são escassos. A questão de saber se a maioria do BACE1 é originária de células sanguíneas ou de outros tecidos (coração, fígado, pâncreas, músculo, etc.) permanece inexplorada (Decourt & Sabbagh, 2011).

Os níveis plasmáticos de A β variam com os ritmos circadianos devido à liberação pós-prandial de insulina, competindo diretamente pela IDE (Oh, Troncoso, & Fangmark, 2008). Continua a ser estudada a possibilidade destas variações ocorrerem também em BACE1. A expressão de BACE1 em plaquetas e células mononucleares do sangue periférico tem sido objeto de algumas investigações. Foram encontradas poucas quantidades de mRNA de BACE1 em plaquetas e células mononucleares do sangue periférico, comparativamente com o cérebro. Contudo, nenhum estudo tentou identificar alteração nos níveis de mRNA de BACE1 entre indivíduos com DA e não dementes, em plaquetas e células mononucleares do sangue periférico. Da mesma forma, nenhum trabalho foi realizado sobre a actividade e níveis de BACE1 nos glóbulos vermelhos (Decourt & Sabbagh, 2011).

Observou-se um aumento da actividade de β -secretase em plaquetas, em pacientes com CCL e DA. Se esses resultados forem confirmados, a β -secretase das plaquetas pode tornar-se um biomarcador de escolha para DA. Mais uma vez, é necessária uma análise mais aprofundada de modo a determinar se a actividade de β -secretases em plaquetas é resultado de BACE1 ou de outras β -secretases (Decourt & Sabbagh, 2011).

O desenvolvimento de substratos e inibidores BACE1 muito específicos melhoraria e simplificaria as medidas da actividade BACE1 em fluidos corporais e lisados de tecido em grande escala. Torna-se então necessária uma melhor caracterização bioquímica, de modo a entender completamente a regulação da actividade BACE1 e eventualmente identificar substratos mais específicos. Na disponibilidade de ferramentas, poder-se-á determinar se as alterações em BACE1 ocorrem em condições fisiológicas e patológicas em diferentes tecidos, durante a progressão da DA, podendo ser usada posteriormente no prognóstico e diagnóstico da doença. Além disso, dado seu papel primário na amiloidogénese, pode considerar-se a medição dos seus níveis e actividade periféricos, após a administração de inibidores de BACE1,

concomitantemente com A β e tau no LCR, de modo a avaliar a eficácia de tais compostos in vivo para o tratamento de DA (Decourt & Sabbagh, 2011).

The Handbook of Biomarkers 2017

De acordo com a nova versão do livro *The Handbook of Biomarkers*, existem novos biomarcadores presentes no LCR e no soro de indivíduos com DA. A Figura 14 contém os biomarcadores atualmente presentes no sangue e no LCR destes indivíduos (Jain, 2017).

Estes achados poderão futuramente ter um peso significativo na diferenciação da patologia de Alzheimer, no seguimento de novos tratamentos e ainda na identificação de novas terapêuticas (Jain, 2017).

Figura 14- Biomarcadores presentes no LCR e no sangue na DA (Jain, 2017)

Pathophysiology	Biomarkers in CSF		Biomarkers in blood	
Indicators of inflammatory process	α -ACT (antichymotrypsin)	+	α -ACT	+
	Gp130	=	CD11b	+
	Hp (haptoglobin)	=	Hp	=
	Hp fragments	+	Hp 2-1	+
	IL (interleukin)-1 β	+	IL-1 β	+
	IL-1 β receptor	+	IL-6	+
	IL-6	+	IL-6 receptor	-
	IL-6 receptor	=	TNF- α	+
	TNF (tumor necrosis factor)- α	+		
	TNF- α receptor	=		
Indicators of oxidative stress	8-hydroxy-2'-deoxyguanosine	+	8-12-iso-iPF2 α -VI	+
	F2-isoprostanes	+	F2-isoprostanes	=
	Neuroprostanes	+		
	3-nitrotyrosine	+		
Vitamins	Vitamin C	=	Homocysteine	+/=
	Vitamin E	-	Vitamin B6	-
			Vitamin B12	-/=
			Folic acid	-
			Vitamin A	-
			Vitamin C	-
Proteins and peptides	A β	-	A β	+
	ACAT-1 in blood mononuclear cells	+	APP ratio in platelets	+
	β 2 microglobulin	+	ALZAS (Alzheimer Associated)	+
	CystatinC	+	GFAP-antibodies	+
	Hyperphosphorylated tau	+	Glutamine synthetase	+
	Combination tau with A β ₁₋₄₂ /A β ₁₋₄₀ ratio	+	Glycogen synthase kinase-3	+
	GFAP (glial fibrillary acidic protein)	+	Hemeoxygenase 1	-
	GFAP-antibodies	+	IRP(iron regulating protein) -2	?
	Laminin	+	Protein kinase C	*
	N(epsilon)(gamma-glutamyl) lysine isodi-peptide	+		
	Neurosin	-		
	p-Tau	+	p-Tau	+
	VEGF (vascular endothelial growth factor)	-		
	Cholesterol and disturbance of lipid metabolism	Cholesterol	+	Cholesterol
Sulfatide		-		

© Jain PharmaBiotech
 + Increased levels in AD patients compared to controls
 - Decreased levels in AD patients compared to controls
 = No difference in AD patients compared to controls
 * Conformational change
 ? Uncertain

VIII -Conclusão

Com o progresso da ciência e da tecnologia os critérios de classificação sofreram um aperfeiçoamento ao longo dos anos. Contudo, ainda existe um longo percurso a percorrer até que se atinja um consenso relativamente ao critério mais adequado a utilizar.

Derivada à complexidade da DA, as classificações CID-10 e DSM-5 são demasiado simples para serem utilizadas no seu diagnóstico. As suas classificações categóricas, definindo a presença ou ausência de doença, tornam-se demasiado ajustadas ao paradigma cognitivo, excluindo sintomas psiquiátricos comuns da doença. Estas classificações, ao não exigirem realização de testes neuro psicológicos que completem o diagnóstico da doença, podem dar origem a potenciais falsos positivos.

Os critérios de diagnóstico de Dubois e NIA-AA superaram os critérios NINCDS-ADRDA, relativamente à junção inseparável da patologia neuronal e clínica da demência. O aspecto de maior relevância é a consideração da patologia de Alzheimer como um processo nosológico, dando origem à continuidade das fases assintomáticas até ao desenvolvimento do quadro clínico de demência completamente caracterizado. Assim, todos estágios, assintomáticos, oligoassintomáticos e plurisintomáticos, constituem o mesmo processo patológico. A utilização de biomarcadores permite que haja um diagnóstico em fases assintomáticas. Ambos os critérios apresentam um avanço importante na conceituação da doença e pesquisa de um diagnóstico precoce da mesma. O grupo de Dubois et al., faz apenas referência à DA. A avaliação de défice de memória característico da doença e o suporte dos biomarcadores definem o transtorno. Portanto, na ausência de biomarcadores positivos para a DA, a mesma não pode ser diagnosticada, não sendo o termo CCL devido à DA aplicável.

De acordo com os critérios NIA-AA, a importância do uso dos biomarcadores é mais limitada, devido à sua difícil disponibilidade. Esta abordagem permite a possibilidade de alcançar um diagnóstico em qualquer contexto clínico, desde a atenção básica aos centros mais especializados, mesmo correndo o risco de ocorrer uma menor taxa de falsos positivos que implique a utilização de biomarcadores. Estes critérios são os únicos que incluem como possíveis critérios de diagnóstico sintomas psicológicos e comportamentais de demência, o que constitui um importante passo na área.

Os critérios presentes em DSM-5 e NIA-AA fazem referência ao declínio da capacidade de independência do indivíduo e à interferência ocorrida na capacidade de

desenvolver atividades diárias, o que não acontece segundo os critérios de Dubois. Contudo, não é sugerida a maneira correta de as avaliar, tornando-se uma situação complexa e sujeita a uma grande variabilidade, uma vez que o nível funcional para indivíduos idosos é muito diferente em diferentes campos socioeconômicos e culturais. Posto isto, este tópico deve ser melhorado e as suas melhorias devem ser incorporadas em futuras edições de critérios de diagnóstico.

A análise patológica do tecido cerebral obtido através de autópsia é considerado “padrão-ouro” para estabelecer sensibilidade, especificidade e precisão dos biomarcadores na demência. Existe uma grande necessidade de que os critérios de diagnóstico sejam baseados e incluam a pesquisa de biomarcadores, uma vez que estes permitem um diagnóstico preciso da DA, mesmo num estágio de CCL. A detecção de distúrbios neurodegenerativos através da utilização de biomarcadores pode constituir um elemento chave na detecção de diferentes tipos de fisiopatologias do cérebro, podendo ser utilizados no diagnóstico clínico, especialmente nos estágios iniciais da doença, para prever a progressão, auxiliar no ajuste da dosagem correta e monitorizar os efeitos farmacodinâmicos dos novos candidatos a fármacos, em ensaios clínicos da sua atuação na disfunção e degeneração sináptica e, finalmente, também em pesquisas clínicas, de modo a aprofundar o conhecimento da patogénese da doença. A identificação do estágio pré-clínico recém-definido da DA ganhará importância caso os investigadores consigam desenvolver tratamentos que possam retardar ou parar a progressão da DA. Esses tratamentos podem ser mais efetivos caso possam ser implantados o mais cedo possível no curso da doença. Contudo, são necessários mais estudos longitudinais e transversais antes de atingir o poder de diagnóstico completo. Alternativamente, pode-se pensar em adicionar mais biomarcadores de DA, de modo a aumentar o desempenho diagnóstico.

A não realização de estudos de biomarcadores, conduz à não suspeita de evolução de demência, desde a aparição do primeiro sintoma psiquiátrico, atrasando o seu diagnóstico, até ao surgimento do primeiro sintoma cognitivo. Futuramente torna-se necessária a resposta às seguintes questões: Como deve ser padronizada a definição de CCL; Quais os melhores testes de estado mental na detecção das primeiras mudanças na memória e em outras áreas cognitivas; Quais as alterações biológicas associadas ao CCL; Quais os indivíduos com CCL que evoluirão para DA ou outra demência. Outro objetivo da mesma ordem de grandeza será desenvolver padrões para imagens cerebrais e testes de biomarcadores.

A neuroimagem estrutural através de IRM, neuroimagem molecular através de PET e análises no LCR são exemplos de métodos disponíveis para a pesquisa de biomarcadores. Várias tecnologias de neuroimagem têm-se revelado ser bastante promissoras, pois fornecem medições de potenciais biomarcadores. Contudo são necessárias pesquisas adicionais para validar seu uso.

À medida que as técnicas de neuroimagem disponíveis evoluem, os investigadores exploram novas aplicações dessas técnicas e desenvolvem outras que medem diversos processos biológicos relevantes para a neurodegeneração. A combinação de estudos de neuroimagem e procedimentos que forneçam dados relativamente ao risco genético e medidas de biomarcadores de outros tecidos pode aumentar a sensibilidade e especificidade diagnóstica, bem como o valor preditivo da informação. Uma potencial aplicação destas tecnologias emergentes conduz à detecção precoce e à prevenção do declínio cognitivo mínimo, uma vez que a viabilidade de proteger um cérebro saudável é sempre maior do que tentar reparar um que já se encontra danificado.

Apesar do alelo $\epsilon 4$ da APOE ser um importante fator preditivo de conversão de CCL em DA, o seu uso na prática clínica ainda não se encontra consolidado, sendo necessária a realização de estudos complementares.

As proteínas tau e A β são os biomarcadores mais utilizados nesta patologia, contudo BACE1, Ng e PNL têm-se demonstrado biomarcadores bastante promissores. BACE1 é considerado um biomarcador plausível para DA, contudo requer uma pesquisa intensiva de modo a desenvolver métodos de análise padronizados, para que exista uma medição precisa e confiável dos seus níveis e atividade. A PNL poderá servir como ferramenta de triagem simples, não invasiva e barata permitindo identificar ou excluir a neurodegeneração. A Ng possui também potencial como biomarcador diagnóstico e prognóstico na DA, refletindo degeneração sináptica, podendo futuramente tornar-se altamente relevante. Para estes três novos biomarcadores são necessários futuros estudos completos de modo a determinar a sua utilidade no diagnóstico precoce da doença de Alzheimer.

O livro *The Handbook of Biomarkers*, do presente ano, permite-nos comparar a evolução das descobertas relativamente à detecção de novos biomarcadores presentes no LCR e no sague de doentes de Alzheimer, representando um grande passo no progresso do diagnóstico e diferenciação desta doença.

É de notar que não basta possuir um biomarcador específico para identificação da doença, anos antes do início dos sintomas. Este de nada vale caso não existam tratamentos preventivos. Felizmente, os cientistas investem cada vez mais na investigação de vários tratamentos potenciais que possam atrasar ou prevenir a neurodegeneração.

IX – Bibliografia

- Albert, M. S., Dekosky, S. T., Dickson, D., Dubois, B., Feldman, H. H., Fox, N. C., ... Phelps, C. H. (2011). 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. *Alzheimer ' s & Dementia*, 7(3), 270–279. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.008>
- Alzheimer's and Dementia Testing for Earlier Diagnosis. (2017). Retrieved September 30, 2017, from http://www.alz.org/research/science/earlier_alzheimers_diagnosis.asp
- Alzheimer's Association. (2016). 2016 Alzheimer's Disease Facts and Figures. *Alzheimer ' s & Dementia* 2016, 12(4), 1–138. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.03.001>
- Alzheimer's disease - Symptoms. (2017). Retrieved October 24, 2017, from https://www.alzheimers.org.uk/info/20007/types_of_dementia/2/alzheimers_disease/2
- Alzheimer's Disease International (ADI). (2015). World Alzheimer Report 2015, The Global Economic Impact of Dementia. *Alzheimer ' s Disease International (ADI)*, 1–52. <https://doi.org/10.1111/j.0963-7214.2004.00293.x>
- Alzheimer's worsens over time. (2017). Retrieved September 24, 2017, from http://www.alz.org/alzheimers_disease_what_is_alzheimers.asp
- American Psychiatric Association. (2000). *DIAGNOSTIC AND STATISTICAL MANUAL OF MENTAL DISORDERS* (4th–text ed.). Washington, DC: American Psychiatric Association.
- American Psychiatric Association. (2014). *MANUAL DIAGNÓSTICO E ESTATÍSTICO DE TRANSTORNOS MENTAIS, DSM-5*. (Artmed, Ed.). Associação Brasileira de Psiquiatria.
- Andersson, K., Brinkmalm, G., Lannfelt, L., Minthon, L., Hansson, O., Andreasson, U., ... Flier, W. M. Van Der. (2014). Cerebrospinal fluid levels of the synaptic protein neurogranin correlates with cognitive decline in prodromal Alzheimer ' s disease, *1791*, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.10.009>
- Andrau, D., Ayral, E., Vizzavona, J., Farzan, M., Boisbrun, M., Fulcrand, P., ... Lefranc-jullien, S. (2003). BACE1- and BACE2-expressing Human Cells, *278(28)*,

- 25859–25866. <https://doi.org/10.1074/jbc.M302622200>
- Anstey, K. J., Mack, H. A., & Cherbuin, N. (2009). Alcohol Consumption as a Risk Factor for Dementia and Cognitive Decline: Meta-Analysis of Prospective Studies. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 17(7), 542–555. <https://doi.org/10.1097/JGP.0b013e3181a2fd07>
- Blennow, K. (2017). A Review of Fluid Biomarkers for Alzheimer ' s Disease : Moving from CSF to Blood THE CORE CSF BIOMARKERS. *Neurology and Therapy*, 6(s1), 15–24. <https://doi.org/10.1007/s40120-017-0073-9>
- Blennow, K., Leon, M. J. De, & Zetterberg, H. (2006). Alzheimer ' s disease, 368, 387–403.
- Brouwers, N., Slegers, K., & Broeckhoven, C. V. A. N. (2008). Molecular genetics of Alzheimer ' s disease : An update, 562–583. <https://doi.org/10.1080/07853890802186905>
- Caramelli, P., Buchpiguel, C. A., Lee, H. W., Fernandez, L. L., & Anghinah, R. (2011). Diagnóstico de doença de Alzheimer no Brasil, 5(Suppl 1), 11–20.
- CIDES. (2003). Classificação Internacional de Doenças (CID). Retrieved October 9, 1BC, from [http://portalcodgdh.min-saude.pt/index.php/Classificação_Internacional_de_Doenças_\(CID\)](http://portalcodgdh.min-saude.pt/index.php/Classificação_Internacional_de_Doenças_(CID))
- Decourt, B., & Sabbagh, M. N. (2011). BACE1 as a potential biomarker for Alzheimer's disease, 24(Suppl 2), 53–59. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-110017.BACE1>
- Dubois, B., Feldman, H. H., Jacova, C., Dekosky, S. T., Barberger-gateau, P., Cummings, J., ... Bordeaux, S. (2007). Research criteria for the diagnosis of Alzheimer ' s disease : revising the NINCDS – ADRDA criteria, 6(August). [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(07\)70178-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(07)70178-3)
- Enfermedad de Alzheimer: El diagnóstico. (2013). Retrieved October 10, 2017, from <https://residenciasalcalamahora.wordpress.com/tag/tac/>
- Engelborghs, S. (2013). Clinical indications for analysis of Alzheimer ' s disease CSF biomarkers Biomarqueurs dans le LCR pour le diagnostic de la maladie d ' Alzheimer : indications. *Revue Neurologique*, 169(10), 709–714. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2013.07.024>
- Fagan, A. M., Roe, C. M., Xiong, C., Mintun, M. A., Morris, J. C., & Holtzman, D. M. (2007). Cerebrospinal Fluid tau/B-Amyloid 42 Ratio as a Prediction of Cognitive Decline in Nondemented Older Adults, 64.

- Ferrari, C., Xu, W. L., Wang, H. X., Winblad, B., Sorbi, S., Qiu, C., & Fratiglioni, L. (2013). How can elderly apolipoprotein E ϵ 4 carriers remain free from dementia? *Neurobiology of Aging*, 34(1), 13–21. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2012.03.003>
- Fratiglioni, L., Winblad, B., & von Strauss, E. (2007). Prevention of Alzheimer's disease and dementia. Major findings from the Kungsholmen Project. *Physiology and Behavior*, 92(1–2), 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.05.059>
- Frota, N. A. F., & Nitrini, R. (2011). Critérios para o diagnóstico de doença de Alzheimer, 5(Suppl 1), 5–10.
- Gaiottino, J., Norgren, N., Dobson, R., Topping, J., Nissim, A., Bestwick, J. P., ... Kuhle, J. (2013). Increased Neurofilament Light Chain Blood Levels in Neurodegenerative Neurological Diseases, 8(9), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075091>
- Garcia, C. A. (1984). Doença de Alzheimer: Problemas de Diagnóstico Clínico. *Dissertação de Doutorado*.
- Gisslén, M., Price, R. W., Andreasson, U., Norgren, N., Nilsson, S., Hagberg, L., ... Zetterberg, H. (2015). EBioMedicine Plasma Concentration of the Neuro filament Light Protein (NFL) is a Biomarker of CNS Injury in HIV Infection : A Cross-Sectional Study. *EBIOM*, 3, 135–140. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.11.036>
- Grüninger-leitch, F., Schlatter, D., Küng, E., Nelböck, P., Döbeli, H., Schlatter, D., ... Do, H. (2002). ENZYME CATALYSIS AND REGULATION : Substrate and Inhibitor Profile of BACE (β -Secretase) and Comparison with Other Mammalian Aspartic Proteases Substrate and Inhibitor Profile of BACE (β -Secretase) and Comparison with Other Mammalian Aspartic Proteases *. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109266200>
- Hampel, H., Frank, R., Broich, K., Teipel, S. J., Katz, R. G., Hoessler, Y. C., ... Woodcock, J. (2010). Biomarkers for Alzheimer ' s disease : academic , industry and regulatory perspectives, 9(july). <https://doi.org/10.1038/nrd3115>
- Hansson, O., Zetterberg, H., Buchhave, P., Londos, E., Blennow, K., & Minthon, L. (2006). Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer ' s disease in patients with mild cognitive impairment : a follow-up study, 5(March), 228–234. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(06\)70355-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(06)70355-6)
- Holsinger RM, Lee JS, Boyd A, Masters CL, C. S. (2006). CSF BACE1 activity is

- increased in CJD and Alzheimer disease versus other dementias. *NEUROLOGY* 2006.
- Hort, J., Brien, J. T. O. Ó., Gainotti, G., Pirtila, T., Popescu, B. O., Rektorova, I., & Sorbi, S. (2010). EFNS guidelines for the diagnosis and management of Alzheimer's disease, 1236–1248. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2010.03040.x>
- International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision (ICD-10). (2016). Retrieved October 9, 2017, from <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2016/en#/F03>
- Jain, K. K. (2017). *The Handbook of Biomarkers*. (H. Press, Ed.) (Second Edi). Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7431-3>
- Kester, M. I., Teunissen, C. E., Crimmins, D. L., Herries, E. M., Ladenson, J. H., Scheltens, P., ... Fagan, A. M. (2015). Neurogranin as a Cerebrospinal Fluid Biomarker for Synaptic Loss in Symptomatic Alzheimer Disease, 1–7. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2015.1867>
- Klaver, D. W., Wilce, M. C. J., Cui, H., Hung, A. C., Gasperini, R., Foa, L., & Small, D. H. (2010). Is BACE1 a suitable therapeutic target for the treatment of Alzheimer's disease? Current strategies and future directions, 391(August), 849–859. <https://doi.org/10.1515/BC.2010.089>
- Knopman, D. S., Dekosky, S. T., Cummings, J. L., Chui, H., Small, G. W., Miller, B., & Stevens, J. C. (2001). PRACTICE PARAMETER: DIAGNOSIS OF DEMENTIA (AN EVIDENCE-BASED REVIEW).
- Knopman, D. S., Wiste, H. J., Weigand, S. D., Senjem, M. L., & Boeve, B. F. (2012). Short-term clinical outcomes for stages of NIA-AA preclinical Alzheimer disease.
- Kuhle, J., Barro, C., Andreasson, U., Derfuss, T., Lindberg, R., & Sandelius, Å. (2016). Comparison of three analytical platforms for quantification of the neurofilament light chain in blood samples: ELISA, electrochemiluminescence immunoassay and Simoa. <https://doi.org/10.1515/cclm-2015-1195>
- Lacalle-Auriolosa, M., Javier Navas-Sanchez, F., Aleman-Gomez, Y., Olazarán, J., Adán Guzmán-De-Villoria, J., Cruz-Orduna, I., ... Desco, M. (2016). The Disconnection Hypothesis in Alzheimer's Disease Studied Through Multimodal Magnetic Resonance Imaging: Structural, Perfusion, and Diffusion Tensor Imaging, 50, 1051–1064. <https://doi.org/10.3233/JAD-150288>
- López-álvarez, J., & Agüera-ortiz, L. F. (2015). Nuevos criterios diagnósticos de la

- demencia y la enfermedad de Alzheimer : una visión desde la psicogeriatría, 5(1), 3–14.
- Mattsson, N., Zetterberg, H., Insel, P. S., Baker, D., Hehir, C. A. T., Hanlon, D., ... Weiner, M. W. (2016). Plasma tau in Alzheimer disease, 0.
- Mattsson Niklas; Andreasson Ulf; Zetterberg Henrik; Blennow Kaj. (2017). Association of Plasma Neurofilament Light With Neurodegeneration in Patients With Alzheimer Disease, 1–10. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.6117>
- Mayeux, R., & Stern, Y. (2012). Genetic epidemiology of Alzheimer disease. *Alzheimer Dis.Assoc.Disord.*, 20(0893–0341 (Print)), S58–S62. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006239>
- McConathy, J., & Sheline, Y. I. (2014). Imaging Biomarkers Associated with Cognitive Decline: A Review, 77(8), 685–692. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.08.024>
- Mckhann, G., Drachman, D., & Folstein, M. (1984). views & reviews Clinical diagnosis of Alzheimer ' s disease : <https://doi.org/10.1212/WNL.34.7.939>
- Mckhann, G. M., Knopman, D. S., Chertkow, H., Hyman, B. T., Jack, C. R., Kawas, C. H., ... Phelps, C. H. (2011). The diagnosis of dementia due to Alzheimer ' s disease : Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer ' s Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer ' s disease. *Alzheimer's & Dementia*, 7(3), 263–269. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.005>
- Menke, R. A. L., Gass, A., Monsch, A. U., Rao, A., Witcher, B., Zamboni, G., ... Smith, S. (2013). Brain Microstructure Reveals Early Abnormalities more than Two Years prior to Clinical Progression from Mild Cognitive Impairment to Alzheimer ' s Disease, 33(5), 2147–2155. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4437-12.2013>
- Michael S. Ritsner. (2009). *The Handbook of Neuropsychiatric Biomarkers , Endophenotypes and Genes*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9838-3>
- Neto, J. G., Tamelini, M. G., & Forlenza, O. V. (2014). Diagnóstico diferencial das demências. *Revista Psiquiatria Clínica*, 32(3), 119–130. <https://doi.org/10.1590/S0101-60832005000300004>
- New Diagnostic Criteria and Guidelines for Alzheimer's Disease. (2017). Retrieved September 30, 2017, from http://www.alz.org/research/diagnostic_criteria/
- Nitrini, R., Caramelli, P., Machado, C., Bottino, D. C., Damasceno, B. P., Maria, S., ...

- Anghinah, R. (2005). DIAGNÓSTICO DE DOENÇA DE ALZHEIMER NO BRASIL CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS E EXAMES COMPLEMENTARES. *Recomendações do Departamento Científico de Neurologia Cognitiva e do Envelhecimento da Academia Brasileira de Neurologia*, 63(4), 713–719. <https://doi.org/10.1590/S0004-282X2005000400034>
- Oh, E. S., Troncoso, Æ. J. C., & Fangmark, Æ. S. M. (2008). Maximizing the Potential of Plasma Amyloid-Beta as a Diagnostic Biomarker for Alzheimer ' s Disease, 195–207. <https://doi.org/10.1007/s12017-008-8035-0>
- Okonkwo, O. C., Alosco, M. L., Jerskey, B. A., Sweet, L. H., Ott, B. R., Tremont, G., & Neuroimaging, D. (2010). Cerebral atrophy , apolipoprotein E 3 4 , and rate of decline in everyday function among patients with amnesic mild cognitive impairment. *Alzheimer's & Dementia*, 6(5), 404–411. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2010.02.003>
- Qiu, C., Kivipelto, M., & Von Strauss, E. (2009). Epidemiology of Alzheimer's disease: Occurrence, determinants, and strategies toward intervention. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 11(2), 111–128. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e318212ba87>
- Ray, S., Britschgi, M., Herbert, C., Takeda-uchimura, Y., Boxer, A., Blennow, K., ... Wyss-coray, T. (2007). Classification and prediction of clinical Alzheimer ' s diagnosis based on plasma signaling proteins, 13(11), 1359–1362. <https://doi.org/10.1038/nm1653>
- Reitz, C., & Mayeux, R. (2015). Alzheimer disease: Epidemiology, Diagnostic Criteria, Risk Factors and Biomarkers. *Biochem Pharmacol.*, 88(4), 640–651. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.12.024.Alzheimer>
- Repress, A., & Christophe, J. (1990). Neurogranin : Immunocytochemical Protein Kinase C Substrate Localization of a Brain-Specific, (December).
- Rohrer, J. D., Woollacott, I. O. C., Dick, K. M., Brotherhood, E., Gordon, E., Fellows, A., ... Zetterberg, H. (2016). Serum neurofilament light chain protein is a measure of disease intensity in frontotemporal dementia, 0.
- Rojas, J. C., Karydas, A., Bang, J., Tsai, R. M., Blennow, K., Liman, V., ... Boxer, A. L. (2016). Plasma neurofilament light chain predicts progression in progressive supranuclear palsy. <https://doi.org/10.1002/acn3.290>
- Rosengren, L., & Stigbrand, T. (2002). Monoclonal Antibodies Selective for Low Molecular, 21(1).

- Silvestri, R. (2008). Boom in the Development of Inhibitors for the Treatment of Alzheimer's Disease, 29(2). <https://doi.org/10.1002/med>
- Sperling, R. A., Aisen, P. S., Beckett, L. A., Bennett, D. A., Craft, S., Fagan, A. M., ... Phelps, C. H. (2012). Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging- Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.*, 7(3), 280–292. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.003>. Toward
- Stages of Alzheimer's. (2017). Retrieved October 2, 1BC, from http://www.alz.org/alzheimers_disease_stages_of_alzheimers.asp
- Stewart, R., Masaki, K., Xue, Q.-L., Peila, R., Petrovitch, H., White, L. R., & Launer, L. J. (2005). A 32-Year Prospective Study of Change in Body Weight and Incident Dementia. *Archives of Neurology*, 62(1), 55. <https://doi.org/10.1001/archneur.62.1.55>
- Swerdlow, R. H. (2007). Pathogenesis of Alzheimer's disease. *Clinical Interventions in Aging*, 2(3), 347–359.
- Tests for Alzheimer's Disease and Dementia. (2017). Retrieved September 30, 2017, from http://www.alz.org/alzheimers_disease_steps_to_diagnosis.asp
- Teunissen, C. E., & Khalil, M. (2012). Neurofilaments as biomarkers in multiple sclerosis. <https://doi.org/10.1177/1352458512443092>
- Thorsell, A., Bjerke, M., Gobom, J., Brunhage, E., Vanmechelen, E., Andreasen, N., ... Blennow, K. (2010). Neurogranin in cerebrospinal fluid as a marker of synaptic degeneration in Alzheimer's disease. *Brain Research*, 1362, 13–22. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.09.073>
- To, U., Andreasson, U., Portelius, E., Zetterberg, H., Skillba, T., Trojanowski, J. Q., ... Mattsson, N. (2016). Cerebrospinal fluid neurogranin: relation to cognition and neurodegeneration in Alzheimer's disease, 1–13. <https://doi.org/10.1093/brain/awv267>
- W Small, G., Y Bookheimer, S., M Thompson, P., M Cole, G., S-C, H., Kepe, V., & R Barrio, J. (2009). Current and future uses of neuroimaging for cognitively impaired patients, 7(2), 161–172. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(08\)70019-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(08)70019-X). Current
- Wellington, H., Paterson, R. W., Portelius, E., Törnqvist, U., Magdalidou, N., Fox, N. C., & Schott, J. M. (2016). Increased CSF neurogranin concentration is specific to

Alzheimer disease.

What Are the Signs of Alzheimer's Disease? (2017). Retrieved October 2, 1BC, from <https://www.nia.nih.gov/health/what-are-signs-alzheimers-disease>

What Is Alzheimer's? (2017). Retrieved October 2, 1BC, from http://www.alz.org/alzheimers_disease_what_is_alzheimers.asp

Wu, G., Sankaranarayanan, S., Tugusheva, K., Kahana, J., Seabrook, G., Shi, X., ... Simon, A. J. (2008). Decrease in age-adjusted cerebrospinal fluid β -secretase activity in Alzheimer's subjects, *41*, 986–996. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2008.04.022>

Xu, W., Ferrari, C., & Wang, H. (2013). Epidemiology of Alzheimer's Disease.

Zhong, Z., Ewers, M., Teipel, S., Burguer, K., Wallin, A., Blennow, K., ... Shen, Y. (2007). Levels of β -Secretase (BACE1) in Cerebrospinal Fluid as a Predictor of Risk in Mild Cognitive Impairment, *64*(June 2007).

X – Anexos

Anexo 1- Tabela de classificação da doença de Alzheimer de acordo com CID-10 (“International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision (ICD-10),” 2016).

F00*	Doença de Alzheimer (G30.-†)	A DA é uma doença cerebral degenerativa primária de etiologia desconhecida com características neuropatológicas e neuro químicas. A desordem é geralmente insidiosa no início e desenvolve-se lentamente, mas de forma constante ao longo de vários anos.
F00.0*	Doença de Alzheimer com início precoce (G30.0†)	Demência na DA com início antes dos 65 anos, com um curso de deterioração relativamente rápido e com distúrbios múltiplos marcados das funções corticais superiores. DA, tipo 2. Demência pré-senil, tipo Alzheimer. Demência degenerativa primária do tipo Alzheimer, início prévio.
F00.1*	Doença de Alzheimer de início tardio (G30.1†)	Demência na DA com início após os 65 anos de idade, geralmente no final dos 70 anos ou depois, com progressão lenta e com comprometimento de memória como característica principal. DA, tipo 1. Demência degenerativa primária do tipo Alzheimer, início senil. Demência senil, tipo Alzheimer.
F00.2*	Doença de Alzheimer atípica ou tipo mista (G30.8†)	Demência atípica, tipo Alzheimer.
F00.9*	Doença de Alzheimer não específica (G30.9†)	

Anexo 2- Critérios de diagnóstico de transtorno cognitivo major (American Psychiatric Association, 2014)

A. Evidências de declínio cognitivo importante a partir de nível anterior de desempenho em um ou mais domínios cognitivos (atenção complexa, função executiva, aprendizagem e memória, linguagem, percepto motor ou cognição social),

com base em:

1. Preocupação do indivíduo, de um informante com conhecimento ou do clínico de que há declínio significativo na função cognitiva; e
2. Prejuízo substancial no desempenho cognitivo, de preferência documentado por teste neuro psicológico padronizado ou, em sua falta, por outra investigação clínica quantificada.

B. Os défices cognitivos interferem na independência em atividades da vida diária (i.e., no mínimo, necessita de assistência em atividades instrumentais complexas da vida diária, tais como pagamento de contas ou controle medicamentoso).

C. Os défices cognitivos não ocorrem exclusivamente no contexto de delirium.

D. Os défices cognitivos não são mais bem explicados por outro transtorno mental (p. ex., transtorno depressivo maior, esquizofrenia).

Anexo 3 – Tabela de diferenças entre transtorno neuro cognitivo leve e major, propostas em DSM-V (American Psychiatric Association, 2014)

	Transtorno neuro cognitivo leveiro	Transtorno neuro cognitivo major
Preocupação por parte paciente, informante conhecedor ou clinico relativamente ao declínio cognitivo em um ou mais domínios	Declive modesto nas funções cognitivas.	Declive substancial nas funções cognitivas.
Desempenho nos testes neuro psicológicos	Um a dois desvios padrão mais baixos do que o esperado em comparação com os padrões normais.	Dois ou mais desvios padrão aquém dos padrões normais adequados.
Autonomia	As alterações são insuficientes para afectar a autonomia; Pode haver interferências subtis que afectem as tarefas diárias;	As alterações são suficientes para afectar as actividades diárias.

A. São atendidos os critérios para transtorno neuro cognitivo major ou ligeiro.

B. Há surgimento insidioso e progressão gradual de prejuízo em um ou mais domínios cognitivos (no caso de transtorno neuro cognitivo maior, pelo menos dois domínios devem estar prejudicados).

C. Os critérios são atendidos para doença de Alzheimer provável ou possível, do seguinte modo:

Para transtorno neuro cognitivo maior:

Provável doença de Alzheimer é diagnosticada se qualquer um dos seguintes está presente; caso contrário, deve ser diagnosticada possível doença de Alzheimer.

1. Evidência de uma mutação genética causadora de doença de Alzheimer a partir de história familiar ou teste genético.
2. Todos os três a seguir estão presentes:
 - a) Evidências claras de declínio na memória e na aprendizagem e em pelo menos outro domínio cognitivo (com base em história detalhada ou testes neuro psicológicos em série).
 - b) Declínio constantemente progressivo e gradual na cognição, sem platôs prolongados.
 - c) Ausência de evidências de etiologia mista (i.e., ausência de outra doença neurodegenerativa ou cerebrovascular ou de outra doença ou condição neurológica, mental ou sistêmica provavelmente contribuindo para o declínio cognitivo).

Para transtorno neuro cognitivo ligeiro:

Provável doença de Alzheimer é diagnosticada se há evidência de alguma mutação genética causadora de doença de Alzheimer, constatada em teste genético ou história familiar.

Possível doença de Alzheimer é diagnosticada se não há evidência de mutação genética causadora de doença de Alzheimer, de acordo com teste genético ou história familiar, com presença de todos os três a seguir:

1. Evidências claras de declínio na memória e na aprendizagem.
2. Declínio constantemente progressivo e gradual na cognição, sem platôs

prolongados.

3. Ausência de evidências de etiologia mista (i.e., ausência de outra doença neurodegenerativa ou cerebrovascular ou de outra doença ou condição neurológica ou sistêmica provavelmente contribuindo para o declínio cognitivo).

D. A perturbação já não é explicada por doença cerebrovascular, outra doença neurodegenerativa, efeitos de uma substância ou outro transtorno mental, neurológico ou sistêmico.

Anexo 5 – Tabela de critérios de diagnóstico para doença de Alzheimer (NINCDS-ADRDA) Mckhann et al.1984 (G. Mckhann et al., 1984)

I - O critério para o diagnóstico clínico de doença de Alzheimer PROVÁVEL inclui:

- Demência estabelecida por exame clínico e documentada pelo Mini-Exame do Estado Mental, Blessed Dementia Scale, ou exame similar, e confirmada por testes neuro-psicológicos;
- Défice em duas ou mais áreas da cognição;
- Declínio progressivo da memória e outras funções cognitivas;
- Ausência de distúrbio da consciência;
- Início entre 40 e 90 anos, mais frequentemente após 65 anos; e
- Ausência de doenças sistêmicas ou outras doenças cerebrais que, por si, poderiam ser responsáveis pelos défices progressivos de memória e cognição.

II- O diagnóstico de doença de Alzheimer PROVÁVEL e tem como características de suporte:

- Deterioração progressiva de funções cognitivas específicas como linguagem (afasia), habilidades motoras (apraxia), e percepção (agnosia);
- Prejuízo em atividades de vida diária e padrões alterados de comportamento;
- História familiar de distúrbios similares, particularmente se houver confirmação neuropatológica;
- Resultados laboratoriais de:
 - i. Líquido cefalorraquidiano normal por técnicas padrão,
 - ii. Padrão normal ou alterações inespecíficas no

eletroencefalograma, tais como aumento da actividade de ondas lentas,e

- iii. Evidência de atrofia cerebral na tomografia computadorizada (TC) de crânio com progressão documentada por observação seriada.

III. Outras características clínicas consistentes com o diagnóstico de doença de Alzheimer provável, após exclusão de outras causas de demência, incluem:

- Platôs no curso de progressão da doença;
- Sintomas associados de depressão, insónia, incontinência, delírios, ilusões, alucinações, surtos catastróficos verbais, emocionais ou físicos, distúrbios sexuais, e perda de peso; outras alterações neurológicas em alguns pacientes, especialmente com doença mais avançada e incluindo sinais motores como aumento de tónus muscular, mioclonias, ou distúrbio da marcha;
- Crises epiléticas em fase avançada da doença;e
- TC de crânio normal para idade.

IV- Características que tornam o diagnóstico de doença de Alzheimer incerto ou improvável incluem:

- Início súbito, apoplético;
- Sinais neurológicos focais como hemiparesia, défice sensitivo, défices em campo visual, e incoordenação precoce no curso da doença; e
- Crises epiléticas ou distúrbios da marcha na instalação ou precocemente no curso da doença.

V- O diagnóstico clínico de doença de Alzheimer possível:

- Pode ser feito com base em síndrome demencial, na ausência de outras doenças neurológicas, psiquiátricas ou sistémicas suficientes para causas demência, e na presença de variações no início, na apresentação ou no curso clínico;
- Pode ser feito na presença de uma segunda doença cerebral ou sistémica suficiente para produzir demência, que não é considerada causa da demência; e
- Deve ser utilizado em pesquisa clínica quando défice cognitivo único, grave e gradualmente progressivo é identificado na ausência de outra causa identificável.

VI - Os critérios para diagnóstico de doença de Alzheimer definida são:

- Critério clínico para doença de Alzheimer provável e

- Evidência histopatológica obtida por biópsia ou autópsia.

VII- A classificação de doença de Alzheimer para fins de pesquisa científica deve especificar características que podem diferenciar subtipos da doença, tais como:

- Ocorrência familiar;
- Início antes dos 65 anos;
- Presença de trissomia do 21; e
- Coexistência de outras condições relevantes como doença de Parkinson.

Anexo 6 – Tabela de critérios diagnósticos para doença de Alzheimer provável revisados (Dubois e cols., 2007)

<p>Critério diagnóstico central</p>	<p>A. Presença de prejuízo de memória episódica precoce e significativo que inclui as seguintes características:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mudança gradual e progressiva na função de memória relatada por pacientes ou informantes por período maior que 6 meses. • Evidência objetiva mediante de testes neuropsicológicos do prejuízo significativo de memória episódica: geralmente consiste no déficit de recordação que não melhora significativamente ou não normaliza com dicas ou testes de reconhecimento e após controlo de codificação efetiva da informação. • Prejuízo de memória episódica pode ser isolado ou associado a outras mudanças cognitivas no início de DA, ou à medida que a DA avança.
<p>Caraterísticas de suporte</p>	<p>B. Presença de atrofia do lobo temporal medial:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Perda de volume nos hipocampos, amígdala, córtex entorrinal, evidenciado na ressonância nuclear magnética (RNM) com avaliação qualitativa (em relação a população bem caracterizada, com regras por idade) ou volumetria quantitativa de regiões de interesse (em relação a população bem caracterizada, com regras por idade). <p>C. Biomarcadores de líquido cefalorraquidiano anormais:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Concentração baixa de amiloide β1-42, aumento da concentração de tau total ou tau fosforilada, ou combinação das três. • Outros marcadores bem validados a serem descobertos no futuro. <p>D. Padrão específico em neuroimagem funcional com PET</p> <ul style="list-style-type: none"> • Redução do metabolismo de glicose na região temporoparietal

	bilateral. <ul style="list-style-type: none"> • Outros ligantes bem estabelecidos, incluindo aqueles que emergirão, como o Pittsburg compound B ou FDDNP.
	E. Mutação autossômica dominante num familiar de primeiro grau, comprovada de DA.

Anexo 7 - Critérios de exclusão de DA segundo Dubois et al. (Dubois et al., 2007)

Critérios de exclusão	A. História <ul style="list-style-type: none"> • Início súbito. • Ocorrência precoce da seguinte sintomatologia: distúrbios de marcha, crises epiléticas, alterações comportamentais.
	B. Características clínicas <ul style="list-style-type: none"> • Sinais neurológicos focais incluindo hemiparesia, perda sensitiva, defeitos de campo visual. • Sinais extrapiramidais precoces.
	C. Outras condições médicas graves o suficiente para serem responsáveis pela memória e sinais relacionados: <ul style="list-style-type: none"> • Demência não-DA. • Depressão maior. • Doença cerebrovascular. • Alterações tóxicas e metabólicas, que podem requerer investigações específicas. • Anormalidades no lobo temporal medial na RNM (T2 ou FLAIR) que são consistentes com insultos infecciosos ou vasculares.
Critério para DA definida	D. DA é considerada definida quando os itens seguintes estão presentes: <ul style="list-style-type: none"> • Evidência clínica e histopatológica (autópsia ou biópsia cerebral) da doença, conforme requerido pelo critério NIA-Reagan para o diagnóstico pós morte de DA; os dois critérios devem estar presentes. • Evidência clínica e genética (mutação no cromossomo 1,14 ou 21) de DA; os dois critérios devem estar presentes.

Anexo 8 - Características das entidades clínicas da DA (Dubois et al., 2007).

	Diagnóstico da DA	Falhas em testes específicos de memória	Evidência de biomarcadores <i>in vivo</i>	Requerimentos adicionais
CCL	Não	Não	Não	Ausência de sintomas ou biomarcadores específicos de DA
Estado assintomático a risco de DA	Não	Não	Sim	Ausência de sintomas de DA
DA pré-sintomática	Não	Não	Não requeridos	Assintomático, mas com presença de mutação monogénica
DA prodrômica	Sim	Sim	Sim	Ausência de demência
DA típica	Sim	Sim	Sim	Não
DA atípica	Sim	Não requeridos	Sim	Clinica atípica
Demência tipo Alzheimer	Sim	Sim	Sim	Presença de demência
Demência tipo Alzheimer mista	Sim	Sim	Sim	Demência tipo Alzheimer e outros quadros demenciais co mórbidos

Demência é diagnosticada quando existem sintomas cognitivos ou comportamentais (neuropsiquiátricos) que:

1. Interferem com a habilidade no trabalho ou em atividades usuais;
2. Representam declínio em relação a níveis prévios de funcionamento e desempenho;
3. Não são explicáveis por *delirium* ou doença psiquiátrica maior;

4. O comprometimento cognitivo é detectado e diagnosticado mediante combinação de (1) anamnese com paciente e informante que tenha conhecimento da história; e (2) avaliação cognitiva objetiva, mediante exame breve do estado mental ou avaliação neuro psicológica. A avaliação neuro psicológica deve ser realizada quando a anamnese e o exame cognitivo breve realizado pelo médico não forem suficientes para permitir diagnóstico confiável.

5. Os comprometimentos cognitivos ou comportamentais afetam no mínimo dois dos seguintes domínios:

- a. Memória, caracterizado por comprometimento da capacidade para adquirir ou relembrar informações recentes - com sintomas que incluem: repetição das mesmas perguntas ou assuntos, esquecimento de eventos, compromissos ou do lugar onde guardou seus pertences;
- b. Funções executivas, caracterizado por comprometimento do raciocínio, da realização de tarefas complexas e do julgamento - com sintomas que incluem: compreensão pobre de situações de risco, redução da capacidade para cuidar das finanças, de tomar decisões e de planejar atividades complexas ou sequenciais;
- c. Habilidades visuais-espaciais - com sintomas que incluem: incapacidade de reconhecer faces ou objetos comuns, encontrar objetos no campo visual, dificuldade para manusear utensílios, vestir-se;
- d. Linguagem (expressão, compreensão, leitura e escrita) - com sintomas que incluem: dificuldade para encontrar palavras comuns ao falar, hesitações; erros de ortografia, discurso;
- e. Alterações de personalidade ou comportamento - com sintomas que incluem: flutuações de humor pouco características como, agitação, motivação prejudicada, iniciativa, apatia, desinteresse, isolamento social, perda de empatia, desinibição, comportamentos obsessivos, compulsivos ou socialmente inaceitáveis.

A. Início insidioso. Os sintomas têm um início gradual ao longo de meses a anos, não ao longo de horas ou dias repentinos;

B. História clara ou observação de piora cognitiva; e

C. Os défices cognitivos iniciais e mais proeminentes são mais evidentes na história e exame numa das seguintes categorias:

a. Apresentação amnésica: É a apresentação sindrômica de demência mais comum. Os défices devem incluir deficiência na aprendizagem e deficiência em recuperação de informações recentemente aprendidas. Caso haja evidência de disfunção cognitiva em pelo menos um outro domínio cognitivo.

b. Apresentação não amnésica:

- Linguagem: Os défices mais proeminentes estão na lembrança de palavras, mas défices noutros domínios cognitivos devem estar presentes.
- Visual-espacial: Os défices mais proeminentes encontram-se na cognição espacial, incluindo agnosia para objectos ou faces, simultaneagnosia e alexia. Défices noutros domínios cognitivos devem estar presentes.
- Disfunção executiva: Os défices mais proeminentes são a alteração de raciocínio, julgamento e resolução de problemas. Défices noutros domínios cognitivos devem estar presentes.

D. O diagnóstico de demência DA provável não deve ser aplicado quando houver evidências de:

a. Doença cerebrovascular substancial concomitante, definida por história de AVC temporalmente relacionada com o início ou piora do comprometimento cognitivo; ou a presença de enfartes múltiplos ou lesões acentuadas na substancia branca; ou

b. Características centrais de demência com corpos de Lewy além da demência em si; ou

c. Características proeminentes da variante comportamental de demência frontotemporal; ou

d. Características proeminentes de afasia progressiva primária ou não-fluente manifestando-se como variante semântica; ou

e. Evidência de outra doença concomitante e ativa, neurológica ou não neurológica ou uso de medicação que possa ter um efeito substancial sobre a cognição.

