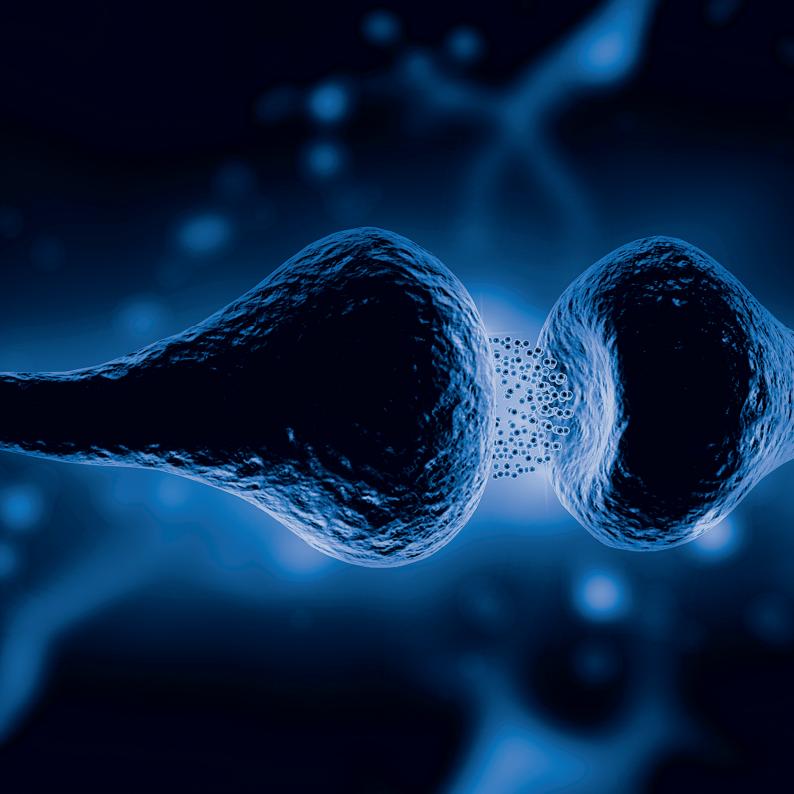
Doença de Alzheimer

Fujirebio - A Pioneira nos Biomarcadores na Doença de Alzheimer

Algumas gotas de percepção podem levar a um oceano de compreensão.



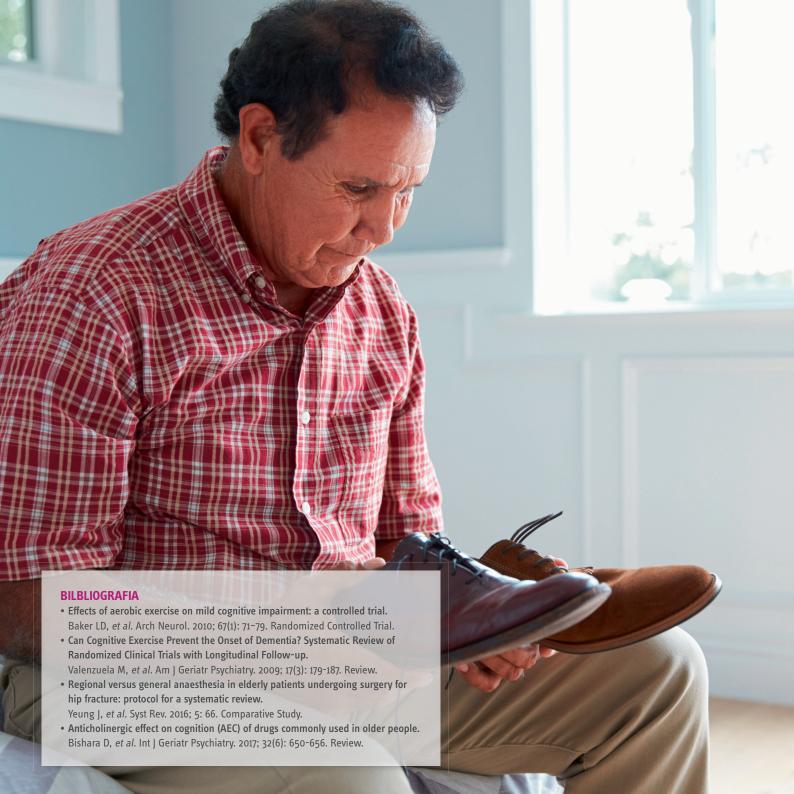






Índice

Qual a importância de uma deteção precoce?	5
O diagnóstico precoce é crucial	5
Bilbliografia	L
Secção Um	
Proteínas alteradas nas doenças neurodegenerativas cerebrais (DND)	6
Biomarcadores relacionados com a doença de Alzheimer	7
Biomarcadores relacionados com os corpos de Lewy	7
Biomarcadores associados a demência frontotemporal	
Depósitos associados a proteína de prião	
Biomarcadores adicionais de qualquer causa de dano ou lesão neuronais	
Bilbliografia	
Secção Dois	
Funcionalidades clínicas e ensaios de biomarcadores neurodegenerativos no LCR.	
Demências neurodegenerativas mais frequentes	
Qual e o desempenho diagnostico dos biomarcadores de LCR?	
Visão geral da eficácia clínica dos biomarcadores da doença de Alzheimer estabelecidos	
Alteração de biomarcadores específicos da doença de Alzheimer noutras demências	
Bilbliografia	
Secção Três	
Manipulação e transporte de amostras de LCR	
Procedimento recomendado	
Bilbliografia	
Secção Quatro	
Doença de Alzheimer (DA) e estágios pré-clínicos	
Biomarcadores patofisiológicos	
Definição do limite de anormalidade para marcadores de LCR	
Combinacao de biomarcadores de LCR para acrescentar sua efetividade no prognostico	
Os marcadores de LCR para estratificação de riscos e valor preditivo da DA	
Interpretação de padrões bioquímicos de LCR	
Bilbliografia	
Secção Cinco	
Depósito e depuração de Aβ: uma funcionalidade crucial do envelhecimento do	22
cérebro	22
Valor adicionado de razão de Aβ _{42/40}	
Valor adicionado de Aβ ₄₀ exclusiva	
Impacto de ser portador do alelo APOE ε4	
Bilbliografia	
Secção Seis	
Novos critérios para DA	
Sistema AT(N)(C) na doença de Alzheimer	
Bilbliografia	
Secção Sete	
Visão futura sobre os marcadores sanguíneos	
Bilbliografia	



Qual a importância de uma deteção precoce?

O diagnóstico precoce é crucial

A doença de Alzheimer é um processo contínuo que conduz a uma alteração das funções cognitivas e comportamentais. É essencial consultar um médico logo que apareçam os primeiros sinais. Nessa altura, a doença pode já ter progredido insidiosamente há muitos anos.

Um diagnóstico claro irá permitir uma melhor compreensão por parte dos familiares dos pacientes e da sua rede social íntima, dos sintomas que ocorrem e antecipar o futuro durante a consulta com o paciente.

Uma deteção precoce da doença permite uma ação mais rápida e uma poupança de tempo precioso; um diagnóstico preciso para prevenir complicações e o agravamento rápido da doença!

- Um diagnóstico preciso ajuda a escolher o acompanhamento ideal do paciente: os transtornos de demência não evoluem todos da mesma forma. A coexistência de diferentes causas que podem afetar as capacidades cognitivas é frequente, sendo essencial um bom diagnóstico diferencial.
- Prevenção geral: estimular a reserva cognitiva ao atuar na plasticidade cerebral, nomeadamente a capacidade do cérebro estabelecer novas ligações quando algumas são destruídas pela doença.
- » O estímulo desta reserva envolve atividade física regular, a luta contra a hipertensão e a adoção de uma dieta para evitar o risco de diabetes.
- » Manter as atividades intelectuais e as interações sociais é essencial.

- Prevenção secundária: proteger o paciente de complicações.
- » Quedas e operações cirúrgicas: a diminuição das reservas funcionais cerebrais devido aos efeitos do envelhecimento e ao impacto de doenças, particularmente a demência, é exposta quando os idosos sofrem de stress cirúrgico. Ponderar a aplicação de anestesia local quando exequível reduz o risco de síndrome de confusão pós-operatória aguda ou de disfunção cognitiva em 50%. Muitos estados de demência atribuídos a cirurgia são na verdade doenças neurodegenerativas reveladas no período de internação no hospital, tendo evoluído até então gradualmente sem atrair a atenção dos familiares ou dos médicos.
- » Controle de medicação: evitar erros na toma de medicação, mas também vigiar para que aquilo que é efetivamente prescrito seja garantido! Muitos tratamentos médicos comummente utilizados em idosos estão associados ao risco de declínio cognitivo.

Em conclusão, o diagnóstico precoce está associado a inúmeros benefícios, independentemente da disponibilidade de tratamentos medicamentosos para a doença de Alzheimer.

Biomarcadores relacionados com a doença de Alzheimer > Peptídeos amilóides > Proteína Tau > Proteína Tau hiperfosforilada Biomarcadores relacionados com os corpos de Lewy > Alfa-sinucleína Proteínas associadas à demência frontotemporal > Proteína ligante de ADN TAR de 43kDa (TDP-43) > Proteinopatias FET/FUS Depósitos associados a proteína de prião > Proteína de prião patológica (PrPSc) Biomarcadores adicionais de qualquer causa de dano ou lesão neuronais > Neurofilamentos > Proteína S100B > Enzima NSE > Fragmento sTREM2 Bilbliografia

Secção Um

Proteínas alteradas nas doenças neurodegenerativas cerebrais (DND)

Um biomarcador é definido como uma característica que é objetivamente medida nos fluidos corporais com um nível de comprovação suficiente para ser utilizado em procedimentos de diagnóstico in-vitro, isto é, avaliar o risco de doença, orientar diagnósticos clínicos, monitorizar as intervenções terapêuticas.

Nas doenças neurodegenerativas os biomarcadores derivados do líquido cefalorraquidiano (LCR) foram estudados intensivamente. Os **biomarcadores de LCR** refletem eventos moleculares no cérebro devido ao fato de estarem em contacto direto com o espaço extracelular do cérebro.

Não obstante, o movimento do LCR não consiste num fluxo unidirecional e não existe comprovação de que as proteínas patológicas possam ser encontradas no ambiente extracelular. A investigação de biomarcadores de NDD é um desafio porque a maioria das proteínas cerebrais são extensivamente modificadas de forma pós-traducional.

Biomarcadores relacionados com a doença de Alzheimer

Foram desenvolvidos marcadores proteicos que refletem os processos patogénicos centrais na patologia de Alzheimer (DA), isto é, o distúrbio no metabolismo de beta amiloide (Aβ) e o respetivo depósito subsequente nas placas senis, a hiperfosforilação de proteína tau com a subsequente formação de tranças (tau fosforilada tau, P-tau) e a degeneração neuronal (tau total, T-tau).

PEPTÍDEOS AMILÓIDES

O principal componente de placas é um peptídeo denominado de beta amiloide (A β), o qual é um metabolito de clivagem da proteína precursora amiloide (APP). A APP é uma proteína de transmembrana única com o domínio A β parcialmente embebido na membrana. O A β é gerado por clivagem da APP através de duas proteases, as secretases β e γ . O A β livre é segregado para o LCR.

Existem duas variantes de C-terminal de A β principais, uma forma mais curta que termina no aminoácido 40 (A β_{40}) e uma forma mais longa que termina no aminoácido 42 (A β_{42}). A isoforma A β_{42} possui uma elevada tendência para agregação e é também a espécie de A β mais precoce depositada nas placas.

PROTEÍNA TAU

Tau é uma proteína normal localizada nos axónios neuronais do cérebro. A sua função é estabilizar a rede microtubular nos axónios ao ligar-se aos microtúbulos. Existem seis isoformas diferentes de tau, dependendo de quais são os exões do gene tau que são traduzidos para a proteína tau madura. Existem também inúmeros lugares de fosforilação, isto é, aminoácidos que podem ser fosforilados na proteína Tau. Como tal, a proteína Tau pode ser encontrada em variantes com diferentes graus de fosforilação.

O nível de T-tau do LCR reflete a intensidade da degeneração neural e axonal e danos no cérebro.

PROTEÍNA TAU HIPERFOSFORILADA

Na DA, um grupo fosfato está ligado a diversos aminoácidos na proteína tau e, desse modo, a tau é encontrada em variantes com diferentes graus de fosforilação. A tau fosforilada possui uma capacidade reduzida para ligar-se aos microtúbulos nos axões que afetam a estabilidade axonal e, consequentemente, a função neuronal, e que também proporcionam

à tau uma maior tendência de agregação nos filamentos helicoidais emparelhados que, por sua vez, formam os agregados de proteína maiores que compõem os novelos.

Biomarcadores relacionados com os corpos de Lewy

ALFA-SINUCLEÍNA

As sinucleinopatias caracterizam-se por agregados intraneuronais que consistem principalmente em alfa-sinucleína (α -syn) encontrados nos corpos Lewy e neurites Lewy na doença de Parkinson (DP), DP com demência (DPD) e Demência com corpos Lewy (DCL) e em inclusões citoplasmáticas gliais na atrofia multissistémica (AMS). Esta forma extracelular de α -syn é aparentemente segregada a partir de células neuronais por exocitose e é detetada no LCR como α -syn oligomérica fosforilada.

Biomarcadores associados a demência frontotemporal

As diversas doenças do espectro DFT estão associadas à acumulação cerebral de diferentes proteínas: tau, a proteína ligante de ADN de resposta transativa de 43 kDa (TDP43), ou a proteína fundida no sarcoma (PFS), a proteína de sarcoma Ewing e o fator 15 associado à proteína ligante do TATA (TAF15) (coletivamente conhecidas como proteínas FET).

PROTEÍNA LIGANTE DE ADN TAR DE 43KDA (TDP-43)

A TDP-43 é uma componente principal de inclusões de ubiquitina positivas que consistem num dos diferenciais neuropatológicos da esclerose lateral amiotrófica (ELA) e da degeneração lobar frontotemporal (DLFT). Apenas 50% dos pacientes com DLFT possui agregados positivos para TDP-43. Infelizmente, a TDP-43 no LCR tem origem principalmente no sangue. As medições de TDP-43 no LCR e no sangue têm menor importância como ferramenta de diagnóstico mas poderão ser importantes para monitorizar os efeitos terapêuticos de medicamentos modificados com TDP-43 no futuro.

PROTEINOPATIAS FET/FUS

Relatórios recentes identificaram mutações causadoras de doenças neurológicas nos genes que codificam uma família de proteínas de união de RNA (RBP) denominadas de FET. As proteínas de união de RNA (RBP) estão envolvidas em todos os estágios do metabolismo de RNA nas doenças neurodegenerativas. As proteínas FET são altamente conservadas e expressas ubiquamente. Recentemente, foi sugerido o envolvimento das

proteínas FET nas doenças neurológicas, tais como a degeneração lobar frontotemporal (DLFT) e a esclerose lateral amiotrófica (ELA), onde foram encontradas nos agregados citoplasmáticos. A co-acumulação anormal de proteínas FET nas inclusões patológicas foi descrita em todos os subtipos de FTLD-FUS. A FUS é a proteína mais examinada; a FUS está localizada nos grânulos dendríticos e colunas nos neurónios onde desempenha um papel no transporte de mRNA para os dendritos, o que representa um processo essencial para a síntese proteica local e a plasticidade sináptica. Não estão disponíveis marcadores relacionados com FET do LCR.

Depósitos associados a proteína de prião

PROTEÍNA DE PRIÃO PATOLÓGICA (PRPSC)

As doenças priónicas humanas são doenças neurodegenerativas rapidamente progressivas causadas por desnaturação de proteínas de prião. A doença de Creutzfeldt-Jakob esporádica (DCJe) é a forma mais comum (85–90% dos casos), seguida pela CJD genética (gCJD) e insónia familiar fatal (FI) (10–15% dos casos), as quais estão associadas a mutações pontuais ou de inserção no gene da proteína de prião (PRNP). Foram identificados diversos subtipos moleculares da doença Creutzfeldt-Jakob esporádica e foram reportados biomarcadores de eletroencefalograma e líquido cefalorraquidiano para suportar o diagnóstico clínico mas com utilidade variável, segundo o subtipo (critérios da OMS atualizados para o diagnóstico de DCJ e doenças relacionadas, 2009). O princípio para detetar a PrPSc é explorar a capacidade que pequenas quantidades de CSF PrPSc têm para converter PrP nativa em PrPSc num ensaio de agregação



NEUROFILAMENTOS COMO MARCADORES DE LESÃO AXONAL

Os neurofilamentos são filamentos intermediários intracelulares encontrados nos sistemas nervoso central e periférico. Nos neurónios, controlam o diâmetro axonal que está correlacionado com a velocidade de condução de nervos. As proteínas de neurofilamentos incluem três subunidades: neurofilamento de cadeia leve (NfL) de ~68 kDa, Nf de cadeia média de ~150 kD e Nf de cadeia pesada de ~190- 210 kDa. Após lesão axonal, os neurofilamentos intracelulares podem ser libertados para o espaço extracelular, conduzindo a uma maior concentração no LCR. O desempenho comparável do NfL no sangue e LCR demonstra a sua promessa como um biomarcador não-invasivo de neurodegeneração.

BIOMARCADOR ASTROGLIAL

A proteína S100B é uma proteína ligante de cálcio 11 kDa astroglial. Nas doenças neurodegenerativas clássicas (AD, PD, ALS), a concentração de S100B no LCR geralmente reflete a gravidade da condição patológica, enquanto que, em muitos casos, os níveis de S100B no sangue permanecem inalterados durante o decurso da doença. Contudo, o soro S100B é valioso na avaliação de lesões leves na cabeça.

BIOMARCADOR DE DANOS NEURONAIS

A enolase neuroespecífica (NSE) é uma isoenzima glicolítica localizada nos neurónios centrais e periféricos e nas células neuroendócrinas. A medição da NSE no LCR poderá ser um indicador sensível de danos neuronais. A NSE é considerada um biomarcador de stress neuronal e possui potencial de prognóstico para uma variedade de doenças neurológicas. Os níveis de NSE no soro são significativamente elevados em pacientes com conclusões neurológicas desfavoráveis numa variedade de doenças.

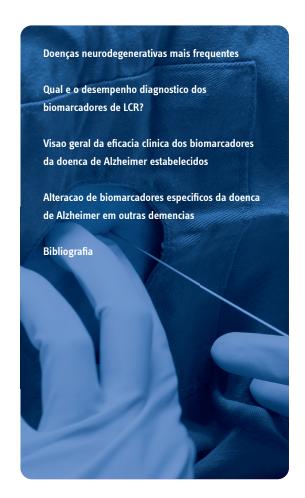
INFLAMAÇÃO NA NEURODEGENERAÇÃO

O recetor de desencadeamento expresso nas células mielóides 2 (TREM2) é uma proteína transmembranar que é especificamente expressa na microglia no cérebro. O TREM2 é um dos fatores mais cruciais na regulação do sistema imune inato durante a progressão da DA. O TREM2 solúvel (sTREM2) é o ectodomínio libertado numa forma solúvel. O sTREM2 é descrito como sendo um regulador central da função microglial e é sabido que o sTREM2 do LCR aumenta 5 anos antes do desencadeamento do sintoma previsto na DA.

BILBLIOGRAFIA

- TREM2 ectodomain and its soluble form in Alzheimer's disease.
 Yang J, et al. | Neuroinflammation. 2020; 17(1): 204. Review.
- New Insights into the Role of Neuron-Specific Enolase in Neuroinflammation, Neurodegeneration, and Neuroprotection.
 Haque A, et al. Brain Sci. 2018; 8(2): 33. Review.
- The S100B story: from biomarker to active factor in neural injury.
 Michetti F, et al. | Neurochem. 2019; 148(2): 168-187. Review.
- Scandinavian guidelines for initial management of minimal, mild and moderate head injuries in adults: an evidence and consensus-based update.
 Undén J, et al. Scandinavian Neurotrauma Committee (SNC). BMC Med. 2013; 11: 50. Practice Guideline.
- The diagnostic performance of neurofilament light chain in CSF and blood for Alzheimer's disease, frontotemporal dementia, and amyotrophic lateral sclerosis: A systematic review and meta-analysis.
 - Forgrave LM, et al. Alzheimers Dement (Amst). 2019; 11: 730-743.
- A/T/N: An unbiased descriptive classification scheme for Alzheimer disease biomarkers.
- Jack CR Jr, et al. Neurology. 2016; 87(5): 539-547. Review.
- Molecular Pathological Classification of Neurodegenerative Diseases: Turning towards Precision Medicine.
 - Kovacs GG. Int | Mol Sci. 2016; 17(2): 189. Review.

- Longitudinal CSF biomarkers in patients with early Parkinson disease and healthy controls.
- Mollenhauer B, et al. Parkinson's Progression Marker Initiative. Neurology. 2017; 89(19): 1959-1969.
- Post mortem cerebrospinal fluid β -synuclein levels are raised in multiple system atrophy and distinguish this from the other β -synucleinopathies, Parkinson's disease and Dementia with Lewy bodies.
- Foulds PG, et al. Neurobiol Dis. 2012; 45(1): 188-195.
- Neurochemical biomarkers in the diagnosis of frontotemporal lobar degeneration: an update.
- Oeckl P, et al. | Neurochem. 2016; 138 Suppl 1: 184-192. Review.
- Limited role of free TDP-43 as a diagnostic tool in neurodegenerative diseases.
- Feneberg E, *et al.* Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2014; 15(5-6): 351-356.
- Role of FET proteins in neurodegenerative disorders.
 Svetoni F, et al. RNA Biol. 2016; 13(11): 1089-1102. Review.
- Prion specific and surrogate CSF biomarkers in Creutzfeldt Jakob disease: diagnostic accuracy in relation to molecular subtypes and analysis of neuropathological correlates of p tau and $A\beta_{42}$ levels. Lattanzio F, *et al.* Acta Neuropathol. 2017; 133(4): 559–578.
- Cerebrospinal fluid real-time quaking-induced conversion is a robust and reliable test for sporadic creutzfeldt-jakob disease: An international study.
 McGuire Ll. et al. Ann Neurol. 2016; 80(1): 160-165. Multicenter study.
- Validation of 14-3-3 Protein as a Marker in Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease Diagnostic.
- Schmitz M, et al. Mol Neurobiol. 2016; 53(4): 2189-2199.
- Progress in CSF biomarker discovery in sCJD.
 Llorens F, et al. Oncotarget. 2017; 8(4): 5666-5667. Editorial.
- Cerebrospinal β-synuclein in β-synuclein aggregation disorders: tau/α-synuclein ratio as potential biomarker for dementia with Lewy bodies.
 Llorens F, et al. | Neurol. 2016; 263(11): 2271-2277.
- Prion Disease Induces Alzheimer Disease-Like Neuropathologic Changes.
 Tousseyn T, et al. | Neuropathol Exp Neurol. 2015; 74(9): 873-888.



Secção Dois

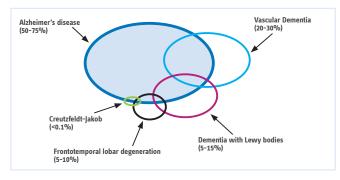
Funcionalidades clínicas e ensaios de biomarcadores neurodegenerativos no LCR

O **líquido cefalorraquidiano (LCR)** é a fonte ideal para os biomarcadores estabelecerem ante-mortem uma ligação entre as funcionalidades clínicas e as funcionalidades patológicas subjacentes.

As doenças neurodegenerativas cerebrais (DND) são comummente classificadas por apresentações clínicas distintas, por exemplo, défice no funcionamento cognitivo envolvendo a região anatómica que apresenta disfunção e perda neuronais. A maioria destas doenças seguem um curso de deterioração que leva à demência. 50-75% das demências deve-se à patologia de Alzheimer.

A maioria dos casos de doença são esporádicos, mas alguns são herdados de forma dominante. Nestes casos, a superexpressão de proteínas mutantes aumenta para fenótipos associados à doença frequentemente com ocorrência precoce da doença.

Demências neurodegenerativas mais frequentes



No caso de algumas doenças, apenas os critérios de fenótipos clínicos são utilizados para subtipagens, enquanto que em outros casos também podem ser tidas as consideração modificações bioquímicas ou polimorfismo do gene. A classificação ganha em termos de confiança com base na comprovação positiva da presença de depósitos de proteína patológicos no cérebro.

A acumulação de patologias cerebrais parece ser uma consequência quase inevitável do envelhecimento; existe frequentemente uma sobreposição de patologias concomitantes.

Qual é o desempenho diagnóstico dos biomarcadores de LCR?

Embora tenha sido estudada uma multiplicidade de biomarcadores de LCR para alterações patológicas específicas e marcadores não-específicos de danos oxidativos ou inflamação envolvidos em doenças neurodegenerativas, apenas três biomarcadores nucleares estão validados para um diagnóstico diferencial de DA, isto é, peptídeo Aβ₁₋₄₂ (Aβ42), tau total (T-tau) e a sua forma fosforilada (P-tau) medida in vitro utilizando amostras de LCR.

A α -Syn do LCR é estudada atualmente pelo seu valor positivo como biomarcador da Doença de Parkinson e no diagnóstico diferencial de DND, mas não está validada. Os ensaios comerciais atuais que detetam os níveis totais de α -syn não parecem ser capazes de distinguir a doença de corpos de Lewy de outras doenças neurodegenerativas.

A deteção de PrPSc no LCR é realizada apenas em laboratórios de referência para doenças priónicas com a proteína 14.3.3 não-específica.

Por enquanto, apenas os resultados de LCR $A\beta_{42}$ (ou razão de $A\beta_{42/40}$ de LCR), T-tau e P-tau podem ser utilizados no cenário clínico de rotina.

Visão geral da eficácia clínica dos biomarcadores da doença de Alzheimer estabelecidos

Biomarkers	Pathological specificity	Early diagnostic sensitivity	Correlation with disease progression
Neuropsychological testing	+	+ ++	
Αβ ₁₋₄₂	++	+++	+
T-tau	+	++	++
P-tau	+++	++	++
Magnetic resonance imaging	+	++	+++
Positron emission tomography FDG uptake	+	++	+++
Minimum (+), moderate (++), m	aximum (+++)		

As patologias concomitantes em indivíduos idosos levam a um subagrupamento clínico artificial traçado pelo fenótipo clínico dominante. As patologias cerebrais comuns associadas à idade são as placas de amiloide, os noveloss, a doença cerebrovascular isquémica mas também os micro enfartes, a esclerose hipocampal, os depósitos de alfa-sinucleína (corpos de Lewy), as inclusões de TDP43 e os grãos argirofílicos.

Um fenótipo clínico (típico, atípico ou indeterminado) e os biomarcadores nucleares do LCR que refletem as alterações dinâmicas do metabolismo de proteínas no cérebro ajudam a diferenciar o declínio neurodegenerativo patológico decorrente do envelhecimento normal.

Alteração de biomarcadores específicos da doença de Alzheimer em outras demências

Disorder	Total tau	Phosphorylated tau	β-amyloid (Αβω)	
Alzheimer's disease with dementia	Mild to moderate increase	Mild to moderate increase	Mild to moderate decrease	
Mild cognitive impairment with incipient AD	Mild to moderate increase	Mild to moderate increase	Mild to moderate decrease	
Stable MCI without progression	Normal	Normal	Normal	
Normal aging	Normal	Normal	Normal	
Depression	Normal	Normal	Normal	
Parkinson's disease	Normal	Normal	Normal	
Alcohol dementia	Normal	Normal	Normal	
Other neurological disorder such as PD, PSP and ALS	Normal	Normal	Normal	
Non-acute cerebrovascular disease	Normal	Normal	Normal	
Creutzfeldt-Jakob disease	Very marked increase	Normal or mild increase	Normal or mild decrease	
Frontotemporal dementia	Normal or mild increase	Normal	Normal or mild decrease	
Dementia with Lewy bodies	Normal or mild increase	Normal	Mild to moderate decrease	
Vascular dementia	Normal or mild increase	Normal	Normal or mild decrease	
AD = Alzheimer's disease; MCI = mild cognitive impairment; PD = Parkinson's disease; PSP = progressive supranuclear palsy; ALS = amyotrophic lateral sclerosis				

Fonte: K.Blennow, Laboratório Clínico de Neuroquímica, Hospital Universitário de Sahlgrenska, Suécia

BILBLIOGRAFIA

• Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: recommendations of the International Working Group.

Dubois B, et al. Lancet Neurol. 2021; 20(6): 484-496. Review.

 Recommendations for CSF AD biomarkers in the diagnostic evaluation of dementia.

Simonsen AH, et al. Alzheimers Dement. 2017; 13(3): 274-284. Review.

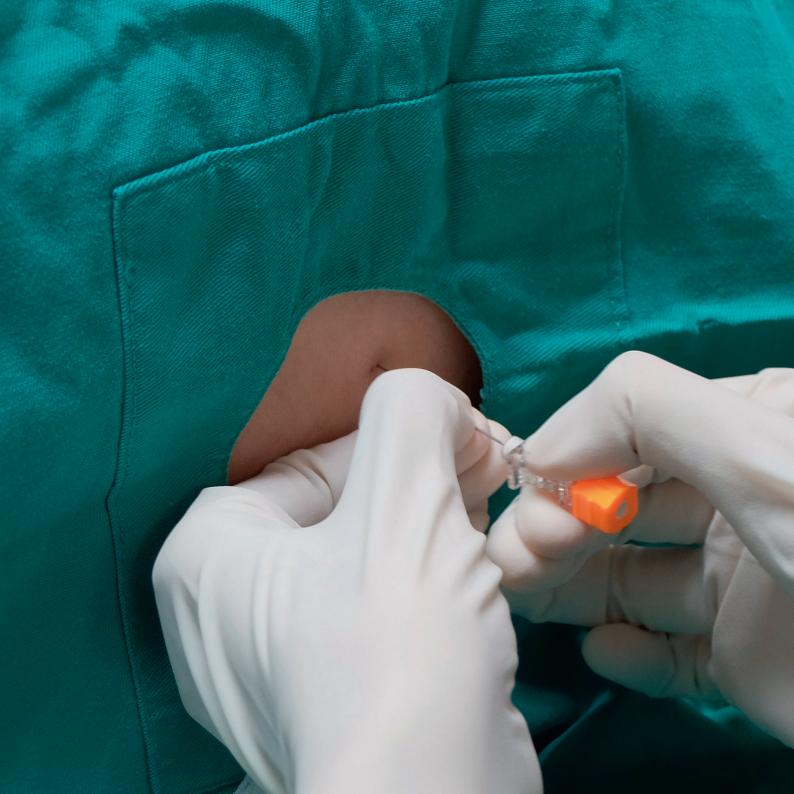
 Clinical utility of cerebrospinal fluid biomarkers in the diagnosis of early Alzheimer's disease.

Blennow K, et al. Alzheimers Dement. 2015; 11(1): 58-69. Review.

Biomarker modeling of Alzheimer's disease.

Jack CR Jr, et al. Neuron. 2013; 80(6): 1347-1358. Review.

• Fluid biomarkers in Alzheimer's disease - current concepts. Rosén C, *et al.* Mol Neurodegener. 2013; 8: 20. Review.





Secção Três

Manipulação e transporte de amostras de LCR

O líquido cefalorraquidiano (LCR) pode ser colhido na região lombar por um médico experiente. Tendo em conta as precauções necessárias (por exemplo, ambiente estéril) e outras investigações médicas (por exemplo, imagiologia cerebral), a punção lombar é geralmente aceite pela sociedade médica como um procedimento seguro.

A adsorção aos polímeros de plástico pode alterar as concentrações de biomarcadores e a extensão desta adsorção difere entre tubos. Como tal, utilize sempre o mesmo tubo de referência de polipropileno (num laboratório).

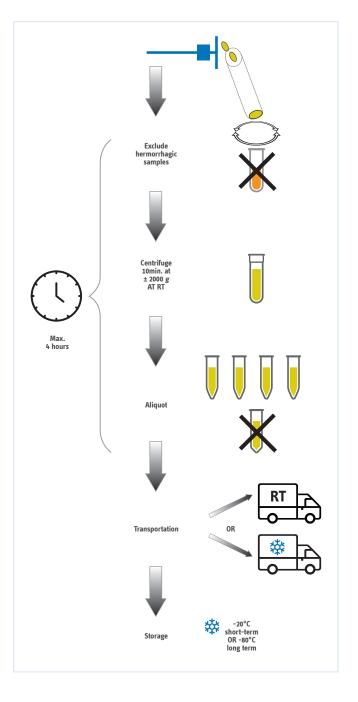
Procedimento recomendado

- 1. A amostra de LCR deve ser enviada para o laboratório local sem atraso.
- » Geralmente é realizada uma contagem das células de LCR
- » A amostra de LCR é centrifugada no tubo original
- A amostra de LCR é aliquotada para biomarcadores básicos e específicos de doença neurodegenerativa.
- » O LCR deve ser aliquotado em tubos de polipropileno
- » O volume necessário para análises de LCR poderá variar de laboratório para laboratório
- » O volume necessário para biomarcadores específicos de Alzheimer é entre 0.5 mL e 1.0 mL
- 3. Transporte: As amostras de LCR podem ser enviadas por correio normal, à temperatura ambiente se o tempo de expedição for inferior a dois dias. Se a amostra de LCR for colhida numa sexta-feira, pode ser congelada e expedida para o laboratório central em gelo seco na semana seguinte.
- Manipulação de amostras de LCR antes das análises de biomarcadores específicos
- » Todas as amostras de LCR devem ser congeladas uma vez antes das análises. As amostras de LCR expedidas à temperatura ambiente devem ser congeladas e as amostras de LCR expedidas congeladas devem ser mantidas congeladas.
- » A análise de amostras frescas à chegada poderá resultar em valores de biomarcadores de LCR ligeiramente diferentes em comparação com amostras congeladas mas é improvável que resulte num perfil de biomarcadores de LCR diferente.

BILBLIOGRAFIA

- The Alzheimer's Association international guidelines for handling of cerebrospinal fluid for routine clinical measurements of amyloid β and tau. Hansson 0, *et al.* Alzheimers Dement. 2021; 1-8.
- Measurement of CSF core Alzheimer disease biomarkers for routine clinical diagnosis: do fresh vs frozen samples differ?
 Bellomo G, et al. Alzheimers Res Ther. 2020; 12(1): 121.
- Towards a unified protocol for handling of CSF before β-amyloid measurements.

Janelidze S, et al. Alzheimers Res Ther. 2019; 11(1): 63.





Secção Quatro

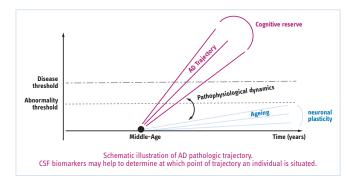
Interpretação de padrões bioquímicos de LCR

Doença de Alzheimer (DA) e estágios pré-clínicos

A doença de Alzheimer (DA) é a doença neurodegenerativa mais comum e demonstra um aumento exponencial da prevalência em idades avançadas além dos 60 anos. Geralmente são descritos três estágios: latência quando a doença já começou mas é assintomática, pródromo quando a doença avançou e estão presentes sinais e sintomas clínicos muito ligeiros e clínico quando a doença avançou e o espectro clínico completo é expresso.

É essencial compreender que a doença latente não pode ser distinguida da ausência de doença através de exame clínico ou ensaio neuropsicológico, ao invés, requer alguns some conjunto de métodos baseados em laboratório para detetar o início da doença na ausência de sintomas.

A rapidez com que paciente irá progredir na doença depende de fatores de aumentam o risco, tais como a idade, genes modificadores, reserva cognitiva, comorbidades, etc.

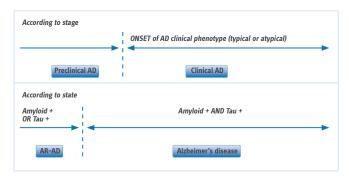


Biomarcadores patofisiológicos

Os indivíduos podem agora ser identificados como estando no estado préclínico pela comprovação in vivo da patologia de Alzheimer (PA), através de uma "assinatura" biológica ou molecular da DA.

A $A\beta_{42}$ de LCR e a TEP amiloide são altamente concordantes quando utilizadas para dicotomizar indivíduos como amiloides positivos ou amiloides negativos, demonstrando 80%–90% de concordância entre estudos. A razão de LCR $A\beta_{42/40}$ demonstra tipicamente concordância com a TEP acima de 90%.

A TEP Tau ligante não está sistematicamente disponível, a T-tau/P-tau do LCR é a ferramenta mais fácil para comprovação de tauopatia. Em alternativa, são utilizados marcadores topográficos que incluem alterações de volume no cérebro (atrofia hipocampal, espessura cortical) avaliadas por IRM e hipometabolismo de regiões neocorticais medidas por fluorodesoxiglicose (FDG)-PET.



From Dubois B, et al. Alzheimers Dement (2016) Abbreviations: AD, Alzheimer's disease; AR-AD, at risk for AD Os biomarcadores baseados no sangue otimizados e fiáveis ainda não estão prontos para aplicação clínica.

Apenas a associação de ambos os diferenciais patológicos define a DA mesmo na ausência de sintomas cognitivos.

Definição do limite de anormalidade para marcadores de LCR

O limite para "anormalidade" para biomarcadores de LCR é difícil de avaliar, especialmente nos indivíduos idosos clinicamente saudáveis. Estão disponíveis diversas abordagens para definir o que é anormal.

- i. anormalidade pode ser definida com base na comparação entre Cognitivamente normal (realizar uma colheita de LCR por quaisquer outras causas além das DND) e grupos de DA.
- iii. anormalidade pode ser definida com base na distribuição de valores numa população cognitivamente normal, na qual os indivíduos com valores que excedam, por exemplo, 2 desvios padrão (DP) abaixo ou acima da média possam ser considerados "anormais".
- iii.anormalidade pode ser definida com base na observação longitudinal do progresso clínico num grupo que começa como saudável e que regista um declínio para DA nas avaliações de acompanhamento.

Nos indivíduos de controle saudáveis, a assimilação cortical de agentes A β é baixa em comparação com pacientes que sofrem de DA prodromal do tipo hipocampal/DCL devido a DA(*) ou demência de DA completamente desenvolvida. Contudo, uma proporção significativa de idosos cognitivamente saudáveis demonstra o aumento de A β cortical ligante e a diminuição de A β 42 de LCR. Esta conclusão é suportada por dados histopatológicos postmortem que apresentam placas A β 4 acima de 30% da população idosa não-demente com mais de 75 anos de idade, representando provavelmente DA pré-clínica. (*) DCL devido a DA, deteriorção cognitiva ligeiro devido a etiologia de Alzheimer.

Os níveis de T-tau do LCR aumentaram com a idade e foram mais altos nos portadores de ApoE $\varepsilon 4$. O polimorfismo da apolipoproteína E (ApoE) é o fator genético mais amplamente aceite que aumenta o risco de DA esporádica. Os portadores ApoE $\varepsilon 4$ poderão ter predisposição para doenças vasculares o que, por sua vez, poderá contribuir para danos cerebrais relacionados com a idade e, como tal, para níveis elevados de T-tau.

Em conclusão, um número substancial de indivíduos saudáveis com mais de 60 anos de idade (25-40%) possui pelo menos uma concentração de biomarcadores de LCR em intervalos que podem ser considerados anormais. Para minimizar o fator de risco relacionado com a idade, a "normalidade" poderá ser definida utilizando resultados de indivíduos clínica e cognitivamente normais com menos de 50 anos de idade.

Observação: Os ensaios comerciais para a medição de biomarcadores de LCR com a marca CE para diagnósticos in vitro propõem um intervalo estimado de valores normais em uma população europeia.

Combinação de biomarcadores de LCR para acrescentar sua efetividade no prognóstico

T-tau, P-tau e $A\beta_{n2}$ de LCR são valiosos como biomarcadores de DA. No momento, a sua força reside principalmente na sua capacidade de suportar critérios de etiologia neurodegenerativa para DCL e DA e a sua capacidade razoável para prever a conversão de DCL para DA. Uma combinação de biomarcadores parece ser mais útil no prognóstico do que um analito individual.

A tabela seguinte publicada por Mattsson N, et al. (2012) resume as especificidades e razões de probabilidade em limites para 85% de sensibilidade para demência de DA de acordo com as faixas etárias. A especificidade de biomarcadores de LCR diminui com a idade, como efeito da alta prevalência de DA em idades mais avançadas, mas as razões de probabilidade melhoram quando os biomarcadores de LCR são combinados.

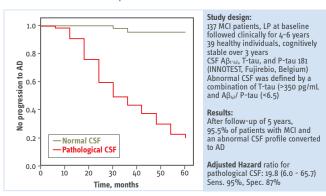
	Cross-sectional cohort (AD dementia and controls)		Longitudinal cohort (MCI)			
Biomarker and age group (years)	Specificity (controls)	LR+	LR-	Specificity (sMCI/MCI-other)	LR+	LR-
Αβ ₄₂						
≤64	82	4.9	0.13	77	3.2	0.33
65-74	82	4.6	0.18	56	1.9	0.28
≥75	73	3.2	0.19	60	2.1	0.29
T-tau						
≤64	74	3.3	0.20	65	2.3	0.29
65-74	53	1.8	0.28	49	1.8	0.19
≥75	61	2.2	0.24	46	1.5	0.38
P-tau						
≤64	67	2.6	0.22	55	1.6	0.48
65-74	46	1.6	0.31	44	1.6	0.23
≥75	37	1.4	0.40	30	1.2	0.54
Combination						
≤64	95	18	0.14	86	5.5	0.27
65-74	83	5.1	0.16	65	2.4	0.21
≥75	80	4.3	0.16	61	2.1	0.29

Abbreviations: AD = Alzheimer's disease; LR = Likelihood ratio; MCI = Mild cognitive impairment; sMCI = Stable mild cognitive impairment. All measurements are calculated at the 85% sensitivity cutoff value for AD dementia.

Os biomarcadores de LCR em combinação, por exemplo, uma baixa concentração do peptídeo de A β_{u2} de LCR baixo com tau total e tau fosforilada elevadas, são sensíveis e biomarcadores específicos altamente preditivos do progresso para demência de DA em pacientes com deterioração cognitiva ligeiro e da presença de etiologia de DA mesmo em populações idosas.

Os marcadores de LCR para estratificação de riscos e valor preditivo da DA

Modelo 1: Risco de DA adaptado de Hansson O, et al, Lancet Neurol 2006



Estudo longitudinal monocêntrico da associação entre biomarcadores de LCR e DA incipiente – (Hansson O, et al, 2006). O período de acompanhamento foi alargado (5-10 anos) publicado por Buchhave P, et al. (2012).

95.5 % dos pacientes com deterioração cognitiva ligeiro e LCR anormal evoluiram para DA.

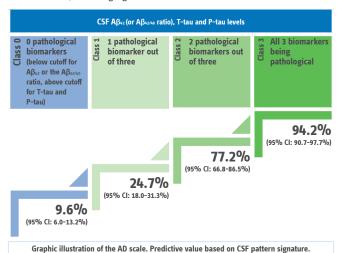
Modelo 2: Risco de DA adaptado de Lewczuk P. et al. J Neural Transm. 2009; | Alzheimers Dis. 2015; Somers C, et al., | Alzheimer Dis. 2019

Erlangen Score					
	Aβ _{1-4,2} normal (+0)	Aβ ₁₋₄₂ in border zone (+1)	Aβ _{1-4,2} pathologic (+2)		
T-tau/P-tau ₁₈₁ normal (+0)	0	1	2		
T-tau/P-tau ₁₈₁ in border zone (+1)	1	2	3		
T-tau/P-tau ₁₈₁ pathologic (+2)	2	3			
Comprehensive interpretation and semi-quantitive presentation of all possible paterns of CSF AD biomarkers					

A contagem de Erlangen validou utilizando dois cortes de indivíduos com pré-demência, a Rede Alemã de Competência em Demências (DCN, n = 190 indivíduos com DCL) e a US ADNI 1 (ADNI, n = 292 DCL ou indivíduos cognitivamente normais (CN). A contagem de Erlangen utiliza uma abordagem de gráficos de risco.

Os resultados de LCR de um determinado paciente são pontuados entre 0 e 4 pontos. Um resultado de LCR com todos os biomarcadores completamente normais conta 0 pontos; um padrão com apenas alterações marginais num grupo de biomarcadores (A β ou Tau, mas não ambos) resulta na contagem de 1; um resultado de LCR com as alterações em metabolismo de A β (diminuição da concentração de A β ₄₂ e/ou diminuição da razão de A β ₄₂ (dou De-Tau) mas não ambas conta 2 pontos; um resultado com alterações claras num grupo de biomarcadores (A β ou Tau) acompanhado por alterações marginais no outro grupo conta 3 pontos; alterações claras na A β e na T-tau/P-Tau resulta em 4 pontos.

Modelo 3: Risco de DA adaptado de Lehmann S, et al. Alzheimers Res Ther. 2014; Front Aging Neurosci. 2018



O valor preditivo geral da escala para DA relativo às diferentes categorias (N= 1,273 pacientes incluíram 646 DA e 627 não-DA) de seis cortes clínicos

de memória independentes.

Representation of lesional burden in the brain via CSF biomarkers levels.

A avaliação de riscos de DA poderá integrar a razão $A\beta_{42/40}$ (em vez de $A\beta_{42}$) responsável pela diferença inter individual no processamento da APP amiloidogénica.

Estas escalas simples que utilizam a presença de dois ou três biomarcadores patológicos como critério de DA podem ser utilizados para facilitar a interpretação do padrão de LCR na rotina.

Observação: As duas últimas ilustrações de contagem de riscos são independentes dos valores de limite, o que significa que cada laboratório pode facilmente suplementá-la com os valores de limite e intervalos normais/anormais, de acordo com o método analítico utilizado para a medição de biomarcadores.

Interpretação de padrões bioquímicos de LCR

A combinação de biomarcadores de LCR permite um diagnóstico de DA nos estágios iniciais da doença. Não obstante, a identificação clínica de défice cognitivo e a utilização de imagiologia cerebral estrutural (TC/IRM) e funcional (SPECT/PET) são necessárias para um diagnóstico diferencial preciso com outras doenças neurodegenerativas. As patologias mescladas, especialmente em indivíduos idosos, são frequentes.

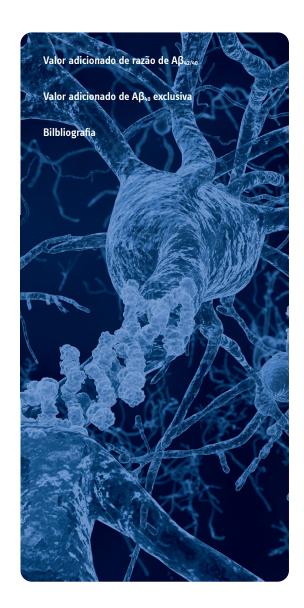
BILBLIOGRAFIA

- Amyloid-β PET—Correlation with cerebrospinal fluid biomarkers and prediction of Alzheimer's disease diagnosis in a memory clinic.
 Müller EG, et al. PLoS One. 2019; 14(8): e0221365. Observational Study.
- Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria.
- Dubois B, et al. Proceedings of the Meeting of the International Working Group (IWG) and the American Alzheimer's Association on "The Preclinical State of AD"; July 23, 2015; Washington DC, USA. Alzheimers Dement. 2016; 12(3): 292-323. Review.
- Clinical utility of cerebrospinal fluid biomarkers in the diagnosis of early Alzheimer's disease.
- Blennow K, et al. Alzheimers Dement. 2015; 11(1): 58-69. Review.
- Rethinking on the concept of biomarkers in preclinical Alzheimer's disease.
 Berti V, et al. Neurol Sci. 2016; 37(5): 663-672. Review.
- Interpreting Biomarker Results in Individual Patients with Mild Cognitive Impairment in the Alzheimer's Biomarkers in Daily Practice (ABIDE) Project.
 van Maurik IS, et al. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. JAMA Neurol. 2017; 74(12): 1481-1491.
- The effects of normal aging and *ApoE* genotype on the levels of CSF biomarkers for Alzheimer's disease.

 Glodzik-Sobanska L, *et al.* Neurobiol Aging. 2009; 30(5): 672-681.
- Cerebrospinal fluid biomarkers of Alzheimer's disease in cognitively healthy elderly.
- Randall C, et al. Front Biosci (Landmark Ed). 2013; 18: 1150-1173. Review.
- Increased cerebrospinal fluid F2-isoprostanes are associated with aging and latent Alzheimer's disease as identified by biomarkers.
 Montine TI. et al. Neuromolecular Med. 2011; 13(1): 37-43.
- Cerebrospinal fluid markers for Alzheimer's disease in a cognitively healthy cohort of young and old adults.
- Paternicò D, et al. Alzheimers Dement. 2012; 8(6): 520-527. Comparative Study.

- Age and diagnostic performance of Alzheimer disease CSF biomarkers.
 Mattsson N, et al. Neurology. 2012; 78(7): 468-476.
- Prevalence of cerebral amyloid pathology in persons without dementia: a meta-analysis.
- Jansen WJ, et al. JAMA. 2015; 313(19): 1924-1938. Meta-Analysis.
- Cerebrospinal fluid biomarkers and prediction of conversion in patients with mild cognitive impairment: 4-year follow-up in a routine clinical setting.

 Lanari A, et al. Scientific World Journal. 2009; 9: 961-966.
- Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study.
 Hansson O, et al. Lancet Neurol. 2006; 5(3): 228-234. Comparative Study.
- Cerebrospinal fluid levels of β-amyloid 1-42, but not of tau, are fully changed already 5 to 10 years before the onset of Alzheimer dementia.
 Buchhave P, et al. Arch Gen Psychiatry. 2012; 69(1): 98-106. Comparative Study.
- A diagnostic scale for Alzheimer's disease based on cerebrospinal fluid biomarker profiles.
- Lehmann S, et al. Alzheimers Res Ther. 2014; 6(3): 38.
- Relevance of $A\beta_{42/40}$ Ratio for Detection of Alzheimer Disease Pathology in Clinical Routine: The PLMR Scale.
 - Lehmann S, et al. Front Aging Neurosci. 2018; 28(10):138
- Neurochemical dementia diagnostics: a simple algorithm for interpretation of the CSF biomarkers.
 - Lewczuk P, et al. | Neural Transm (Vienna). 2009; 116(9): 1163-1167.
- Validation of the Erlangen Score Algorithm for the Prediction of the Development of Dementia due to Alzheimer's Disease in Pre-Dementia Subjects.
- Lewczuk P, et al. | Alzheimers Dis. 2015; 48(2): 433-441.
- Validation of the Erlangen Score Algorithm for Differential Dementia Diagnosis in Autopsy-Confirmed Subjects.
- Somers C, et al. | Alzheimers Dis. 2019; 68(3): 1151-1159.



Secção Cinco

Depósito e depuração de Aβ: uma funcionalidade crucial do envelhecimento do cérebro

A $A\beta_{40}$ é a mais abundante e menos neurotóxica do que a $A\beta_{42}$, a qual é menos abundante, altamente insolúvel, gravemente neurotóxica e mais propensa a agregação.

Os peptídeos amilóides podem ser degradados por metaloproteinases, astrócitos ou macrófagos ou são transportados através da barreira hemato-encefálica por via da proteína-1 relacionada com o recetor da lipoproteína de baixa densidade (LBD) e drenados por via do sistema linfático.

As vias patogénicas de angiopatia amiloide cerebral (AAC) e de DA intersectam-se nos níveis de geração de $A\beta$, na sua circulação no líquido intersticial e nas vias de drenagem perivasculares e na sua depuração cerebral,

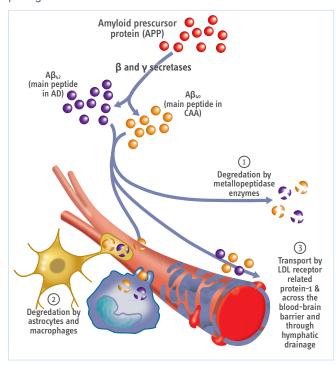
- Aβ₆₀: Principalmente associada ao depósito de Aβ vascular
- Aβ_ω: Principalmente associada ao depósito de Aβ de placas

Os depósitos vasculares também contêm $A\beta_{42}$, mas a razão de $A\beta_{42/40}$ é superior à razão nas placas.

O défice de drenagem perivascular induz um ciclo de autofortalecimento de depósito de Aβ, perda de células musculares lisas vasculares e vasoatividade e posterior redução da depuração, causando no geral AAC.

As vias de DA e AAC parecem divergir no que diz respeito ao modo como causam lesão dos tecidos: A patologia de DA promove a perda neuronal e sináptica, enquanto que a AAC gera lesões focais dos tecidos por via de lesão cerebral vascular hemorrágica e isquémica.

A AAC ocorre em 85% a 95% dos pacientes com DA, tem um impacto significativo na saúde dos vasos e tem uma contribuição importante para a patologia cerebrovascular na DA.



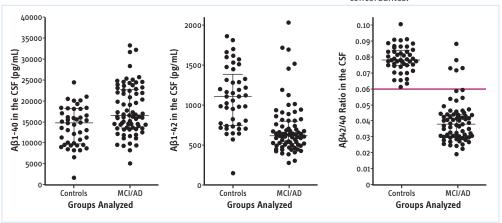
Source: DeSimone CV, et al., J Am Coll Cardiol. 2017; 70(9): 1173–1182. © 2017 by the American College of Cardiology Foundation. Cerebral Amyloid Angiopathy - Mechanism of Production, Degradation, and Deposition of Aβ in Cortical Arteries.

Valor adicionado de razão de Aβ_{42/40}

O peptídeo A β é produzido a partir de uma proteína precursora A β transmembranar (APP), sequencialmente clivada por secretase β e γ . A clivagem de APP por secretase γ gera inúmeras isoformas A β . A β_{42} , um peptídeo com 42 aminoácidos, tem a propensão mais alta para agregação e parece ser a espécie predominante nas placas neuríticas. Embora a concentração de A β_{40} tenha sido reportada como inalterada na DA, a razão A $\beta_{42/40}$ foi sugerida como sendo superior para a concentração de A β_{42} exclusiva na discriminação de pacientes com DA.

Numa população de indivíduos normais e pacientes com DA, a distribuição de A β total (40 e 42) segue uma distribuição gaussiana para ambos os indivíduos normais e pacientes com DA, com A β_{40} perfazendo cerca de 70% da A β total. Além disso, embora muitos casos se enquadrem na média da distribuição, tendo a maioria A β normalmente total, estão ainda assim presentes casos atípicos. Alguns pacientes com DA têm A β total elevada (processamento amiloidogénico aperfeiçoado da Proteína Precursora Amiloide (APP), também denominada de "produtoras elevadas" e alguns indivíduos cognitivamente normais terão processamento de A β total baixa (amiloidogénica reduzida) da Proteína Precursora Amiloide (APP), também denominada de "produtoras baixas".

Isto significa que os pacientes com DA com uma A β total alta apresentarão um padrão de LCR incompleto e vice-versa, os indivíduos normais com A β total baixa serão classificados como indivíduos com sinal de amiloidose cerebral. Nos três casos (A β total normal, baixa e alta), a razão pode classificar corretamente algum padrão de LCR duvidoso. A razão levou a uma redução em metade do número de perfis indeterminados sem alterar a conclusão quando os biomarcadores comuns (A β ₄₂ e P-tau) foram concordantes.



Existe um consenso em reconhecer que a razão de $A\beta_{42/40}$ é útil para:

- refletir a diferença inter individual no processamento da APP amiloidogénica
- solucionar perfis de biomarcadores nucleares indeterminados da DA
- diminuir o impacto de fontes de variabilidade pré-analíticas e analíticas nos e entre os centros

♦ Lewczuk et al, | Alzheimers Dis, 2015

Valor adicionado de Aβ₄₀ exclusiva

O diagnóstico de AAC exclusivamente baseado nos achados de IRM não é claro. A imagiologia amiloide com ligantes de tomografia por emissão de positrões (PET) de ligação amiloide pode detetar a AAC, embora não possa discriminar depósitos amilóides vasculares de depósitos vasculares parenquimais. Além disso, os marcadores de LCR podem ser úteis, incluindo níveis de $A\beta_{40}$ para AAC e anticorpo anti- $A\beta$ para inflamação relacionada com AAC (CAA-ri).

Descobertas recentes indicam que a presença de um ou mais biomarcadores acrescidos de um ou mais fatores de risco podem ser sugestivos de AAC:

- · Imagens amiloide com assimilação occipital superior
- Uma diminuição dos níveis de Aβ₄₀ no líquido cefalorraquidiano (LCR)

Fatores de risco

- Fatores gerais:
- » Idade avançada
- » Doença de Alzheimer
- · Fatores genéticos:
- » Mutações de genes relacionadas com AAC em casos familiares
- » Gene da apolipoproteína E em casos esporádicos: £4 como um fator de risco de AAC

Impacto de ser portador do alelo APOE 84

A patologia de A β cerebral está indiscutivelmente associada ao estado da APOE ϵ 4. Ser portador do alelo ϵ 4 do gene APOE que codifica a apolipoproteína E (APOE ϵ 4) aumenta marcadamente o risco de DA e AAC. A patologia de amiloide- β mediada pela APOE ϵ 4 depende da sua proteína 1 relacionada com o recetor LBD neuronal (LRP1).

A APOE $\epsilon 4$ diminui a depuração de A β sem afetar a produção de A β . De acordo com o conceito atual, a A β que se acumula no cérebro na DA devese provavelmente à sua depuração defeituosa a partir do cérebro. A LRP1 é um transportadora de efluxo fundamental para A β na barreira hematoencefálica (BHE). A ligação de A β à LRP1 no lado abluminal da BHE inicia uma depuração rápida de A β a partir do cérebro para o sangue por via de transcitose ao longo da BHE.

Em suma, A deterioração cognitiva no cérebro envelhecido é tipicamente devido à sobreposição de patologias neurodegenerativas e cerebrovasculares. A depuração perivascular deficiente de A β e a LRP1 neuronal deficiente exacerbam a acumulação cerebral de peptídeos de amiloide- β (A β) e subsequente depósito – a causa mais provável de AAC e DA.

BILBLIOGRAFIA

 AP0E4-mediated amyloid-beta pathology depends on its neuronal receptor IRP1.

Tachibana M, et al. J Clin Invest. 2019; 129(3): 1272-1277.

 Core cerebrospinal fluid biomarker profile in cerebral amyloid angiopathy: A meta-analysis.

Charidimou A, et al. Neurology. 2018; 90(9): e754-e762. Review.

 Cerebral amyloid angiopathy and Alzheimer disease - one peptide, two pathways.

Greenberg SM, et al. Nat Rev Neurol. 2020; 16(1): 30-42. Review.

Cerebral amyloid angiopathy: emerging concepts.
 Yamada M. | Stroke. 2015; 17(1): 17-30. Review.

• Cerebrospinal Fluid $A\beta_{42/40}$ Corresponds Better than $A\beta_{42}$ to Amyloid PET in Alzheimer's Disease.

Lewczuk P, et al. | Alzheimers Dis. 2017; 55(2): 813-822.

 Cerebrospinal fluid amyloid-β _{4,2/40} ratio in clinical setting of memory centers: a multicentric study.

Dumurgier J, et al. Alzheimers Res Ther. 2015; 7(1): 30.

• Additional use of $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ ratio with cerebrospinal fluid biomarkers P-tau and $A\beta_{42}$ increases the level of evidence of Alzheimer's disease pathophysiological process in routine practice.

Sauvée M, et al. | Alzheimers Dis. 2014; 41(2): 377-386. Comparative Study.

 Amyloid beta peptide ratio 42/40 but not A beta 42 correlates with phospho-Tau in patients with low- and high-CSF A beta 40 load.
 Wiltfang |, et al. | Neurochem. 2007; 101(4): 1053-1059. Comparative

Studv.



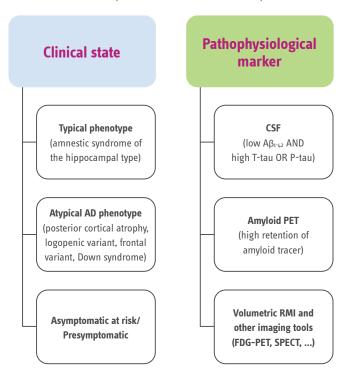


Secção Seis

Novos critérios para DA

Foram sugeridos novos critérios para diferentes estágios da DA pelo Grupo de Trabalho Internacional (IWG - International Working Group) e pelo Instituto Nacional de Envelhecimento - Associação para a Doença de Alzheimer (NIA-AA - National Institute on Aging-Alzheimer's Association) (Dubois B, et al. 2007; Albert MS, et al. 2011; McKhann GM, et al. 2011; Sperling M, et al. 2011; Dubois B, et al. 2014; Dubois B, et al. 2021).

Estes critérios foram desenvolvidos de modo a permitir um diagnóstico da DA em estágios precoces da doença e centram-se na identificação clínica de subtipos de deterioração cognitiva juntamente com um ou mais biomarcadores anormais, incluindo os marcadores de IRM. PET e LCR.



De modo a aumentar a certeza do diagnóstico, os critérios para a doença de Alzheimer incorporam a comprovação de biomarcadores para patologia, os quais podem ser obtidos por meio de neuroimagiologia (aquisições por IRM de atrofia, aquisições por PET com ¹⁸F-fluorodeoxiglicose de hipometabolismo cerebral e aquisições por PET amiloide de depósito β-amiloide) e ensaio de LCR (diminuição das concentrações de β-amiloide e aumento das concentrações de tau total ou de tau hiperfosforilada).

	Abnormality	Pathology	
MRI			
Regional anatomy	Descreased volume of hippocampus and other temporal lobe structures	Tissue loss and neurodegeneration	
PET			
¹⁸ F-FDG PET	Descreased uptake in posterior cingulate-precuneus and temporopariental cortex	Glucose hypometabolism and neurodegeneration	
"C-PiB and fluorinated tracers for amyloid PET*	Increased cortical retention	Deposition of $\beta\text{-amyloid}$ in the cortex	
CSF measures			
$A\beta_{42}$ or $A\beta_{42/40}$	Descreased volume of hippocampus and other temporal lobe structures	Abnormal metabolism of β-amyloid	
T-tau and P-tau	Increased concentration	Neuronal damage and accumulation of tau pathology; hyperphosphorylated tau is more specific for Alzheimer's disease neurodegeneration	

*Using tracers such as florbetapir, flutemetamol, and florbetaben.

Estes critérios ampliam o espectro da doença de modo a incluir os seus estados pré-clínicos, nos quais a patologia de Alzheimer existe sem sintomas clínicos.

Clinical phenotypes

Typical

- Amnestic syndrome of the hippocampal type Atypical
- · Posterior cortical atrophy
- · Logopenic variant
- Frontal variant

Preclinical states

Asymptomatic at risk

- No AD phenotype (typical or atypical)
 Presymptomatic (autosomal dominant mutation)
- No AD phenotype (typical or atypical)

Required pathophysiological marker

- CSF (low Aβ₄₂ and high T-tau or P-tau)
- or
- · Amyloid PET (high retention of amyloid tracer)

Figure: AD is defined as a clinicobiological entity

A simplified algorithm is proposed: in any condition and at any stage of the disease, the diagnosis of AD relies on the presence of a pathophysiological marker. AD-Alzheimer's disease.

Sistema AT(N)(C) na doença de Alzheimer

Mais recentemente, o Instituto Nacional de Envelhecimento – Associação para a Doença de Alzheimer (NIA-AA - National Institute on Aging-Alzheimer's Association) (Jack CR et al. 2018) propôs definir exclusivamente a doença de Alzheimer (DA) através das suas alterações neuropatológicas subjacentes que podem ser documentadas pelos biomarcadores em pessoas vivas. O perfil de biomarcadores (processo patológico) e os estágios cognitivos representam fontes de informação independentes. A definição e a degradação da gravidade da doença são avaliadas pela construção biológica da DA ao longo do seu espectro completo como um continuum.

AGRUPAMENTO DE BIOMARCADORES AT(N)

- A: Peptídeos amilóides A β agregados ou estado patológico associado (A β_{uz} do LCR ou razão de A $\beta_{uz/uc}$; PET amiloide)
- T: Tau agregada (tranças neurofibrilares) ou estado patológico associado (tau fosforilada do LCR; Tau PET)
- (N): Neurodegeneração ou lesão neuronal (IRM anatómica; FDG PET; tau total do LCR)

BIOMARCADORES DE LCR (LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO) VERSUS BIOMARCADORES DE IMAGIOLOGIA

- o estado patológico ativo contínuo é denotado pelo LCR
- a acumulação de carga neuropatológica e localização no cérebro é denotada por imagiologia

DEFINIÇÃO DO CONTINUUM DE ALZHEIMER

- A: Os biomarcadores amiloides ($A\beta_{u_2}$ ou a razão de $A\beta_{u_2/u_0}$ para LCR) determinam se um indivíduo se encontra ou não potencialmente no continuum de Alzheimer.
- T: os biomarcadores de tau patológicos (P-tau para LCR) determinam se alguém que se encontra no continuum de Alzheimer possui uma doença de Alzheimer.

ESTÁGIOS DA GRAVIDADE

- (N): Os biomarcadores de lesão neurodegenerativa/neuronal (tau total para LCR) fornecem um poderoso prognóstico de declínio cognitivo futuro.
- (C): Os sintomas cognitivos determinam os estágios cognitivos categóricos sindrómicos independentemente da etiologia.

Nota: A e T são alterações neuropatológicas específicas da DA, enquanto que (N) e (C) não são específicas da DA e, como tal, são colocados entre parênteses.

FLEXIBILIDADE DO SISTEMA AT(N)

 - cada grupo de biomarcadores está marcado como (-) normal, (+) anormal ou (*) não determinado

Por exemplo, A+T+(N)+ para categorizar alterações patológicas da DA

 em alternativa à abordagem binária, cada grupo de biomarcadores também poderá ser marcado semi-quantitativamente (0) claramente normal, (1) intermédio / alterado marginalmente ou (2) claramente anormal.

Por exemplo, A²T¹(N)¹ categoriza o perfil da DA ou A²T⁰(N)⁰ se apenas o biomarcador Amiloide for claramente anormal

- novos grupos de biomarcadores além de AT(N) podem ser adicionados quando se tornarem disponíveis.

Estas diretrizes permitiriam um importante avanço na direção da harmonização da interpretação de biomarcadores num medicamento personalizado.

- A combinação de uma Aβ anormal e um biomarcador de tau patológico constitui DA independentemente dos sintomas cognitivos e, como tal, a DA é uma entidade definida biologicamente.
- Os estágios da gravidade dos sintomas cognitivos são independentes da patologia evidenciada. O sistema categórico sindrómico preserva as três categorias clínicas: sem deterioração cognitiva, deterioração cognitiv ligeiro e demência.

BILBLIOGRAFIA

- Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: recommendations of the International Working Group.
- Dubois B, et al. Lancet Neurol. 2021; 20(6): 484-496. Review.
- NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's
 disease
- Jack CR Jr, et al. Alzheimers Dement. 2018; 14(4): 535-562. Review.
- Strategic roadmap for an early diagnosis of Alzheimer's disease based on biomarkers.
- Frisoni GB, et al. Lancet Neurol. 2017; 16(8): 661-676. Review.
- Are CSF Biomarkers Useful as Prognostic Indicators in Diagnostically Unresolved Cognitively Impaired Patients in a Normal Clinical Setting. Schjønning Nielsen M, et al. Dement Geriatr Cogn Dis Extra. 2016; 6(3): 465-476.
- Recommendations for cerebrospinal fluid Alzheimer's disease biomarkers in the diagnostic evaluation of mild cognitive impairment.
- Herukka SK, et al. Alzheimers Dement. 2017; 13(3): 285-295. Review.



Secção Sete

Visão futura sobre os marcadores sanguíneos

Enquanto que o líquido cefalorraquidiano (LCR) troca continuamente líquido extracelular com o cérebro, apenas uma fração entra na corrente sanguínea. A barreira hemato-encefálica (BHE), o espaço perivascular e o sistema glinfático são responsáveis pela drenagem de solutos para o sangue e por manter a homeostase cerebral ao longo do ciclo de vida.

Os analitos cerebrais libertados para o sangue poderão ser degradados por proteases, metabolizados no fígado e depurados pelos rins.

Como consequência, observa-se frequentemente o seguinte:

- · Uma falta de correlação entre as concentrações de LCR e de plasma,
- Uma grande sobreposição entre os pacientes e os controlos,
- Uma variabilidade individual ampliada por distúrbios cumulativos relacionados com a idade (comorbidades) que introduzem uma maior variação no sangue do que no LCR.

Não obstante, em combinação com fatores de risco relacionados com o paciente (por exemplo, cardiovasculares, metabólicos), os marcadores sanguíneos poderão ser úteis como uma ferramenta de rastreio para pacientes em risco de desenvolverem demência – especialmente quando estiverem disponíveis medicamentos modificadores da doença.

- Razão de $A\beta_{4^{2/4}o}$ detetada no plasma significativamente mais baixa em casos de DCL e DA comparativamente aos controlos.
- Em contraste com a proteína tau, o NfL no plasma (neurofilamento leve) poderá servir para excluir a neurodegeneração no futuro.
- A análise longitudinal da p-tau no plasma como um biomarcador não-invasivo poderá ajudar a rastrear a progressão da doença na DA e a monitorizar os efeitos da terapêutica modificadora da doença nos ensajos clínicos.

BILBLIOGRAFIA

- Biomarkers for neurodegenerative diseases. Hansson O. Nat Med. 2021; 27(6): 954-963. Review.
- Longitudinal plasma phosphorylated tau 181 tracks disease progression in Alzheimer's disease.
- Chen SD, et al. Transl Psychiatry. 2021; 11(1): 356.
- Plasma biomarkers of Alzheimer's disease improve prediction of cognitive decline in cognitively unimpaired elderly populations.
 Cullen NC, et al. Nat Commun. 2021: 12(1): 3555.
- Performance of Fully Automated Plasma Assays as Screening Tests for Alzheimer Disease-Related β-Amyloid Status.
 Palmqvist S, et al. |AMA Neurol. 2019; 76(9): 1060-1069.
- Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future.
- Blennow K, et al. J Intern Med. 2018; 284(6): 643-663. Review.
- CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease:
 a systematic review and meta-analysis.

Olsson B, et al. Lancet Neurol. 2016; 15(7): 673-684. Review.

GLOSSÁRIO

GEOSSAIN	10				
DA	Doença de Alzheimer	FET	Fundido em proteína sarcoma, Ewing TATA	PET	Tomografia de emissão de pósitrons
ELA	Esclerose lateral Amiotrófica		proteína sarcoma e ligação fator associado	PRNP	Gene de proteína prnp prion
APOE	Apolipoproteína E		à proteína 15, coletivamente conhecidas	PrPSc	Proteína prion patológica
PPA	Proteína precursora Amiloide		como proteínas FET	P-tau	Fosforilado tau
AT(N)+(C)	Sistema de encenação e classificação	DFT	Demência frontotemporal	RBP	Proteína de ligação de RNA
NIA-AA	(A = patologia amiloide;	DLFT	Degeneração do lobo frontotemporal	RT-QuIC	Conversão induzida por tremores RT-QuIC
	T = patologia tau: N =	FUS0	Fundido em proteína sarcoma		em tempo real
	neurodegeneração; C = cognição	gCJD	Doença de Creutzfeldt-Jakob genético	DECJ	Doença esporádica de Creutzfeldt-Jakob
Umβ	Amilóide-beta, β-amilóide	LDL	Lipoproteína de baixa densidade	DP	Desvio padrão
$Um\beta_{\scriptscriptstyle 40}$	Amilóide-beta 40, β-amiloide 40	LRP1	Relacionado com o receptor de	SPECT	Emissão de fótons calculados tomografia
$\text{Um}\beta_{\scriptscriptstyle 42}$	Amiloide Beta 42, β-Amiloide 42		lipoproteína de baixa densidade LRP1	sTREM2	Receptor de gatilho solúvel expresso em
a-syn	α-sinucleína		Proteína 1		células mielóides 2
ВН	Barreira hemencefálica	MCI	Prejuízo cognitivo leve	TAF15	Fator 15 associado à proteína de ligação
AAC	Angiopatia amiloide cerebral	IRM	Imagem de ressonância magnética		TATA
CAA AAC-ri	Inflamação relacionada ao CAA AAC-ri	MSA	Atrofia multissistema	TDP-43	Proteína de ligação de DNA TDP-43 TAR 43
DCJ	Doença de Creutzfeldt-Jakob	NDD	Doenças neurodegenerativas		kDa
FC	Fluido cefalorraquidiano	NfL	Luz de neurofilamento	TREM2	Ativador receptor expresso em células
TC	Tomografia computadorizada	NIA-AA	Instituto Nacional de Envelhecimento:		mielóides 2
DBL	Demência MCI com corpos de Lewy		Alzheimer da NIA-AA Associação	T-tau	Total Tau
FDG-PET	PET com fluorodeoxyglucose	EEN	Enolase ENEN específica do neurônio	OMS	Organização Mundial da Saúde da,
		DP	Doença de Parkinson		World Health Organisation
		DPD	Demência devido à doença de Parkinson		

Trabajamos continuamente en el contenido que encontrará en este folleto y nuestro objetivo es tener en cuenta el estado actual del conocimiento y los últimos avances en el campo de las pruebas de la enfermedad de Alzheimer. Esta copia se finalizó en septiembre de 2021. Siempre puede encontrar la última versión del folleto en www.fujirebio.com/alzheimer o comunicándose con su representante de Fujirebio. Presencia global a través de oficinas en Europa, Estados Unidos, Latinoamérica y Asia y red de distribución comercial mundial. Para obtener más información, visite: www.fujirebio.com Fujirebio Europe N.V. **Fujirebio Germany GmbH Fujirebio France SARL** Fujirebio Italia S.r.l. Fujirebio Iberia SL (European Headquarters) Hans-Böckler-Allee 20 Les Conquérants -Via Pontina km29 Calle Tarragona 161 Planta 14 Technologiepark 6 30173 Hannover, Germany 1 Avenue de l'Atlantique 00071 Pomezia - Roma, Italy 08014 Barcelona, Spain 9052 Gent, Belgium 91976 ZA Courtaboeuf, France

