



**Catarina de Almeida Bruxo**

***NOVAS ABORDAGENS NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DA  
DOENÇA DE ALZHEIMER***

**2016**



**UAlg FCT**

UNIVERSIDADE DO ALGARVE  
FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

***NOVAS ABORDAGENS NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DA  
DOENÇA DE ALZHEIMER***

**Catarina de Almeida Bruxo**

DISSERTAÇÃO submetida à Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade do Algarve  
para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação: do Professor Doutor Rui Manuel Amaro Pinto (FFUL) e  
coorientação da Professora Doutora Isabel Maria Pires Sebastião Ramalhinho

**2016**

# NOVAS ABORDAGENS NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DA DOENÇA DE ALZHEIMER

## Declaração de autoria do trabalho

Declaro ser a autora deste trabalho que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

A aluna,

Catarina de Almeida Bruxo

(Catarina de Almeida Bruxo)

*Copyright © by Catarina Bruxo, "A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor."*

## Dedicatória e agradecimentos

*“A vida de uma pessoa não é o que lhe acontece, mas aquilo que recorda e a maneira como o recorda.” Gabriel García Márquez*

Nenhum percurso na vida se percorre sozinho e como tal, não poderia deixar de agradecer a todos os que fizeram parte deste meu caminho e de uma ou outra forma contribuíram para que ele culminasse e se concluísse neste trabalho.

Em primeiro lugar, ao Professor Doutor Rui Manuel Amaro Pinto, meu orientador, e à professora Doutora Isabel Maria Pires Sebastião Ramalinho, coorientadora, o meu agradecimento por todo o apoio e disponibilidade na revisão deste texto.

A todos os professores que diariamente acreditam no Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas na Universidade do Algarve e trabalham pela sua evolução, também o meu agradecimento.

A todos os colegas de curso, que comigo caminharam ao longo destes cinco anos e com quem tive a oportunidade de partilhar tantos momentos, quer de trabalho, quer de diversão e muitas vezes ambos, muito obrigada. A vossa companhia deu muito mais significado a esta aventura. Em especial à Alexandra Santos que foi companheira desde o primeiro dia de matrícula até hoje, e ao Jaime Mendonça, que juntos acabaram por ser companheiros de muitas horas.

Aos amigos de sempre, que se mantiveram mesmo quando os caminhos divergiram também o meu grande obrigada por todo o vosso apoio. Não podia deixar de fazer um agradecimento especial à Raquel Silva, que mesmo longe está sempre presente.

À minha família, em que apesar de ser grande e dispersa, todos conseguiram fazer um pouco parte desta experiência. Sem vocês não teria encontrado a força e a vontade que muitas vezes foram necessárias para continuar.

Não menos importante, obrigada aos meus pais! A vida não nos tem trazido um caminho fácil, mas apesar de tudo, saber que posso contar com vocês é tudo o que alguma vez precisarei para continuar. À minha avó Maria das Dores que já não está presente há algum tempo, mas que acompanhou toda a minha infância e cuja sua postura na vida foi uma inspiração para a pessoa que sou hoje, não podia deixar de lhe agradecer também. A ela é à minha mãe dedico este trabalho, pois foi crescer a olhar para vocês que aguçou a minha curiosidade e ambição em aprender. Obrigada por todo o carinho, tudo o que me ensinaram e todos os sacrifícios que fizeram por mim.

## Resumo

O termo habitualmente utilizado para definir síndrome causada por doença cerebral é demência. Apesar de atualmente a designação mais correta e abrangente ser a de transtorno neurocognitivo, a palavra demência continua a ser amplamente utilizada. São muitas as patologias que podem estar associadas a este estado patológico e dados epidemiológicos sugerem que esta venha a afetar o dobro da população nos próximos 15 anos, podendo atingir cerca de 65 milhões em 2030, em todo o mundo.

A doença de Alzheimer, doença neurodegenerativa crónica, é das manifestações mais comuns de demência. A sua etiologia ainda é desconhecida, embora existam vários fatores que parecem influenciar o desenvolvimento desta patologia. No entanto, por se tratar duma das principais formas de demência, com os números de incidência a aumentarem, especialmente devido ao facto da esperança média de vida ter vindo também a aumentar, existe grande preocupação em determinar as causas desta doença e em tentar reverter este processo neurológico.

Até agora o diagnóstico da doença de Alzheimer, embora com bons resultados é feito em fase sintomática, altura em que não existe terapia eficaz e há maior dificuldade em reverter o défice cognitivo. Assim, a importância de diagnosticar a doença anos antes desta se manifestar tem ganho especial atenção nos últimos tempos, focando-se agora a investigação em biomarcadores que possam surtir tal efeito.

Com esta monografia pretende-se fazer uma revisão das abordagens em estudo para o diagnóstico futuro da doença de Alzheimer, incluindo as várias vertentes disponíveis como a imagiologia, o estudo genómico, estudo cognitivo e análises clínicas. Em comparação serão também revistos os meios atualmente disponíveis para o diagnóstico.

**Palavras-chave:** demência, Doença de Alzheimer, biomarcador, diagnóstico precoce, biomarcadores imagiológicos, biomarcadores de fluídos corporais

## Abstract

The usual term to define syndromes caused by brain disease is dementia. Despite nowadays neurocognitive disorder being the most correct term, the word dementia is still widely used. There are several pathologies that might be associated with this term and epidemiologic data suggests that the numbers of people affected by it, will about to double in the next fifteen years, with the numbers striking around 65 million people in the whole world by 2030.

Alzheimer's disease, a chronic neurodegenerative disease, is one of the most common expressions of dementia. The aetiology of this disease is still unknown, although there are several factors that seem to influence its development. However, because it's one of the main forms of dementia and with the numbers of its incidence rising, especially because of the rise on the life expectancy in the latest years, there is a big concern in determining the causes of Alzheimer's disease and trying to reverse this neurologic process.

So far Alzheimer's disease diagnostic, despite having good results it's only performed in a symptomatic phase, when there's no effective treatment and there is a bigger difficulty in reversing the cognitive deficit. This way, the importance of an early diagnosis has been earning special attention in the last few years, with investigation becoming more focused in biomarkers that may provide those results.

With this work it's intended to revise the approaches in study for the future diagnosis of Alzheimer's disease, including the different areas available such as imaging, genomics, cognitive study and clinical analysis. This revision will be made comparatively with the actual available means for this purpose.

**Keywords:** dementia, Alzheimer's disease, biomarker, early diagnosis, imagology biomarkers, biomarkers in fluids

## Índice

Resumo.....	iii
Abstract .....	iv
Índice de Figuras.....	vii
Índice de Quadros .....	vii
Índice de Esquemas.....	vii
Lista de abreviaturas .....	viii
1. Introdução às doenças neurocognitivas.....	1
1.1. Definição de demência .....	1
1.2. Principais patologias associadas a demência .....	2
1.3. Défice cognitivo ligeiro .....	3
2. Doença de Alzheimer .....	4
2.1. Introdução à anatomofisiologia do sistema nervoso central.....	4
2.2. Etiologia e fatores de risco .....	7
2.3. Epidemiologia.....	8
2.4. Sintomas .....	9
2.4.1. Fases da doença .....	9
2.5. Fisiopatologia .....	10
2.5.1. Alterações macroscópicas .....	10
2.5.2. Alterações microscópicas .....	12
2.5.2.1. Hipótese amiloide.....	12
2.5.2.2. Hiperfosforilação da Tau .....	15
2.5.3. Outras alterações celulares e tecidulares .....	16
2.5.3.1. Resposta inflamatória.....	16
2.5.3.2. Outros mecanismos afetados.....	17
2.6. Terapia farmacológica .....	18
2.7. Terapia não farmacológica .....	20
3. Diagnóstico atual da Doença de Alzheimer.....	20
3.1. Critérios internacionais de diagnóstico .....	20
3.1.1. Ferramentas de diagnóstico .....	22
3.1.2. Classificações a atribuir consoante a análise dos critérios.....	23
3.2. Critérios de diagnóstico em Portugal .....	25
3.3. Principais métodos de diagnóstico utilizados .....	27
3.3.1. Análise Imagiológica .....	31

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
NOVAS ABORDAGENS NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DA DOENÇA DE ALZHEIMER

3.3.1.1.	Tomografia por emissão de positrões .....	32
3.3.1.2.	Tomografia computadorizada por emissão de fóton único .....	35
3.3.1.3.	Ressonância magnética .....	36
3.3.1.4.	Tomografia computadorizada .....	37
3.3.2.	Análise cognitiva.....	37
3.3.3.	Análise genômica.....	38
3.3.4.	Análise de fluidos corporais .....	39
4.	Diagnóstico precoce: possíveis abordagens futuras .....	40
4.1.	Análise Imagiológica .....	42
4.1.1	Ressonância magnética avançada .....	42
4.1.2.	Imagiologia por difusão de tensão .....	43
4.1.3.	Tomografia de emissão de positrões .....	44
4.2.	Análise de fluidos corporais .....	46
4.2.1.	Líquido cefalorraquidiano .....	46
4.2.2.	Biomarcadores de sangue, urina e saliva .....	51
4.3.	Análise genômica.....	53
5.	Validade ética do diagnóstico precoce.....	55
6.	O papel do farmacêutico na Doença de Alzheimer.....	56
7.	Conclusão .....	58
	Bibliografia.....	60

## Índice de Figuras

Figura 2.1.....	5
Figura 2.2.....	6
Figura 2.3.....	8
Figura 2.4.....	11
Figura 2.5.....	12
Figura 2.6.....	13
Figura 2.7.....	15
Figura 3.1: .....	34
Figura 3.2: .....	35
Figura 4.1.....	49

## Índice de Quadros

Quadro 1.1 .....	2
Quadro 3.1.....	25
Quadro 4.1.....	45
Quadro 4.2.....	49

## Índice de Esquemas

Esquema 1.1.....	4
------------------	---

## Lista de abreviaturas

<b>AAC</b>	Angiopatia amiloide cerebral
<b>ABSI</b>	<i>Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative</i>
<b>ADAS-Cog</b>	<i>Alzheimer's Disease Assessment Scale – Cognitive</i>
<b>ADNI</b>	<i>Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative</i>
<b>ADRDA</b>	<i>Alzheimer's Disease and Related Disorders Association</i>
<b>APA</b>	<i>American Psychiatric Association</i>
<b>apoE</b>	Apolipoproteína E
<b>apoJ</b>	Apolipoproteína J
<b>A<math>\beta</math></b>	Amiloide $\beta$
<b>BACE-1</b>	<i>Beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme-1</i>
<b>BDNF</b> <i>factor</i>	Fator neurotrófico derivado do cérebro em inglês <i>brain-derived neurotrophic factor</i>
<b>BHE</b>	Barreira hemato-encefálica
<b>CID-10</b>	Classificação Internacional de Doenças 10ª edição
<b>CSF/LCR</b>	<i>Cerebrospinal fluid</i> em inglês ou líquido cefalorraquidiano
<b>DA</b>	Doença de Alzheimer
<b>DCL</b>	Défice cognitivo ligeiro
<b>DED</b>	<i>11C-deuterium-L-deprenyl</i>
<b>DGS</b>	Direção-Geral de Saúde
<b>DGV</b>	Degeneração granulovacuolar
<b>DSM-5</b>	<i>Diagnostic and Statistical Manual 5ª edição</i>
<b>MMSE/MEEM</b>	<i>Mini-Mental State Examination</i> ou Mini-Exame do Estado Mental;
<b>FDG</b>	Fluorodesoxiglicose
<b>GSK-3</b>	Glicogénio sintase cinase-3, em inglês <i>Glycogen synthase kinase-3</i>
<b>IDT/DTI</b>	Imagiologia por difusão de tensão em inglês <i>Diffusion tensor imaging</i>
<b>IACHÉ</b>	Inibidores da acetilcolinesterase
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	Interleucina 1 $\beta$

<b>IL-6</b>	Interleucina 6
<b>IL-12</b>	Interleucina 12
<b>IL-18</b>	Interleucina 18
<b>JNK</b>	<i>C-JunN-terminalkinases</i>
<b>MAO-B</b>	Monoaminoxidase B
<b>MD</b>	Magnitude de difusidade
<b>miRNA</b>	Micro-RNAs
<b>MOCA</b>	<i>Montreal Cognitive Assessment</i>
<b>Ng</b>	Neurogranina
<b>NIA</b>	<i>National Institute on Aging</i>
<b>NIH</b>	<i>National Institutes of Health</i>
<b>NINCDS</b>	<i>National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke</i>
<b>NMDA</b>	N-metil-D-aspartato
<b>OMS/WHO</b>	Organização Mundial de Saúde em inglês <i>World Health Organization</i>
<b>PPA/APP</b>	Precursor da proteína amiloide em inglês <i>amyloid protein precursor</i>
<b>PET</b>	Tomografia de emissão de positrões em inglês <i>positron emission tomography</i>
<b>PIB</b>	Composto B de Pittsburgh em inglês <i>Pittsburgh B compound</i>
<b>PNs</b>	Placas neuríticas
<b>PSEN1</b>	Presenilina 1
<b>PSEN 2</b>	Presenilina 2
<b>RM</b>	Ressonância magnética
<b>RNA</b>	Ácido ribonucleico em inglês <i>ribonucleic acid</i>
<b>SNC</b>	Sistema nervoso central
<b>SPECT</b>	Tomografia computadorizada por emissão de fótons em inglês <i>single-photon emission computed tomography</i>
<b>TC</b>	Tomografia computadorizada
<b>TC-HMPAO</b>	<sup>99m</sup> Tc-hexamethylpropyleneamineoxime
<b>TGF factor</b>	Fator de transformação do crescimento β em inglês <i>Transforming growth factor</i>

<b>TNs</b>	Tranças neurofibrilares
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator de necrose tumoral em inglês <i>tumor necrosis factor</i>
<b>t-tau</b>	Tau total

# 1. Introdução às doenças neurocognitivas

## 1.1. Definição de demência

As primeiras definições de demência foram publicadas em 1980 e 1984, pela *American Psychiatric Association* (APA) e pelo *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke* em conjunto com a *Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* (NINCDS/ADRDA), respetivamente.<sup>(1)</sup> Atualmente, a definição de demência, bem como os critérios mais utilizados para o seu diagnóstico, são estabelecidos pela APA através do *Diagnostic and Statistical Manual*, que vai atualmente na 5ª edição (DSM-5), ou ainda pela Organização Mundial de Saúde (OMS/WHO) através da Classificação Internacional de Doenças (CID-10). Esta última propõe critérios mais restritos que requerem para o diagnóstico que a diminuição cognitiva esteja presente por um período superior a seis meses e que haja uma alteração no pensamento abstrato para diagnosticar a demência.<sup>(2)</sup> De acordo com o DSM-5, este e outros conceitos relacionados inserem-se agora numa classe mais abrangente, designada por “Transtornos Neurocognitivos”. Este novo conceito surge de forma a englobar distúrbios neurocognitivos resultantes de condições que afetam indivíduos mais jovens, tais como lesão cerebral traumática ou infeção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana. O termo demência é mantido, uma vez que o seu uso é habitual entre médicos e doentes, e é comum em transtornos degenerativos.<sup>(3)</sup>

Demência pode então definir-se como uma síndrome causada por doença cerebral, normalmente de natureza crónica ou progressiva, em que se verificam défices cognitivos múltiplos, ao nível da memória, pensamento, orientação, compreensão, cálculo, linguagem, capacidade de aprendizagem e decisão. A consciência não é afetada, mas normalmente a deficiência cognitiva faz-se acompanhar ou é ocasionalmente precedida, por deterioração do controlo emocional, do comportamento social ou da motivação. Esta síndrome pode surgir em várias condições, tanto primárias como secundárias, que afetam o cérebro.<sup>(4)</sup>

## 1.2. Principais patologias associadas a demência

Existem várias condições em que a demência pode estar presente, sendo mais prevalente em idosos, apesar de não ser uma consequência inevitável do envelhecimento. No Quadro 1, seguidamente apresentado, é possível verificar algumas dessas condições, consoante as diferentes categorias em que se inserem. <sup>(5)</sup>

**Quadro 1.1:** Principais condições associadas a demência. Adaptado de DiPiro. <sup>(6)</sup>

<b>Categoria</b>	<b>Condições associadas</b>
<b>Doenças Neurodegenerativas</b>	Doença de Alzheimer, doença de Pick, doença de Huntington, doença por corpos de Lewy, esclerose múltipla, paralisia supranuclear progressiva
<b>Doenças vasculares</b>	Multienfartes cerebrais, oclusão da artéria carótida, arterite de células gigantes
<b>Trauma</b>	Hematoma subdural
<b>Infeções do sistema nervoso central</b>	Encefalite, sífilis, toxoplasmose, Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, doença de Creutzfeldt-Jakob
<b>Disfunções endócrinas/ metabólicas</b>	Hipotireoidismo, uremia, falência hepática, cardíaca ou respiratória, hipoxia, hiponatremia
<b>Intoxicação</b>	Álcool, solventes, metais pesados, fármacos
<b>Deficiências nutricionais</b>	Vitamina B12, ácido fólico, tiamina
<b>Distúrbios do sono</b>	Apneia, narcolepsia
<b>Outros</b>	Hidrocefalia, Neoplasias

### 1.3. Déficit cognitivo ligeiro

Como referido anteriormente, a capacidade de memória e o uso de funções cognitivas (particularmente as que envolvem memória) é comumente menor em idosos.<sup>(7)</sup> Tal sugere que a diminuição nestas capacidades seja uma consequência do envelhecimento, designando-se mais precisamente por déficit cognitivo. No entanto, este déficit não se manifesta de igual forma em todos os indivíduos, podendo assim ser categorizado em diferentes formas de diminuição cognitiva, consoante as capacidades que estão diminuídas (se se trata de linguagem ou atenção, por exemplo). Para algumas destas formas de déficit cognitivo parece existir um maior risco de evolução para demência, razão pela qual alguns investigadores atribuem, neste caso, esta designação a indivíduos com minimização progressiva de memória, como poderá acontecer num estado precoce da doença de Alzheimer (DA).<sup>(7)(8)</sup> Contudo, este conceito pode também ser utilizado de forma mais generalizada, visto que o decréscimo cognitivo anormal em idosos não se restringe somente à memória, mas poderá também envolver outras capacidades como a linguagem e atenção, que já foram referidas.<sup>(7)</sup>

Também o DSM-5 reconhece uma forma menos severa do declínio cognitivo, ao qual atribui o termo “déficit cognitivo ligeiro (DCL)”.<sup>(3)</sup> Este pode-se definir como um declínio cognitivo maior do que o esperado para um determinado indivíduo de determinada idade e nível de literacia, mas que não interfere de forma notável com a sua vida diária. Distingue-se assim de demência, em que o déficit cognitivo é mais severo e tem um efeito substancial nas atividades diárias. No entanto, a presença deste déficit parece ser consistente com um maior risco de progressão para demência, especialmente derivada da DA.<sup>(1)</sup>

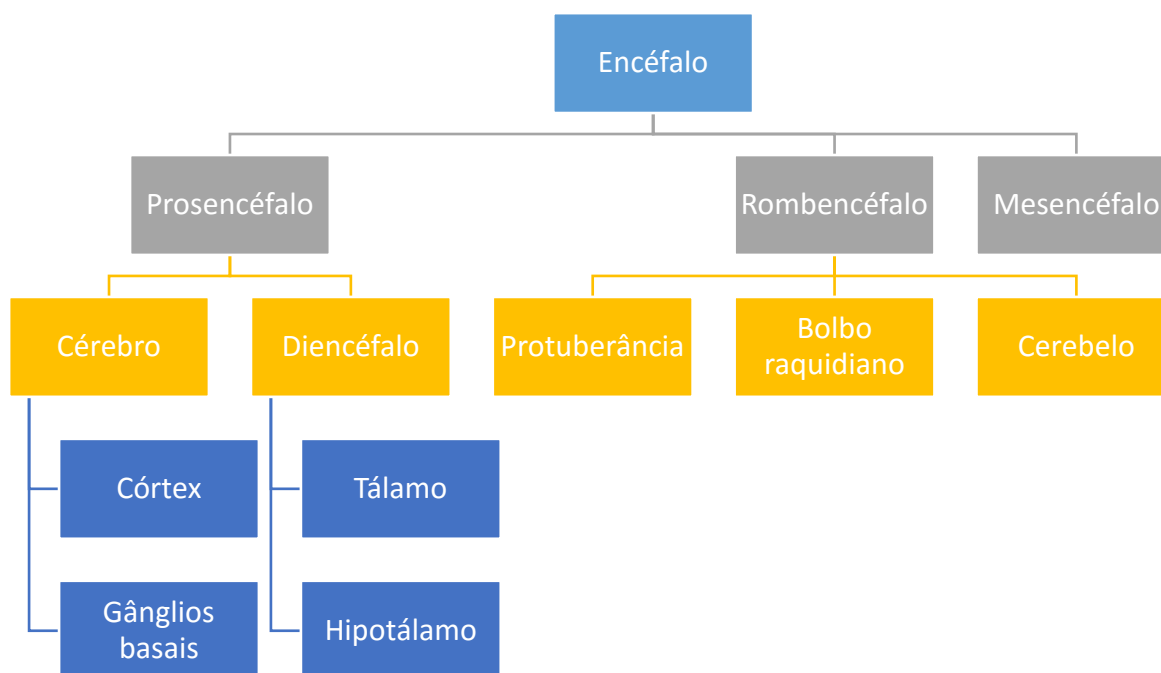
A nível fisiopatológico, é possível observar uma série de fatores que surgem na presença deste déficit, nomeadamente, disfunção colinérgica, lesões na substância branca e enfartes cerebrais, deposição extracelular de placas amiloides, bem como a formação a nível intracelular de tranças neurofibrilares.<sup>(1)</sup> A semelhança entre os processos patológicos do DCL e da DA acentuam a teoria do primeiro como fase prodrómica do segundo, sendo que a comprovação desta teoria seria uma importante ferramenta na investigação de tratamentos e formas de prevenção da DA.<sup>(7)(9)</sup>

## 2. Doença de Alzheimer

### 2.1. Introdução à anatomofisiologia do sistema nervoso central

Antes de introduzir a patologia em questão neste trabalho, que levará ao ponto principal a ser abordado, nomeadamente as novas abordagens em estudo para o seu diagnóstico, apresenta-se a anatomofisiologia do sistema nervoso central (SNC) para uma melhor compreensão dos restantes tópicos.

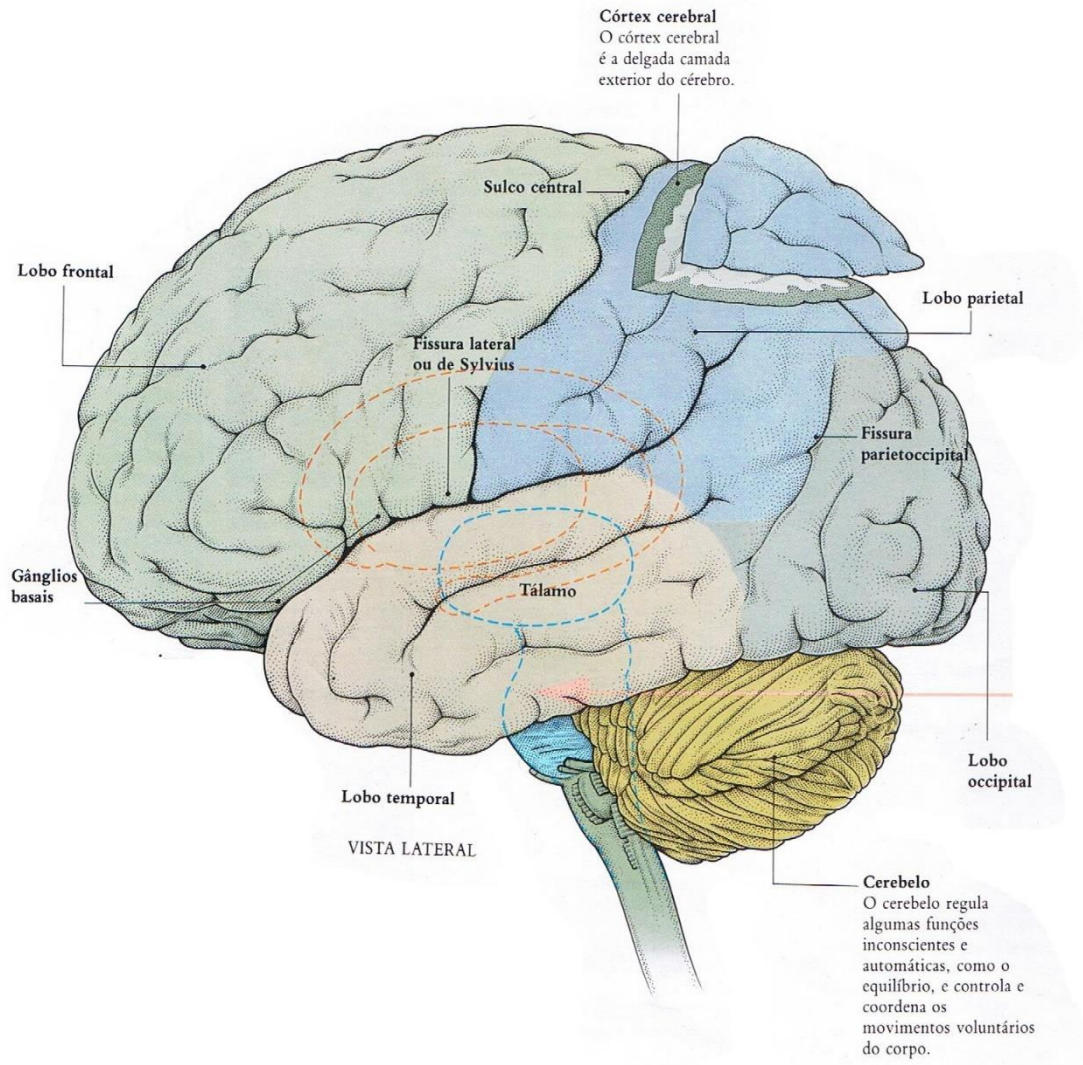
O SNC é constituído pelo encéfalo e pela medula espinal, que funcionam como uma unidade de coordenação central e de processamento. Muitas vezes é considerado a divisão do encéfalo de acordo com o Esquema 1.<sup>(10)(11)</sup>



**Esquema 1.1:** Principal forma de divisão do encéfalo. Adaptado de Smith.<sup>(11)</sup>

O cérebro engloba a maior parte do encéfalo humano, sendo formado pelos dois hemisférios cerebrais e dividindo-se em vários lobos (Figura 2.1): frontal, temporal, occipital e parietal. A sua superfície é coberta por um conjunto de neurónios, designada de córtex cerebral ou também conhecida como substância cinzenta. O córtex pode ainda ser dividido consoante as funções que se processem em determinada área, por exemplo, córtex pré-frontal onde se processa a capacidade de planeamento futuro ou córtex auditivo primário (área que deteta as características dos sons, Figura 2.2). Nesta superfície do cérebro estão

presentes muitas circunvoluções ou *gyrus* (fendas e elevações numa área mais elevada) e sulcos, quando se tratam de fendas simples e adquirem o nome de fissuras em áreas mais profundas.<sup>(10)(11)</sup>



**Figura 2.1:** Córtex cerebral, lobos e outros constituintes do encéfalo. Adaptado de Smith. <sup>(11)</sup>

## O MAPA DO CÓRTEX CEREBRAL

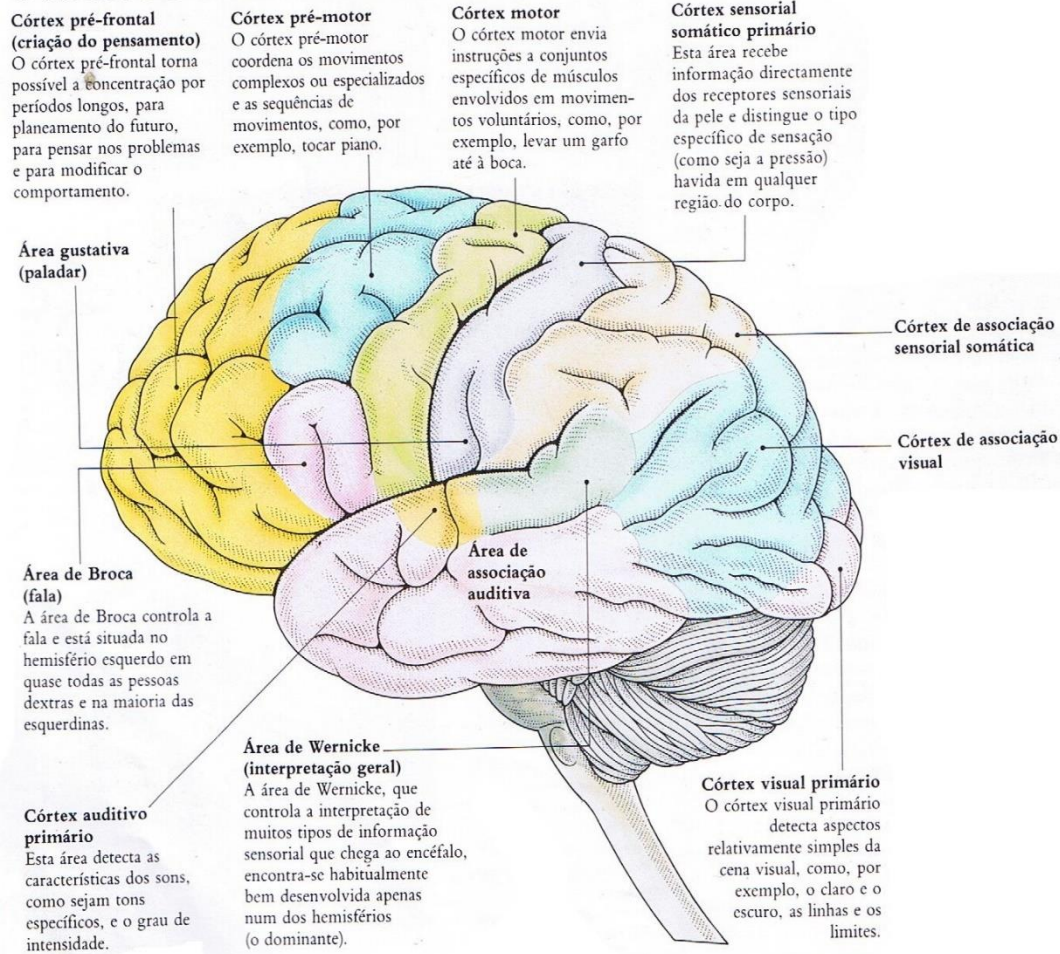


Figura 2.2: Mapa do córtex cerebral. Adaptado de Smith. (11)

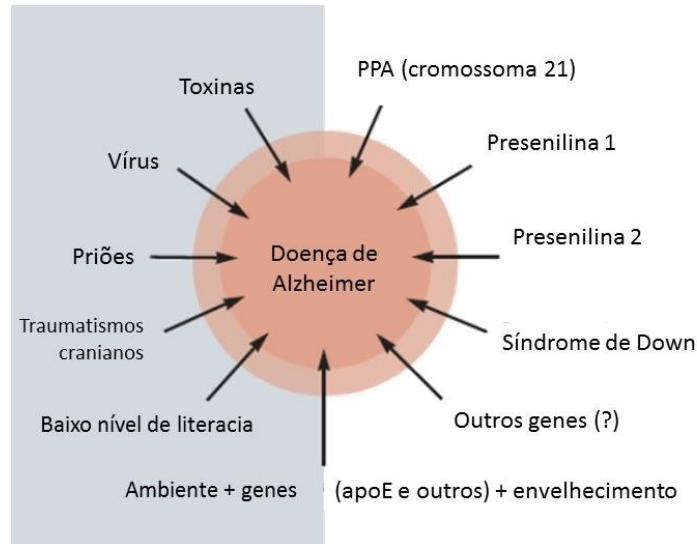
É também muitas vezes referida a substância branca, constituída por feixes de axónios envolvidos por mielina, com poucos capilares sanguíneos, essencialmente com função de permitir a condução do influxo nervoso.<sup>(10)(11)</sup>

Estes são alguns dos elementos principais que pertencem ao SNC e que serão referidos ao longo desta monografia. Estes podem ainda agrupar-se consoante as áreas em que influenciam o controlo, como é o caso do sistema límbico, formado pelo tálamo, hipotálamo, amígdala (grupos de neurónios específicos deste sistema) e rinencéfalo (área responsável pelo sistema olfativo).<sup>(12)</sup>

## 2.2. Etiologia e fatores de risco

A DA é uma doença neurodegenerativa crônica e a forma mais comum de demência nos idosos.<sup>(9)</sup> Não se conhecem as causas exatas desta doença, no entanto, existem vários fatores que têm sido explorados como possíveis responsáveis, podendo-se considerar três fatores principais: fatores genéticos, ambientais e fisiológicos (Figura 2.3).<sup>(3)</sup> A nível genético, a maioria dos casos mais precoces e agressivos desta doença são atribuídos a uma mutação num gene do cromossoma 14. Relativamente a casos mais tardios da doença, pensa-se que um dos pontos de influência será o genótipo da apolipoproteína E (apoE), que se localiza no cromossoma 19. Porém, as causas genéticas referidas são associadas a uma pequena percentagem de casos.<sup>(13)</sup> Algo que parece apoiar a origem genética desta doença é o facto de indivíduos com síndrome de Down, que possuem uma cópia extra do cromossoma 21, terem um risco superior de desenvolver DA em idades precoces. Neste caso, o risco parece estar associado à presença de três cópias do gene presente neste cromossoma, que codifica o precursor da proteína amiloide (PPA). Normalmente, dois terços dos indivíduos com síndrome de Down desenvolve demência até aos sessenta anos, mas a percentagem também não é absoluta em indivíduos mais velhos, o que sugere que este não será o único mecanismo envolvido.<sup>(10)(14)</sup>

Variados fatores ambientais também têm sido associados a um maior risco de sofrer DA, tais como apoplexia, abuso de álcool, consumo de tabaco, hipertensão, diabetes, hipercolesterolemia, trauma severo ou repetido e níveis baixos de literacia.<sup>(4)(6)(15)</sup> Em relação a este último, apesar de existir alguma controvérsia, alguns estudos têm vindo a demonstrar um menor metabolismo cerebral em pessoas com demência e iliteratas ou com menor nível de educação, e uma patologia amiloide reduzida em participantes de domínio cognitivo normal e com elevado nível de educação.<sup>(4)(15)</sup>



**Figura 2.3:** Fatores etiológicos da DA. Adaptado de Kandel. <sup>(16)</sup>

### 2.3. Epidemiologia

Estima-se que pelo menos cerca de 47.47 milhões de pessoas sofressem de demência em 2015, números superiores aos 37 milhões referidos no *World Alzheimer Report* de 2010, sendo que os números poderão aumentar para cerca de 65,7 milhões em 2030 e 115,4 milhões em 2050.<sup>(13)(17)(18)(19)(20)</sup> Também na Europa, estudos confirmam que a demência é cada vez mais comum na população idosa, com a sua prevalência a quase duplicar a cada 5 anos.<sup>(21)</sup> Em Portugal os últimos números estimados apontam para 90,000 pessoas a sofrer de DA.<sup>(22)</sup> Países em desenvolvimento como a China e a Índia são dos que registam uma maior taxa de incidência, tendo-se registado cerca de 3,5 milhões de doentes com DA na Índia, no ano de 2000.<sup>(23)</sup> No entanto, em cerca de 1000 casos analisados *pos-mortem*, dos quais 86% teriam uma patologia associada à DA, apenas 43% teriam exclusivamente DA, 26% teriam Alzheimer associado a uma patologia cerebrovascular e 10% teriam Alzheimer associado a demência com corpos de Lewy. Este é um exemplo de que estas estimativas representam essencialmente a proporção das diferentes condições associadas a demência e não obrigatoriamente dados específicos sobre a DA.<sup>(4)</sup>

Em 2008, esta doença foi reconhecida pelo Conselho da União Europeia como uma prioridade, tendo promovido o compromisso conjunto dos Estados membros no combate às doenças neurodegenerativas, com especial atenção para a DA.<sup>(24)</sup>

## 2.4. Sintomas

Os principais sintomas da DA podem manifestar-se a nível cognitivo, não cognitivo e funcional. Sintomas cognitivos incluem perda de memória, afasia, apraxia, agnosia e desorientação. Sintomas não cognitivos podem surgir sob a forma de depressão, alucinações, delírio e distúrbios de comportamento (agressão física e verbal, hiperatividade, deambulação e maneirismos). Num contexto mais prático, sintomas a nível da capacidade funcional podem essencialmente refletir-se na incapacidade de realizar tarefas básicas do dia-a-dia como vestir e comer.<sup>(6)(8)</sup>

### 2.4.1. Fases da doença

Do ponto de vista clínico e tendo em conta a história natural da doença, podem distinguir-se três fases principais: estágio inicial, moderado e severo, cada uma caracterizada por sintomas e duração distintos.<sup>(25)</sup> É importante considerar que esta não é uma classificação aplicável a todos os doentes, uma vez que a DA é um processo neurodegenerativo individual e tanto os sintomas, como a sua duração podem diferir de pessoa para pessoa.<sup>(26)</sup>

O estágio inicial da doença é caracterizado por problemas de memória, causando alterações muito pequenas nas capacidades ou comportamentos do indivíduo que são normalmente atribuídas a *stress* ou ao envelhecimento. Nesta fase podem ocorrer situações como esquecimento de conversações ou eventos recentes, dificuldade em tomar decisões, fazer planos, julgar distâncias ou ver objetos em três dimensões.<sup>(25)(26)</sup>

No estágio moderado começam a surgir sintomas associados a uma progressiva disfunção cortical, como apraxia e afasia. É também comum nesta fase a confusão do doente relativamente ao local onde este se encontra, o que pode levar a que se perca com alguma

facilidade. Poderá também ocorrer dificuldade na capacidade de percepção, delírio, comportamentos agressivos e irritação, provavelmente por não haver capacidade do doente de interpretar o que se passa à sua volta. <sup>(25)(26)</sup>

Por último, o estágio tardio ou severo é caracterizado por um aumento na dependência de outrem, devido à dificuldade em comer ou a engolir, incontinência e perda gradual da fala. A perda de memória pode também ser pronunciada, impedindo o indivíduo de reconhecer objetos familiares ou até as pessoas que lhe são mais próximas. O doente pode tornar-se mais agitado ou violento. <sup>(25)(26)</sup>

Existem ainda autores que classificam a doença quanto à sua progressão em sete estádios, tendo como base que a DA se desenvolve em três áreas do cérebro (transentorrinal, límbica e isocortical). Estes estádios são designados como sem comprometimento (I), declínio cognitivo muito leve (II), comprometimento cognitivo leve (III), declínio cognitivo moderado (IV), declínio cognitivo moderadamente severo (V), declínio cognitivo severo (VI) e muito severo (VII), ocorrendo as fases I e II na zona transentorrinal, sendo os estádios III e IV de envolvimento límbico e V e VI de envolvimento isocortical. <sup>(8)(27)</sup>

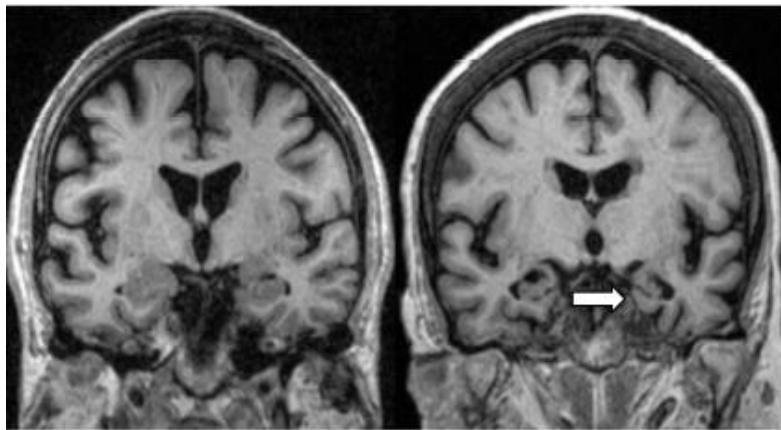
## **2.5. Fisiopatologia**

### **2.5.1. Alterações macroscópicas**

O cérebro é das principais áreas onde a doença se começa a manifestar e das que mais será afetada no seu decurso. Aqui verificam-se as principais alterações macroscópicas que ocorrem num doente com Alzheimer, nomeadamente atrofia cerebral e alargamento ventricular, sendo o córtex entorrinal, hipocampo, amígdala, neocórtex e núcleo basal de Meynert as áreas mais vulneráveis. <sup>(10)(16)(28)</sup>

A atrofia cerebral é responsável pela diminuição do volume e peso cerebral, sendo esta caracterizada por uma variação interindividual. Esta particularidade é mais significativa nos estádios iniciais da doença, uma vez que é natural surgir com o envelhecimento, embora neste caso as perdas neuronais sejam mínimas. <sup>(16)(29)(30)</sup> No caso da DA o padrão apresentado é

simétrico e as principais estruturas afetadas estão localizadas no lobo temporal, com principal destaque para o decréscimo de volume na zona da amígdala, do hipocampo (Figura 2.4) e *gyri* fusiforme, fazendo-se acompanhar por alterações vasculares cerebrais e poupando relativamente os córtices motores, sensorial e visual. Conjuntamente, é comum o aumento da atividade de monoaminoxidase B (MAO-B).<sup>(25)(26)</sup> No entanto, nenhuma destas alterações é excepcionalmente aparente na DA, podendo apenas servir a sua ausência como fator de exclusão da doença.<sup>(29)(30)</sup>



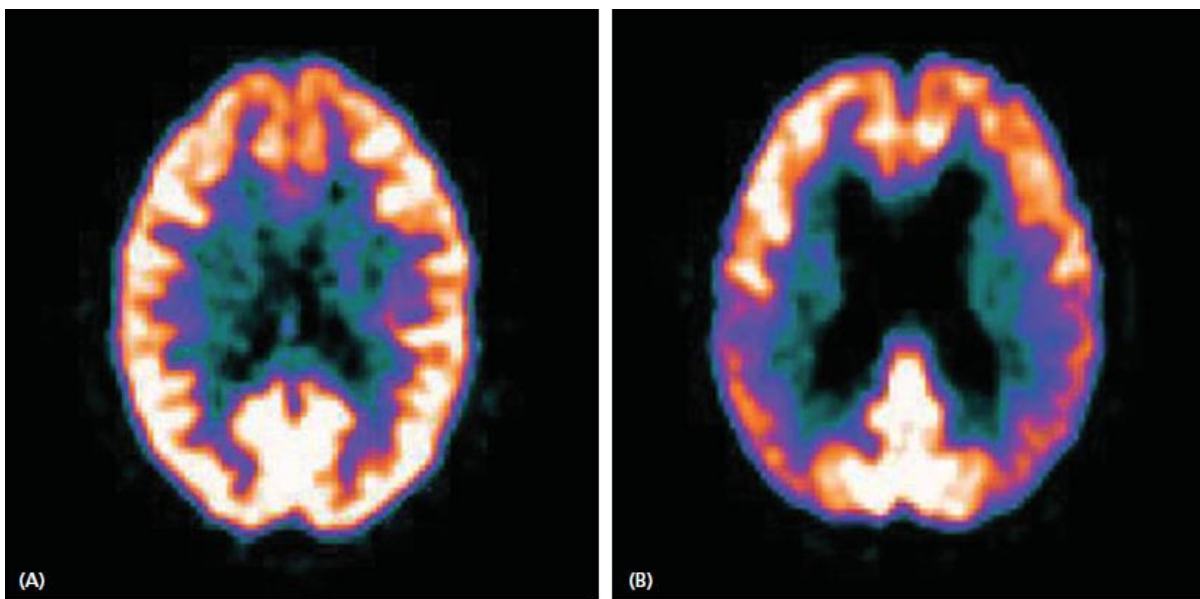
**Figura 2.4:** Ressonância magnética em plano coronal de um controlo (esquerda) e de um doente com DA (direita). O doente demonstra atrofia ao nível do hipocampo (seta). Adaptado de Kandel.<sup>(16)</sup>

Associada à atrofia está a degeneração neuronal, como é exemplo a degeneração do sistema colinérgico. Este último é também uma das principais alterações anatómicas que ocorrem na DA, no entanto não é considerada um sinal cardinal desta patologia, mas sim, possivelmente, uma consequência secundária.<sup>(6)</sup>

## 2.5.2. Alterações microscópicas

### 2.5.2.1. Hipótese amiloide

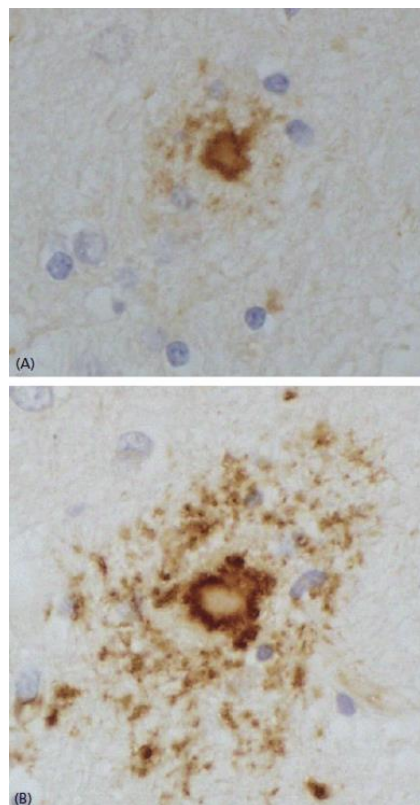
Esta hipótese foca-se na cascata da PPA, sendo suportada pelo facto de placas amiloides  $\beta$  ( $A\beta$ ) estarem presentes no cérebro de doentes de DA (Figura 2.5) e de mutações no gene que codifica a PPA estarem associadas a uma forma autossómica dominante herdada na DA, como referido anteriormente.<sup>(28)</sup>



**Figura 2.5:** Imagiologia amiloide através de PET com fluorodesoxiglicose num indivíduo normal (A), demonstrando uma retenção mínima e retenção no córtex cerebral de um doente de Alzheimer (B) Adaptado de Dickson e Weller.<sup>(28)</sup>

A PPA é uma proteína transmembranar, constituinte de neurónios e outras células do cérebro e encontrando-se também em vários tecidos extraneuronais, especialmente em plaquetas. A sua função é desconhecida, no entanto sabe-se que ao sofrer proteólise gera espécies  $A\beta$  de diferente dimensão. Este processo é normalmente constituído por uma cascata de clivagens endoproteolíticas por  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -secretases, da qual resultam péptidos não-amiloidogénicos (via da  $\alpha$ -secretase) e amiloidogénicos (via da  $\beta$ -secretase). A via da  $\gamma$ -secretase é um evento heterogéneo, em que consoante o sítio de corte, assim se geram diferentes péptidos, sendo os mais comuns as formas  $A\beta_{40}$  e  $A\beta_{42}$  (Figura 2.6). A via mais

comum é, porém, a da  $\alpha$ -secretase, pelo que não é usual formarem-se placas  $A\beta$ . No entanto, mesmo quando existe formação das placas, os seus monómeros e oligómeros são normalmente degradados por outras enzimas. Um corte incorreto da PPA e, conseqüentemente uma má eliminação dos seus produtos, resulta na acumulação destes, que se acabam por polimerizar, inicialmente em oligómeros solúveis e depois em fragmentos cada vez mais insolúveis como as  $A\beta_{42}$ , que acabam por precipitar em fibrilas amiloides. <sup>(28)(30)(31)</sup> Devido a dois aminoácidos adicionais a  $A\beta_{42}$  é mais hidrofóbica, daí ser mais suscetível à agregação e à formação de placas fibrilares, o que a torna mais abundante. <sup>(28)</sup>

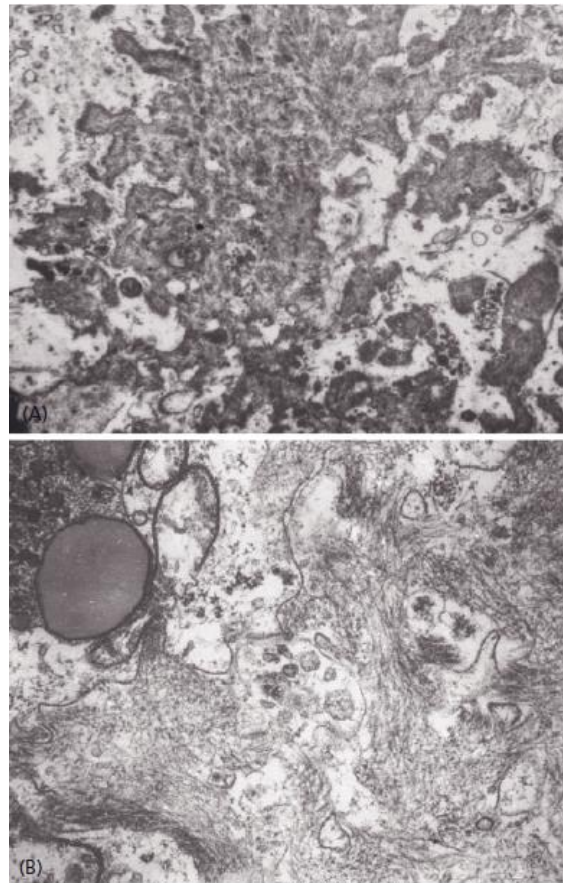


**Figura 2.6:**  $A\beta_{40}$  e  $A\beta_{42}$  em depósitos de parênquima, através de imunocoloração com anticorpos específicos. Placas de núcleo denso apresentam concentração de  $A\beta_{40}$  (A) e as  $A\beta_{42}$  tendem a ser mais abundantes na periferia do núcleo e à volta de placas não compactas. Adaptado de Dickson e Weller. <sup>(28)</sup>

Existem três tipos principais de placas  $A\beta$  e que estão presentes na DA: placas amiloides difusas (depósitos amorfos, normalmente não consideradas no diagnóstico da DA por serem comuns no cérebro de idosos com sistema cognitivo intacto), placas de núcleo denso (depósitos com núcleo compacto, tipicamente rodeadas por placas senis distróficas,

astrócitos reativos e células da microglia ativas, estando associadas a perda sinática; mais comuns na DA que as difusas (Figura 2.7)); e placas neuríticas, senis ou amiloides, definidas daqui em diante como placas neuríticas (PNs) (depósitos extracelulares de amiloide  $\beta$ , abundante no córtex de doentes de DA e que podem ser classificadas nas duas anteriores, consoante a sua morfologia).<sup>(28)</sup> Estas neurofibrilas conduzem a dano oxidativo e promovem a hiperfosforilação da tau, dando origem a efeitos tóxicos ao nível das sinapses e mitocôndrias.<sup>(32)</sup> São consideradas um sinal cardinal histopatológico da DA, todavia é importante referir-se que estas lesões também podem estar associadas a outras patologias.<sup>(30)</sup>

Em relação aos péptidos A $\beta$ 40, depositam-se essencialmente nas paredes de vasos sanguíneos, ao que se designa de angiopatia amiloide cerebral (AAC). Este fenómeno afeta essencialmente capilares corticais, pequenas arteríolas e artérias medianas, não sendo normalmente sintomático, razão pela qual é mais comum a sua deteção em autópsia. A AAC pode também surgir noutros contextos, mas é mais comum na DA.<sup>(29)</sup>



**Figura 2.7:** Microscopia electrónica de placas amiloides de núcleo denso. Apresentam-se fibrilhas entrelaçadas de 5-10nm de diâmetro próximas das membranas celulares de células da microglia. Adaptado de Dickson e Weller.<sup>(28)</sup>

### 2.5.2.2. Hiperfosforilação da Tau

O gene tau que se localiza no cromossoma 17 é traduzido numa proteína com 6 isoformas, que se encontra predominantemente em células nervosas, concentradas nos axónios. Esta proteína, tau, contém um domínio microtúbulo-ligante formado por três ou quatro regiões repetidas (tau 3R e tau 4R). A tau promove a polimerização de tubulina e a ligação entre microtúbulos, contribuindo para a sua estabilidade. No entanto, se a tau se encontrar hiperfosforilada, a capacidade para ligar microtúbulos é reduzida e torna-se insolúvel. Sob esta forma, a tendência é a de se agregar em pares de filamentos torcidos um à volta do outro (filamentos helicoidais), o que forma o segundo sinal cardinal da DA. A tau aberrante acaba por causar disrupção dos microtúbulos, danificando o transporte ao nível do axónio e afetando a nutrição dos axónios terminais e dendrites. Também aqui se podem

distinguir 3 tipos diferentes de agregados de tau anormal: as chamadas tranças neurofibrilares (TNs), que se acumulam no corpo celular dos neurónios e posteriormente se tornam extraneuronais, filamentos de neurópilo e segmentos axonais e dendríticos que invariavelmente acompanham as TNs.<sup>(31) (33)</sup>

As TNs podem ser tóxicas para os neurónios, quer pela sua atuação enquanto barreira física no citoplasma ou por reduzirem a função da tau enquanto estabilizadora de microtúbulos.<sup>(8)</sup>

Apesar de este ser também um marco na DA, considera-se que a formação de TNs é secundária à amiloidogénese.<sup>(8)</sup>

### **2.5.3. Outras alterações celulares e tecidulares**

#### **2.5.3.1. Resposta inflamatória**

O aparecimento de placas amiloides e TNs conduz à ativação da microglia, pequenas células que ganham mobilidade e se tornam fagocitárias como resposta a uma infeção, de modo a eliminar tecido necrótico, microrganismos e substâncias estranhas que invadem o SNC, o que resulta conseqüentemente na produção e libertação de citocinas pro-inflamatórias como interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e interferão gama, que por sua vez irão produzir um feedback positivo na formação de A $\beta$ 42.<sup>(16)(32)(34)</sup>

Astrócitos, que são o tipo mais abundante de células da glia no SNC, desempenham várias funções, incluindo suporte bioquímico das células endoteliais que formam a barreira hemato-encefálica (BHE), fornecimento de nutrientes ao sistema nervoso, manutenção do balanço iónico extracelular, regulam a composição extracelular do líquido cefalorraquidiano e possuem um papel na reparação e cicatrização do cérebro e coluna vertebral aquando da ocorrência de lesões. Estes possuem a capacidade de remover e degradar A $\beta$  sem mediadores. Como resposta a danos, os neurónios produzem moléculas de adesão e fatores neurotróficos que recrutam células da microglia e astrócitos. A neurodegeneração é assim concomitante à astrocitose, sendo os astrócitos um fator morfológico proeminente na DA. Porém a sua

proliferação tanto pode representar uma resposta à substituição de neurónios, como uma reação à degradação de péptidos A $\beta$ . <sup>(28)(35)</sup>

O componente P é uma proteína encontrada no soro e é associada a vários tipos de amiloidose. Os fatores C1q e substância P estão associados a fibrilhas A $\beta$  e podem também desempenhar um papel importante na agregação de células da microglia e secreção de citocinas nas placas senis. <sup>(8)</sup> Também imunogénios (antigénios associados a componentes imunes) se formam pela deposição anormal de A $\beta$  na DA, resultando também na ativação da microglia, astrócitos, e libertação de citocinas inflamatórias, podendo conduzir a danos nos neurónios. <sup>(8)</sup>

Não se sabe ao certo qual o papel da inflamação na DA, tanto podendo tratar-se de um processo tóxico ou benéfico, como resposta à patologia da doença. <sup>(28)</sup>

### **2.5.3.2. Outros mecanismos afetados**

Outro ponto em que parece existir alterações é na via do glutamato, especialmente na sua atuação em estruturas do córtex e límbicas, que podem ser fatores contributivos para a patologia em questão. O glutamato é deste modo, referido, por vezes como uma neurotoxina na DA, uma vez que a sua permanência prolongada na fenda sináptica pode levar à destruição de células nervosas. <sup>(6)(22)(28)</sup>

Existem também outras lesões que se podem encontrar no citoplasma de neurónios piramidais do hipocampo de doentes com DA, nomeadamente degeneração granulovacuolar (DGV) e corpos de Hirano. A DGV consiste na acumulação de neurónios com grandes membranas associadas a vacúolos e com um grânulo central. Este grânulo central parece ter uma morfologia grosseira, com dupla membrana, em que há uma reduzida entrada de eletrões, o que faz com que visualmente se apresente como uma mancha escura, sendo que apesar de estar bem documentada é pouco perceptível o seu papel na DA. Os corpos de Hirano consistem em inclusões paracristalinas ricas em actina, cuja função fisiológica é desconhecida. Neste caso, apesar de não se saber ainda qual a sua contribuição para a doença, culturas celulares e modelos animais sugerem que alterações a este nível são importantes para a

doença. Estas lesões são pouco percebidas e embora concordantes com o envelhecimento, são mais severas na DA.<sup>(29)(36) (37)</sup>

Neste momento é importante reforçar que nenhuma das alterações aqui referidas são exclusivas da DA, podendo ocorrer noutras demências. Contudo, regista-se normalmente uma diferença quantitativa na sua expressão de demência para demência.<sup>(10)</sup>

## **2.6. Terapia farmacológica**

O facto de esta patologia não ter os seus mecanismos totalmente conhecidos faz com que o desenvolvimento de fármacos nesta área seja limitado, levando a que não haja um grande leque de opções disponíveis para os doentes de DA.<sup>(38)</sup> Assim, os tratamentos existentes focam-se apenas na redução dos sintomas, através da tentativa de contrabalançar o desequilíbrio de neurotransmissores que é característico na doença. Existem duas classes farmacológicas atualmente aprovadas: inibidores da acetilcolinesterase (IACHÉ), para casos ligeiros a moderados da DA e um antagonista dos recetores do glutamato do tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) para casos mais severos.<sup>(39)(40)</sup>

Os IACHÉ foram introduzidos no mercado em 1997 e considerados fármacos de primeira linha na DA desde então. A sua ação passa pela contribuição para o funcionamento dos processos mnésicos do sistema colinérgico, cuja integridade está seriamente alterada nestes doentes. Estes fármacos apresentam em ensaios clínicos um efeito estatisticamente significativo na função cognitiva dos doentes, quando em estágio inicial ou moderado. Apesar do efeito sobre a cognição observado ser consistente, a sua dimensão é geralmente, muito pequena, sendo que nos doentes com uma boa resposta à medicação, os estudos demonstram uma melhoria funcional. No entanto, é possível que características individuais que ainda não foram identificadas estejam envolvidas na forma como cada doente responde ao tratamento. Assim, esta é uma classe na qual é importante fazer monitorização terapêutica, quer por questões de segurança, quer para testar a sua eficácia, devendo o tratamento ser suspenso se esta última não se verificar. Além do efeito específico que estes exercem nas funções cognitivas, verifica-se também efeito sobre funções não-cognitivas, podendo influenciar condições respiratórias (como asma ou doença pulmonar obstrutiva

crónica) ou doença gastrointestinal (como úlcera gástrica).<sup>(40)(41)</sup> Neste grupo encontram-se fármacos como o donepezilo, rivastigmina e galantamina. Donepezilo foi aprovado no início dos anos 90 e os principais efeitos adversos que pode causar são náuseas, vômitos, gastrite e diarreia. Ao ser descontinuado, o nível funcional do indivíduo volta ao estado em que se encontrava no momento anterior ao tratamento. Rivastigmina é semelhante ao donepezilo, sendo que é um inibidor pseudo-irreversível, pois dissocia-se lentamente da enzima. Este é também um inibidor da butirilcolinesterase, o que facilita a transmissão colinérgica, ao abrandar a degradação de acetilcolina. Existem disponíveis formas de administração oral e transdérmica, sendo os efeitos adversos da forma oral semelhantes aos do donepezilo, enquanto os sintomas gastrointestinais são cerca de três vezes menos proeminentes com administração transdérmica. Ainda outra hipótese disponível é a galantamina, que possui também alguma atividade nos recetores nicotínicos.<sup>(25)(40)</sup>

Todos os IACHÉ podem influenciar o ritmo cardíaco, sendo que tal não é comum a não ser que exista um problema cardíaco. Podem também ter efeito, como já foi referido, na função respiratória, estando contraindicados, ou devendo ser usados com precaução, em doentes com asma ou em caso de anestesia, pelo risco de exagero da paralisia muscular do tipo induzida pela succinilcolina e pelas reações adversas que pode causar. As reações adversas mais comuns para esta classe são cefaleias, dores generalizadas, fadiga, náuseas, vômitos, anorexia, câibras, insónias, tonturas, depressão, equimoses, aumento de peso, efeitos vagotónicos, aumento da secreção gástrica ou convulsões. As interações típicas destes fármacos ocorrem com anticolinérgicos (por inibição do efeito), colinomiméticos ou inibidores da colinesterase (por potenciação do efeito).<sup>(25)(40)</sup>

Outro fármaco que também se encontra disponível é a memantina, um antagonista dos recetores do glutamato do tipo NMDA, constituindo uma adição relativamente recente à terapia da DA. Neste caso, reações adversas são pouco frequentes, sendo que as mais comuns incluem sonolência, tonturas, cefaleias e obstipação. É possível que a memantina potencie o efeito anticoagulante da varfarina, os efeitos de antiparkinsonianos e reduza os efeitos de antipsicóticos. Por outro lado, fármacos que partilhem o mecanismo ativo de excreção renal ou que causem alcalinização da urina poderão provocar elevação das concentrações séricas de memantina.<sup>(25)(40)</sup>

No que diz respeito a sintomas comportamentais são também utilizados fármacos antipsicóticos e antidepressivos, como é o caso do lítio pelo seu possível papel neuroprotetor ou do citalopram, no controlo da agitação que é comum na DA.<sup>(42)(43)(44)</sup>

## **2.7. Terapia não farmacológica**

As principais terapias não farmacológicas disponíveis são a aromaterapia, música, massagem e exercício físico.<sup>(45)(46)</sup> Apesar de não existirem muitos estudos que demonstrem as vantagens estatísticas desta prática na diminuição dos sintomas da DA, parece existir uma tendência positiva relativamente ao seu uso e à diminuição de sintomas psiquiátricos de demência. A grande vantagem destas terapias é o facto de serem seguras e não possuírem efeitos adversos, podendo contribuir para a diminuição dos sintomas e consequentemente diminuição também de lesões, taxa de hospitalização e os encargos dos cuidadores.<sup>(33)(45)</sup>

## **3. Diagnóstico atual da Doença de Alzheimer**

### **3.1. Critérios internacionais de diagnóstico**

Como já foi mencionado anteriormente, no Capítulo I (vide secção 2.4 Sintomas e 2.5 Fisiopatologia), a DA manifesta-se tanto a nível cognitivo, como comportamental, sendo as principais marcas patológicas da doença a atrofia cortical, a predominância de placas A $\beta$  e TNs.<sup>(25)</sup> Um dos problemas que surge com esta patologia é o facto de, apesar da investigação nesta área se ter desenvolvido de forma intensa nos últimos anos, ainda não se ter chegado a respostas conclusivas no que concerne à sua patogénese. Existe neste momento a certeza de que, em vários indivíduos, alterações causadas pela doença começam a surgir até cerca de uma década antes dos primeiros sintomas (a fase designada por declínio cognitivo ligeiro), momento em que os tratamentos existentes poderiam de facto trazer utilidade em retardar e talvez até prevenir a doença. No entanto, para tal seriam necessários biomarcadores da fase pré-clínica robustos, que de momento se encontram apenas em estudo. Deste modo, o

diagnóstico atual da demência associada a DA decorre maioritariamente nas fases mais avançadas da doença, em que vários dos sintomas e sinais começam a estar presentes.<sup>(47)(48)</sup>

Ao realizar o diagnóstico nesta fase, que coincide normalmente com uma idade avançada, surge outra problemática associada ao diagnóstico que se deve ao facto de se tratar de uma condição que se manifesta essencialmente em idosos, o que acentua a complexidade do diagnóstico devido à maior probabilidade de comorbilidades.<sup>(3)</sup>

Os primeiros critérios para o diagnóstico da DA foram estabelecidos por um convénio entre o NINCDS e a ADRDA, tendo o relatório resultante sido publicado em 1984. Estes critérios mantiveram-se viáveis durante cerca de 25 anos, tendo sido largamente utilizados ao nível de ensaios clínicos e investigação.<sup>(49)</sup> No entanto, 27 anos depois e com o vasto conhecimento que se foi adquirindo sobre as manifestações clínicas e a biologia desta doença tornou-se necessário proceder à sua revisão.<sup>(50)</sup> De seguida serão referidos alguns dos principais pontos deste relatório, fazendo referência às alterações ocorridas, bem como as razões que o motivou. Uma das questões em que houve necessidade emergente de revisão focou-se no facto da histologia patológica da DA ser comum num largo espetro de condições, incluindo em indivíduos que possuam um grau de cognição normal, além de que algumas dessas características não são de possível distinção anos anteriores à manifestação da doença. Assim, um dos pontos a rever foi a distinção entre esta patologia e outras demências, adicionando o facto de que algumas delas nem sequer eram conhecidas na altura em que estes critérios foram redigidos. A isto associou-se mais recentemente a visão de que tanto os processos patológicos da DA como o declínio clínico ocorrem gradualmente, sendo a demência um estágio final resultante da acumulação de muitas alterações patológicas.<sup>(51)</sup> Outra questão que necessitou de revisão foi o facto de análises imagiológicas e ao líquido cefalorraquidiano (LCR) não serem ainda suficientes enquanto fatores de decisão no diagnóstico, ao contrário do que é referido nos primeiros critérios estipulados. Esta alteração surgiu pelo grau de precisão destas análises variar entre os 23-88%, o que vai contra os valores tomados como *gold standards* neuropatológicos, que exigem uma precisão entre 65-98%. Este fator veio também contribuir para a necessidade de revisão.<sup>(50)</sup> Outro ponto prendeu-se ainda com o facto de durante muito tempo se considerar que a memória é sempre o primeiro déficit na DA, tendo-se, no entanto, vindo a documentar vários fatores não amnésicos envolvidos

na fisiopatologia de Alzheimer, como é o caso da síndrome da atrofia cortical posterior.<sup>(50)(52)</sup> A anterior falta de informação genética foi também um dos pontos que tornou obsoletos os primeiros critérios definidos, visto que atualmente se sabe existirem mutações em pelo menos três genes (na proteína precursora amiloide, presenilina 1 e 2 (PSEN1 e 2)) que têm influência na DA. Por outro lado também a questão etária, em que presentemente se reconhece que, apesar de ser raro em indivíduos mais novos, estes casos não diferem fisiopatologicamente da manifestação da doença numa idade mais avançada. Por último, a grande heterogeneidade que se registava nos casos classificados como possíveis de sofrer DA, devido à dificuldade em estabelecer precocemente um diagnóstico, foi também alvo de revisão, pois tem-se documentado uma forte associação entre a fisiopatologia da DA e demência em indivíduos mais novos, existindo agora a designação de DCL para estes casos.<sup>(50)(53)</sup>

Podem ainda referir-se critérios mais recentes, propostos pelo *Alzheimer's Association* e o *National Institute on Aging* (NIA), uma agência do *National Institutes of Health* (NIH), que se focam nas fases pré-clínicas da doença, considerando que existe uma fase assintomática da doença, uma fase de DCL associado à DA e posteriormente demência devido a DA. Nestes critérios é dada uma maior atenção à fase pré-clínica da doença, bem como um maior destaque ao papel de biomarcadores.<sup>(54)</sup>

### **3.1.1. Ferramentas de diagnóstico**

Tendo conhecimento dos critérios para o diagnóstico da DA e as revisões que lhe foram feitas pode-se agora refletir sobre os instrumentos a que é possível recorrer para realizar o diagnóstico. Segundo os primeiros critérios estipulados, as hipóteses disponíveis para a obtenção de um diagnóstico de DA envolvem a história clínica do doente, exames físicos, clínicos e psiquiátricos, neuropsicológicos e estudos laboratoriais. A recolha de informação do historial clínico do doente é usada como ferramenta para acompanhar o processo evolutivo da deterioração e documentar que funções estariam principalmente afetadas. Por outro lado, a avaliação clínica serve para complementar a restante informação e poder descartar outras patologias, podendo também ser útil no campo da investigação, bem como permitir um melhor cuidado ao doente. Testes neuropsicológicos podem servir para fornecer informação

adicional, sendo que devido à sua índole, muitas vezes apenas é possível tirar conclusões por comparação com um grupo controlo. No que diz respeito a testes laboratoriais, os primeiros critérios definidos para o diagnóstico da DA estabeleceram que não existe diagnóstico laboratorial específico para esta doença, sendo que alguns testes poderão aumentar o seu grau de certeza, podendo deste modo ajudar a clarificar a história natural da doença e avaliar o grau de eficácia das terapêuticas administradas. As principais análises apontadas pelos referidos critérios foram o eletroencefalograma, a tomografia computadorizada (TC), medição do fluxo sanguíneo na região cerebral, tomografia de emissão de positrões (PET), imagiologia por ressonância magnética e análise de fluídos corporais como o sangue e o líquido cefalorraquidiano, apesar de muitos destes apenas serem válidos, na altura, a nível da investigação. <sup>(50)(55)</sup>

Os instrumentos passíveis de serem utilizados no diagnóstico não sofreram alteração na revisão do relatório, tendo apenas mudado a forma como alguns destes são encarados quanto ao seu grau de sensibilidade. Posteriormente, estes serão descritos nesta monografia.

### **3.1.2. Classificações a atribuir consoante a análise dos critérios**

A partir dos critérios que têm sido referidos ao longo deste capítulo é possível classificar a demência por DA como provável, possível, provável ou possível com evidência fisiopatológica. <sup>(4)(9)</sup> No relatório em que se descreveram os critérios de diagnóstico pela primeira vez, o diagnóstico surgia como possível, provável ou definitivo de DA. <sup>(55)</sup>

Conclui-se um caso como provável quando o doente claramente sofre de demência acompanhado de pelo menos um dos seguintes fatores: evolução gradual dos sintomas, histórico inteligível de declínio cognitivo ou os principais e mais proeminentes défices iniciais ocorrerem a nível amnésico (na capacidade de aprendizagem e retenção de informação recente) ou não amnésico, relacionado com a verbalização – capacidade de encontrar as palavras certas, perceção espacial – reconhecimento facial, alexia - ou disfunção na execução – capacidade de decisão, julgamento. Não se deverá atribuir esta classificação caso haja evidência de uma concomitante e substancial doença cerebrovascular em conjunto com o declínio cognitivo, seja devido à presença de múltiplos ou extensos enfartes ou a lesão intensa

da substância branca, sintomas de demência por corpos de Lewis ou frontotemporal, afasia semântica, por outra doença neurológica, comorbilidade não neurológica ou uso de medicação que tenha efeito substancial na cognição.<sup>(50)</sup>

Um diagnóstico provável é atribuído em casos em que o declínio cognitivo esteja documentado, havendo assim certeza de que a condição representa uma patologia ativa e evolutiva, mas sem certeza quanto ao facto de ser devido à fisiopatologia da DA. Nestes casos, há documentação do declínio através de familiares ou cuidadores do doente, testes cognitivos no contexto de uma avaliação neuropsicológica formal ou numa avaliação padrão do estado mental. Esta atribuição pode ainda ser feita a casos que além de possuírem indícios de demência por DA, apresentem uma mutação genética no gene da PPA, PSEN1 e PSEN 2, o que aumenta o grau de certeza do diagnóstico.<sup>(50)</sup>

Um diagnóstico possível será considerado em casos que seguem um curso atípico ou de etiologia mista, ou seja, em termos clínicos corresponde à DA, no entanto existe evidência de outra razão para a doença, tal como já referido no parágrafo anterior. Este foi também um dos pontos em que ocorreu alteração na revisão dos critérios.<sup>(50)</sup>

DA provável com evidência fisiopatológica requer a presença de biomarcadores específicos, que serão abordados mais adiante. No entanto, e apesar de passarem a fazer parte dos critérios de diagnóstico internacionais, os biomarcadores não são ainda vistos como ferramentas no diagnóstico de rotina, sendo todavia úteis na investigação, em ensaios clínicos ou como ferramentas complementares de diagnóstico.<sup>(50)</sup>

Por último, um diagnóstico possível com evidência fisiopatológica serve para doentes que vão de encontro aos critérios clínicos de demência não por DA, mas que possuam evidência do processo fisiopatológico ou que correspondam aos critérios neuropatológicos desta doença.<sup>(50)(53)</sup>

### 3.2. Critérios de diagnóstico em Portugal

Os critérios até agora referidos, bem como a classificação feita em concordância com os mesmos, fazem-se constar no DSM-5, sendo também utilizados em Portugal. De acordo com a Norma 053/2011 elaborada pela Direção-Geral da Saúde (DGS), para realizar um diagnóstico da DA pode recorrer-se a avaliação cognitiva, avaliação das atividades da vida diária, das alterações psicológicas e comportamentais, avaliação imagiológica inicial, bem como outras análises e exames.<sup>(2)</sup>

A avaliação cognitiva ou neuropsicológica é referida como fundamental para a deteção e caracterização do défice cognitivo. Mencionam-se testes cognitivos breves, instrumentos para identificação do défice a nível comunitário e nos cuidados primários de saúde e também em consultas específicas, servindo ainda para acompanhar a evolução da doença e avaliar a terapêutica utilizada. Em Portugal, utiliza-se o Mini-Exame do Estado Mental (MEEM) para a deteção de demência (Quadro 3.1), sendo que no caso do défice cognitivo ligeiro este não é normalmente um bom indicador. Surge também o teste de *Montreal Cognitive Assessment (MOCA)*, um método rápido, prático e eficaz, que permite a distinção de desempenhos entre adultos com envelhecimento cognitivo normal e adultos com défice cognitivo, mostrando-se também útil na avaliação do DCL e das fases ligeira e moderada da DA. Este método foi adaptado e validado para Portugal, podendo ser recomendado em alguns casos. Os valores de sensibilidade e especificidade rondam os 81% e 77% respetivamente, no caso de diagnóstico de DCL, e 88% e 98% na deteção da DA. Poderá também ser feita avaliação cognitiva formal e extensa, que possibilita uma melhor caracterização dos domínios cognitivos mais afetados, tornando-se importante para o diagnóstico diferencial das principais formas de demência. A avaliação formal é indicada em fases iniciais da doença, quando o diagnóstico não é claro.<sup>(2)(56)</sup>

**Quadro 3.1:** Esboço do teste Mini Exame do Estado Mental. Adaptado de Wyngaarden e Smith. <sup>(10)</sup>

Exemplo de tópicos testados no Mini Exame do Estado Mental
<b>Qual o ano, estação, data, mês</b>
<b>Onde está: município, cidade, lugar, andar</b>
<b>Designe três objetos não relacionados: Cite-os lentamente e diga ao doente para repetir (Repita até que este aprenda)</b>
<b>Diga uma sequência invertida de múltiplos de “7” ou solete mundo de trás para a frente</b>
<b>Pergunte pelos três objetos acima referidos</b>
<b>Peça ao doente que repita: “Sés, e ou mas”</b>
<b>Siga um comando em três estágios (“Apanhe um papel, dobre-o e coloque sobre o chão”)</b>
<b>Escreva uma frase simples</b>
<b>Copie pentágonos entrecortados</b>

Para a caracterização do prejuízo funcional decorrente do processo demencial é referida a avaliação das atividades de vida diária, que apesar de difícil concretização devido à enorme variabilidade de tarefas que um adulto pode realizar no seu dia a dia, acaba por ser utilizada tendo em conta as principais tarefas básicas diárias como fazer compras, lavar loiça ou cozinhar, permitindo um acesso às competências generalizadas. A escala de Lawton é uma das mais amplamente divulgadas, sendo que para o DCL poderão indicar-se escalas mais extensas.<sup>(2)(57)</sup>

Também para a avaliação de alterações psicológicas e comportamentais se referem diversas escalas, de entre as quais o inventário neuropsiquiátrico e a escala de depressão geriátrica. O inventário neuropsiquiátrico é um teste que tem como base uma entrevista estruturada a um cuidador da pessoa que possa ter demência. Os cuidadores são assim vistos como fonte de informação, uma vez que os doentes não têm normalmente capacidade para se lembrar ou descrever sintomas em fases mais avançadas da doença. Com a entrevista é possível identificar a existência de alucinações, ansiedade, agitação e comportamentos motores aberrantes, permitindo no final estabelecer perfis neuropsiquiátricos. Ainda neste

campo poderá também ser utilizada a escala de depressão geriátrica, de forma a avaliar o estado psicológico do sujeito. <sup>(2)(58)</sup>

No que diz respeito a análises imagiológicas, a DGS refere a TC crânio-encefálica, por questões financeiras e de maior disponibilidade na realização deste exame. A ressonância magnética (RM) permite uma quantificação volumétrica de estruturas cerebrais relevantes, sendo atualmente aceite como um biomarcador e tendo, por isso, recentemente sido inserida nos critérios de diagnóstico precoce da DA. <sup>(2)(50)</sup>

Relativamente a casos de apresentação atípica estarão indicados outros exames como a punção lombar para análise do LCR (em casos suspeitos de envolvimento neoplásico, inflamação ou infeção do sistema nervoso central) e a PET cerebral com fluorodesoxiglicose (FDG) ou composto B de Pittsburgh (PIB). Situações em que exista história familiar sugestiva de doença autossómica dominante ou um fenótipo sugestivo poderá efetuar-se pesquisa de mutações em genes implicados. Em casos que não indiquem causa genética não é recomendado o estudo genético na prática clínica. <sup>(51)(53)</sup>

### 3.3. Principais métodos de diagnóstico utilizados

De acordo com o *NIH Biomarkers Definitions Working Group*, um biomarcador é uma característica objetivamente medida e avaliada como um indicador de processos biológicos habituais, patogénicos ou da resposta farmacológica a uma intervenção terapêutica. No entanto, esta não é a única definição presente na literatura, existindo também, a definição proposta pelo *International Programme on Chemical Safety*, liderado pela OMS que em coordenação com as Nações Unidas e a *International Labor Organization*, definiu biomarcador como qualquer substância, estrutura, processo ou produtos resultantes que esteja(m) presente(s) no organismo, seja mensurável e influencie ou preveja o impacto da doença. <sup>(59)(60)</sup> Pode ainda referir-se numa definição mais abrangente em que é tido em conta o efeito de uma terapêutica, intervenção ou até mesmo de exposição ambiental não intencional (como por exemplo, a exposição a químicos ou nutrientes). Pode ainda definir-se biomarcador como qualquer medida que reflete uma interação entre um sistema biológico e um potencial risco, que pode ser de origem química, física ou biológica. <sup>(61)</sup> Existem assim várias formas de definir

um biomarcador, razão pela qual, tal como irá ser falado posteriormente, características moleculares, histológicas, radiográficas ou fisiológicas podem funcionar como biomarcadores. Porém, um biomarcador não deve ser considerado como uma ferramenta de acesso às funções, capacidade de sobrevivência ou forma como um indivíduo se sente, embora em relação a esta parte possam existir diferentes opiniões. <sup>(62)</sup>

Para que uma das características referidas seja qualificada como um biomarcador, deverá possuir ela própria alguns requisitos que o permitam, nomeadamente ser estável ao longo do tempo, reprodutível, estar disponível em quantidades suficientes e refletir diretamente a relevância no processo da doença. <sup>(63)</sup>

Um biomarcador pode ser obtido através de amostras variadas de tecidos, como o cérebro, músculo, nervos, pele ou de fluídos como o sangue e a urina, quer ao longo do estado patológico em questão, quer na ausência de doença. <sup>(64)</sup>

Devido à grande variedade que acompanha os biomarcadores quanto à sua origem, podem então considerar-se diferentes categorias, consoante o papel que este possa assumir ao longo do curso de uma doença:

- 1) biomarcador de risco/suscetibilidade;
- 2) biomarcador de diagnóstico;
- 3) biomarcador de monitorização;
- 4) biomarcador de prognóstico;
- 5) biomarcador preditivo. <sup>(62)(64)</sup>

A partir destes instrumentos pode então ser possível delinear os diferentes eventos entre exposição e doença, nomeadamente, identificar mecanismos pela qual estes dois últimos estão relacionados. Um biomarcador pode também permitir a identificação de acontecimentos iniciais na história natural da doença, reduzir classificações incorretas acerca da exposição, fatores de risco e doença, estabelecer a relação dose-resposta relativamente a terapêuticas e estabelecer questões de variabilidade, bem como fatores modificadores. <sup>(55)</sup> Há quem defenda uma categorização apenas dupla de biomarcadores: de exposição, que predizem o risco de desenvolver determinada patologia ou biomarcadores de doença, utilizados para o diagnóstico e monitorização da patologia. <sup>(64)</sup> Um biomarcador de exposição

servirá para detetar a dose biológica efetiva do que estiver a causar um determinado distúrbio (pode ser, por exemplo, uma toxina ou um agente químico), permitindo determinar a dose interna do agente no organismo e perceber com maior precisão a influência da exposição. No caso de doenças crónicas neurológicas como a DA, torna-se difícil encontrar biomarcadores de exposição que sejam estáveis durante um longo período de tempo. Também fatores de suscetibilidade genética podem ser considerados como biomarcadores de exposição ou igualmente chamados de antecedentes, sendo que, para isso, deverão existir antes da doença ou do seu resultado ocorrer e ser independentes de outras exposições.<sup>(65)(66)(67)</sup> Esta é uma classe que está a crescer rapidamente na área das desordens neurológicas. No caso da DA, por exemplo, a identificação de uma variante no alelo do gene apoE é bastante útil para a classificação do risco de desenvolver a doença e para fornecer informação sobre a patologia.<sup>(64)</sup>

No que diz respeito a biomarcadores de doença, estes referem-se a ferramentas que possibilitam a deteção de fases prodrómicas, permitindo um diagnóstico precoce e/ou determinar mais precocemente um tratamento que proporcione bons resultados. Neste caso, os biomarcadores são usados como indicadores de fatores biológicos (que representam ou uma manifestação subclínica da doença ou outras formas desta se manifestar). Estes permitem a identificação de indivíduos suscetíveis à doença, podendo, conseqüentemente, reduzir a heterogeneidade na seleção de indivíduos para participar em ensaios clínicos ou estudos epidemiológicos. Servem também para refletir a história natural da doença. Deste modo, pode-se então concluir que as funções de biomarcadores não se restringem apenas ao diagnóstico, podendo também exercer um papel fundamental na investigação e desenvolvimento de fármacos.<sup>(64)</sup>

Além das duas classificações referidas para biomarcadores pode ainda referir-se uma terceira, a de biomarcadores intermédios. Neste grupo incluir-se-ão aqueles que representam a doença, mas estão de alguma forma relacionados com a exposição ou vice-versa.<sup>(64)</sup>

No que concerne à participação de biomarcadores no desenvolvimento de novos fármacos, o objetivo é o de aumentar a segurança e eficácia de novas terapias e, conseqüentemente reduzir os custos de desenvolvimento. Os biomarcadores inserem-se nesta área como forma de determinar o grau de ligação do fármaco ao seu alvo, permitindo uma melhor previsão e compreensão da fisiopatologia, como esta é alterada pela terapêutica

e monitorizando variáveis que se saibam ser de relevância clínica.<sup>(68)</sup> Biomarcadores que monitorizem mecanismos fisiológicos ou fisiopatológicos específicos poderão, assim, ser utilizados para selecionar um alvo terapêutico de entre os vários possíveis, identificando aqueles que sejam mais sensíveis à intervenção. Poderão ainda revelar novos alvos terapêuticos e otimizar a seleção de moléculas que possam interagir com esses mesmos alvos, bem como identificar perfis característicos de toxicidade, evitando o desenvolvimento do fármaco caso a molécula não apresente um perfil de segurança adequado.<sup>(68)</sup>

Na sequência desta última finalidade referida e de acordo com a NIH, poderão classificar-se biomarcadores em classe 0, I e II, que vão de encontro à classificação já referida para biomarcadores.<sup>(68)</sup> O tipo 0 inclui marcadores da história natural da doença, correlacionando-se longitudinalmente com índices clínicos conhecidos, como é o caso de sintomas que ultrapassem o leque dos vários estádios da doença, enquanto os de tipo I incluem marcadores restritos à avaliação dos efeitos de uma intervenção e os de tipo II são utilizados para prever o benefício clínico da terapêutica a ser desenvolvida.<sup>(69)</sup> Estes últimos são normalmente medidas laboratoriais ou sinais físicos, usados em ensaios clínicos como substitutos de uma medida direta da forma como os doentes se sentem ou de como as suas funções fisiológicas se encontram e que poderão permitir augurar o efeito terapêutico.<sup>(68)</sup> No caso da DA estes biomarcadores poderão também ter um papel importante, pois uma vez que grande parte do desenvolvimento terapêutico decorre no sentido da fase precoce da doença (com vista a tentar retardar a sua evolução), em que ainda não se verificam sintomas, torna-se difícil a seleção de participantes em ensaios clínicos. Um dos problemas encontrado na realização de ensaios clínicos de fármacos para a DA era exatamente o facto dos participantes muitas vezes não estarem no estádio da doença que se pretendia para aquela análise do fármaco, facto que só mais tarde era determinado, mas causava influência nos resultados dos ensaios. Outro problema refletia-se no facto de alguns dos participantes nem sequer possuírem a doença em questão, apesar de demonstrarem indícios, comprometendo mais uma vez os resultados. Assim se verifica que o papel de biomarcadores poderá não só visar o progresso no diagnóstico, mas também contribuir para o aparecimento de soluções para reverter ou diminuir a evolução da doença, ainda que os resultados da sua utilização tenha sido até agora contraintuitivo e de difícil interpretação.<sup>(70)</sup>

Por outro lado, um dos grandes problemas relacionados com biomarcadores é a questão da variabilidade, ou seja, a forma como o fator a ser medido pode-se fazer representar em cada indivíduo. Questões como a dieta ou outras características pessoais podem facilmente interferir com a medição de um parâmetro biológico, intervindo assim com a avaliação do correspondente biomarcador.<sup>(64)</sup> Na validação de um biomarcador deverá então ter-se em conta a sua sensibilidade e especificidade, devendo também haver especial cuidado na interpretação de resultados, nomeadamente se esses dizem respeito à doença ou a algo que dela resulte.<sup>(71)</sup> Um exemplo é novamente a mutação no gene apoE, que está fortemente associado à DA, mas cuja presença não determina absolutamente que a doença se vá desenvolver.<sup>(72)</sup>

No caso específico de demências, os biomarcadores também podem ter um papel nos vários momentos que já foram aqui referidos, nomeadamente na distinção de diferentes aspetos da desordem neurológica, como alterações patológicas pré-sintomáticas, na previsão do declínio, na conversão entre estádios da doença e sua progressão ou na resposta ao tratamento. Na DA os principais biomarcadores relatados que serão descritos mais à frente inserem-se nas categorias de análise imagiológica, análise de fluídos orgânicos e análise genómica.<sup>(64)(68)</sup>

Para a deteção dos biomarcadores podem recorrer-se a variadas técnicas ou exames que serão também abordados de seguida.

### **3.3.1. Análise Imagiológica**

Biomarcadores imagiológicos têm vindo a ser cada vez mais utilizados na deteção e previsão da DA, pela sua capacidade de detetar alterações na estrutura cerebral (como a atrofia) e na sua função (hipometabolismo, placas amiloides e formação de entrelaçados neurofibrilares), mesmo antes de surgirem os primeiros sintomas de declínio cognitivo. Talvez por isso, sejam considerados dos marcadores mais importantes na DA.<sup>(73)(74)</sup> Além disso, a imagiologia é também uma alternativa não invasiva para o diagnóstico de síndromes neurológicas, que apresenta elevada especificidade em comparação a outras modalidades de diagnóstico.<sup>(75)(55)</sup> Através da neuroimagiologia podem obter-se vários biomarcadores,

nomeadamente relativos à perda de volume cerebral, com particular atenção para a zona do hipocampo. <sup>(76)(77)(78)</sup>

Podem utilizar-se como ferramentas de diagnóstico para a medição de biomarcadores nesta área a PET, a tomografia computadorizada por emissão de fótons (SPECT), RM ou a TC, que são os mais utilizados para o diagnóstico da DA e serão agora descritos com mais pormenor. <sup>(77)(78)</sup>

### **3.3.1.1. Tomografia por emissão de positrões**

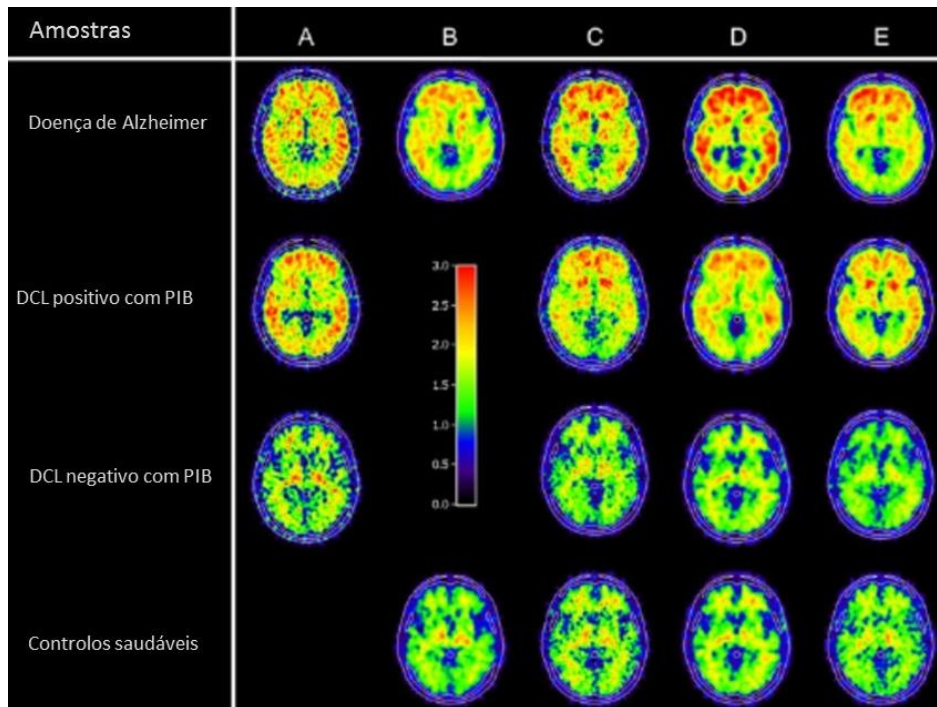
A tomografia por emissão de positrões é uma técnica imagiológica do ramo da medicina nuclear. Esta recorre a radiofármacos, moléculas biologicamente ativas que se ligam a elementos radioativos (radionúclidos), com capacidade de se acoplar a tecidos e emitir positrões ao sofrerem decaimento radioativo, permitindo assim a sua observação imagiológica por emissão de radiação. <sup>(49)(79)</sup> Assim, a PET irá permitir obter a taxa de radiofármaco que é captada por células-alvo específicas no corpo do doente, baseando-se no decaimento do radionúclido a ser utilizado. <sup>(25)(80)</sup>

A câmara PET irá detetar pares de raios gama que resultam indiretamente do decaimento do radiofármaco previamente administrado ao doente, permitindo assim medir a quantidade de radiofármaco que é absorvida pelo organismo e que dará origem a essa radiação. Em casos de avaliação neurológica, a administração é feita via intravenosa e o material radioativo entra no cérebro através da BHE. A acumulação e distribuição do radiofármaco varia consoante a presença ou ausência de patologia e consoante a patologia de que se tratar. Mais pormenorizadamente os positrões emitidos atravessam alguns milímetros dos tecidos na proximidade da vasculatura neural. Este processo é acompanhado por uma rápida perda de energia cinética por parte dos positrões, que ao viajarem lentamente, interagem com os eletrões presentes nas células neuronais, gerando raios gama que por sua vez irão viajar com um ângulo de 180º entre si, fenómeno este chamado de aniquilação. Os raios gama emitidos, seguidos pela aniquilação, são detetados pela câmara PET, gerando vistas tridimensionais do radiofármaco acumulado no corpo do doente. <sup>(25)(81)</sup>

Para a realização deste exame o doente é colocado em posição supina dentro da câmara, começando por uma observação selecionada, seguida da digitalização duma região definida, sem administração de contraste IV. Será assim feita a avaliação da densidade de recetores neuronais ocupados pelo radiofármaco, permitindo a sua caracterização.<sup>(77)(78) (81)</sup>

Alguns dos compostos que se podem utilizar numa PET são a F-18 FDG, sendo este um dos exames que permite obter dados incomparáveis sobre o metabolismo cerebral. No caso da DA é possível detetar um padrão de neurodegeneração comumente descrito e causado por redução metabólica, especialmente nas regiões bilaterais temporo-parietais e posterior.<sup>(82)(83)</sup> Uma meta-análise realizada em 2012 apresentou valores de 88,8% e 84,9% de sensibilidade e precisão, respetivamente, para a capacidade de prever a progressão para DA o que pode indicar esta opção como uma possibilidade para diagnóstico precoce.<sup>(83)(84)</sup>

Outro composto utilizado é o Composto B de Pittsburgh (PIB), que permite a deteção de placas amiloides *in vivo*. Tanto o FDG como o PIB foram os primeiros a serem desenvolvidos para a realização da PET. Ambos se ligam com uma afinidade nanomolar à proteína amiloide e entram no cérebro em concentração suficiente, ficando retidos a nível neocortical e subcortical num grau significativamente superior em doentes de DA (Figura 3.1).<sup>(80) (85)</sup>



**Figura 3.1:** Resultados de várias PETs realizadas em indivíduos saudáveis, com DC e indivíduos com DA, recorrendo ao PIB. A escala de cores representa a retenção de PIB. Adaptado de Nordberg e Carter *et. al.*<sup>(85)</sup>

Por comparação, na mesma meta-análise já mencionada, o PIB apresentou maior sensibilidade para prever a conversão a DA, mas inferior especificidade, sugerindo que poderá servir como biomarcador para outras demências. Os estudos realizados neste sentido apresentam grande variabilidade nos seus resultados, o que muitos autores apontam como causa a variabilidade desde logo no diagnóstico da demência, em que não existe certeza de que os indivíduos que participam nestes estudos possuam de facto DCL e posteriormente DA.<sup>(83)</sup>

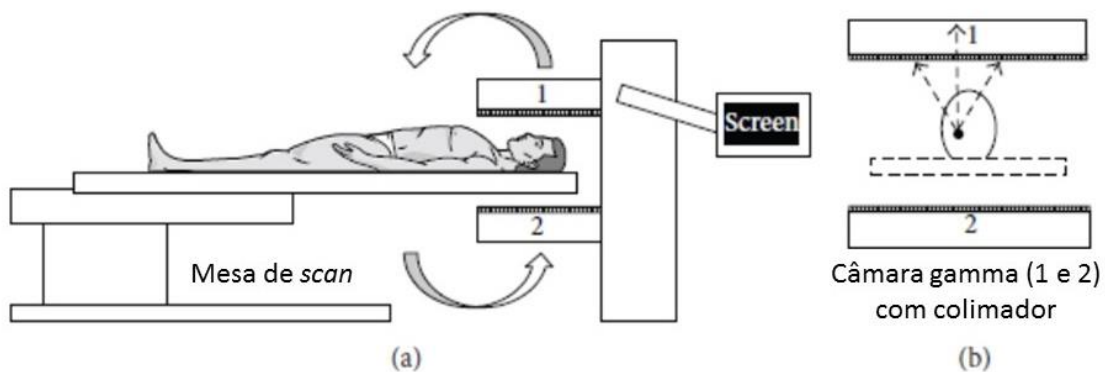
A sensibilidade estimada de uma forma geral para o uso de PET com recurso a marcadores da amiloide é de 93% e a especificidade de 56.2%. Também este tipo de análise e biomarcadores parecem confirmar uma precoce acumulação de A $\beta$  em indivíduos que apresentem risco genético.<sup>(25) (84)</sup>

O grande problema neste caso é a necessária proximidade de um ciclotrão, devido ao curto tempo de semi-vida dos radiofármacos utilizados. No entanto, as doses de radiação a que o doente será exposto será muito inferior às de exames como uma TC ao abdómen, por exemplo.<sup>(82)</sup>

### 3.3.1.2. Tomografia computadorizada por emissão de fóton único

A SPECT é uma modalidade da medicina nuclear similar à PET, no que diz respeito à utilização de radioatividade durante o exame. A diferença entre PET e SPECT é que esta última emite um raio gama a cada decaimento, que é diretamente detectado pela câmara SPECT, estando esta em rotação ao longo do exame, como forma de gravar as projeções emitidas. <sup>(86)</sup> Qualquer emissão que não se propague no ângulo pretendido, por comparação com o ângulo de referência é rejeitada (Figura 3.2).<sup>(75)</sup>

Neste caso, os principais radiofármacos utilizados são o Iodo ( $^{123}\text{I}$ ) e o Tecnécio ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ), que possuem maior tempo de semi-vida em relação a outros radiofármacos, dispensando assim a necessidade de um ciclotrão ou de instalações especializadas de radiofarmácia. <sup>(87)</sup> Esta é uma das vantagens da SPECT em relação à modalidade anterior, os custos mais reduzidos e a maior acessibilidade, apesar da PET apresentar maior resolução, sensibilidade e capacidade de quantificação. <sup>(88)</sup> Como resultado, as imagens obtidas apresentam diferenciação anatômica, em conjunto com uma distribuição quantitativa do fármaco.<sup>(75)</sup>



**Figura 3.2:** Representação esquemática de uma câmara SPECT em (a) e a detecção das emissões de radiação num ponto de referência em (b). Adaptado de Arora e Bhagat *et.al.*<sup>(75)</sup>

Outro dos principais radiofármacos usados na SPECT é a combinação TC-HMPAO (*hexamethylpropylene amine oxime*), que permite medir a perfusão cerebral e representa de forma indireta o metabolismo do cérebro. <sup>(89)(90)</sup>

Até agora, a investigação realizada sugere uma precisão entre 65-85% da SPECT no diagnóstico de DA, havendo, no entanto, alguma incerteza quanto a estes valores e quanto à

questão desta ser ou não a melhor modalidade a utilizar neste diagnóstico, o que justifica o facto das *guidelines* europeias considerarem SPECT e PET como equivalentes.<sup>(89)(90)</sup> Quer visualmente, quer quantitativamente um estudo publicado em 2014 apresentou a SPECT Tc-HMPAO como tendo uma menor performance no diagnóstico da DA do que a PET.<sup>(90)</sup> Tanto PET como SPECT encontram-se em investigação, sendo a tendência cada vez maior para a sua incorporação na prática clínica.<sup>(82)</sup>

### 3.3.1.3. Ressonância magnética

A RM é outra das modalidades imagiológicas passiva de ser utilizada quando há suspeita de DA.<sup>(77)(78)(91)</sup> Neste caso a imagem é obtida através do fundamento de que um material quando colocado sob a influência de um campo magnético consegue absorver e depois re-emitir radiação eletromagnética numa frequência específica. Ao colocar-se um tecido num campo magnético os seus protões (ou qualquer elemento com número ímpar de partículas nucleares, como o sódio ou o fósforo) irão alinhar-se com esse campo, sendo depois alterada a radiofrequência de modo a desalterar esse alinhamento e posteriormente desligando essa radiofrequência para que os protões voltem ao estado inicial. Assim, irá ser obtido um sinal de radiofrequência, obtendo-se uma imagem no computador através de técnicas semelhantes às utilizadas também numa TC.<sup>(10)(81)</sup>

A RM é utilizada para visualizar qualquer parte do corpo, exibindo alto contraste e sendo particularmente útil em casos neurológicos, musculares, tumores ou em casos que se registem anomalias no sistema cardiovascular. O facto desta técnica não recorrer ao uso de radiação ionizante faz com que seja mais adequada para crianças e grávidas, apesar da duração do exame (cerca de 20-40 minutos), nos quais o doente tem de ficar imóvel. Também está desaconselhado aquando da existência de *pacemakers*, implantes dentários ou neuroestimuladores.<sup>(10)(81)</sup>

No caso da DA esta modalidade imagiológica permite a obtenção de padrões atróficos predominantes no lobo temporal médio e nos córtices tempoparietais, fator de importante distinção no diagnóstico da doença.<sup>(92)</sup> Normalmente oferece mais informação do que a TC em casos que remetam para problemas intracranianos, da cabeça, pescoço e vertebrais,

devido à sua elevada sensibilidade ao contraste e capacidade de imagiologia em vários planos. A utilização desta técnica como imagiologia funcional do cérebro é um dos ramos em que tem havido mais progresso.<sup>(82)</sup>

#### **3.3.1.4. Tomografia computadorizada**

A TC, já aqui referida por comparação a outras análises imagiológicas, utiliza raios-X de diferentes ângulos para fornecer uma imagem do tecido. A imagem é obtida pela rotação de um tubo de raios-X à volta do indivíduo, estando também um anel de detetores à volta deste para medir a radiação transmitida. A informação obtida é depois reconstruída através de processamento computadorizado, sendo que órgãos diferentes absorvem a radiação de forma diferente, consoante se tratem de tecidos mais ou menos densos. <sup>(81)(82)</sup>

No caso da TC existem mais desvantagens em relação às técnicas anteriormente referidas, nomeadamente devido ao facto de utilizar radiação ionizante e em grandes quantidades (equivalente a 500 raios-X), poder resultar toxicidade do uso de material de contraste (alergias ou toxicidade renal), nem todas as zonas do corpo conseguirem boas imagens e os custos que estão associados. No entanto, quando em comparação com a RM oferece uma melhor resolução espacial. A sua utilização em problemas intracranianos ainda é elevada, no entanto, neste caso os esforços são no sentido de reduzir o âmbito do exame, procurando-se sempre ponderar o emprego de outras técnicas, que não sejam ionizantes. <sup>(81)(82)</sup>

#### **3.3.2. Análise cognitiva**

De forma a avaliar a cognição recorrem-se também a outros testes que já foram aqui mencionados, como o MEEM ou o MOCA (ver Secção 3.2 Critérios de Diagnóstico em Portugal). Pode também recorrer-se a uma escala de avaliação cognitiva para a DA, o *Alzheimer's Disease Assessment Scale – Cognitive* (ADAS-Cog), sendo esta a medida objetiva de alterações cognitivas mais utilizada a nível de ensaios clínicos.<sup>(93)</sup> Este último consiste num conjunto de 11 provas de desempenho no campo da memória, linguagem, conduta e

orientação conduzido por um especialista ou psicólogo. Este exame tem permitido avaliar o efeito duma terapia, por comparação de grupos de indivíduos a ela submetidos com um grupo placebo. Mais recentemente é referida também a possibilidade deste ser utilizado em indivíduos que apresentem sintomas ligeiros, apesar de nesta fase a sua utilização estar mais limitada. <sup>(81)(93)</sup>

Um estudo de meta-análise de 2015 apresentou resultados bastante variados para a sensibilidade e especificidade do MEEM, com intervalos entre 27% a 89% para a sensibilidade e 32% a 90% para a especificidade, no entanto, a importância deste género de análises não foi questionada, devido à capacidade de indicarem que áreas cognitivas apresentam maior declínio. <sup>(94)</sup>

Com estes e outros exames procura-se avaliar de que forma a parte cognitiva e neuropsicológica estão afetadas.

### **3.3.3. Análise genómica**

Já foi falado neste capítulo da hipótese do gene PSEN desempenhar um papel importante na fisiopatologia da DA, constituindo por isso uma hipótese de análise no seu diagnóstico. Contudo, não é o único gene que pode ser relacionado a esta demência.

O gene que codifica a apoE regula a homeostasia lipídica, mediando o transporte lipídico entre células. Este existe sob a forma polimórfica de três alelos ( $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$  e  $\epsilon 4$ ), sendo conhecido por ter também um papel importante no metabolismo de A $\beta$ , que como já aqui foi referido, poderá ser um dos fatores cruciais no desenvolvimento da DA, estando os seus níveis relacionados com o desenvolvimento ou não da doença. Assim, parece fazer sentido que a análise ao genótipo apoE possa funcionar como um marcador para o diagnóstico da DA, ou como um fator que influencie outros biomarcadores já mencionados. <sup>(95)</sup>

Atualmente o estudo genético para diagnóstico da DA é referido apenas para casos em que exista “história familiar sugestiva de doença autossómica dominante ou um fenótipo sugestivo”. Porém, como a maioria dos doentes de DA não se enquadra neste grupo, este

biomarcador não é recomendado na prática clínica, sendo à semelhança do que acontece com outros, mais utilizado na investigação ou em ensaios clínicos.<sup>(2)</sup>

### 3.3.4. Análise de fluidos corporais

Como se pôde avaliar até aqui, a principal categoria de diagnóstico da DA é a imagiologia. Contudo, os exames disponíveis são de uma forma geral dispendiosos, por vezes, pouco confortáveis para o doente e não garantem um diagnóstico. Deste modo, verifica-se uma incessante procura de novos biomarcadores, que possam ser utilizados em exames mais práticos, tais como uma análise à urina ou ao sangue. Atualmente, este tipo de exames é restrito a casos em que a doença surge com uma apresentação atípica, em que há aspetos concomitantes com outras doenças ou uma rápida evolução dos sintomas.<sup>(2)(67)</sup>

Esta prática encontra-se de momento limitada a ensaios clínicos, programas de investigação ou em casos de maior complexidade de diagnóstico. Aqui os biomarcadores utilizados são principalmente medidos no LCR, havendo pesquisa principalmente de  $\beta$ -amiloide e tau. O LCR é uma espécie de ultrafiltrado do plasma sanguíneo, tendo uma constituição muito semelhante a este, com exceção para a sua concentração proteica, que é muito diminuta no LCR, apresentando estas grandes quantidades de cloreto de sódio. Em condições normais não se observam elementos celulares na sua constituição, servindo como amortizador do SNC. Aqui é possível justificar a sua utilização como ferramenta de pesquisa de DA, devido à proximidade aos locais onde ocorrem as principais alterações patológicas da doença.<sup>(67)</sup>

Apesar da sua não utilização clínica começam a surgir critérios para a utilização destes biomarcadores no processo de classificação do diagnóstico da DA, como é o caso do International Work Group e do NIA-*Alzheimer's Association*, que integram  $A\beta_{42}$  e proteínas tau no LCR como biomarcadores. Este é um dos pilares fundamentais que poderá trazer vantagem ao uso de biomarcadores: a forma de classificar o diagnóstico de DA, já aqui falado (Capítulo 3. Diagnóstico atual da Doença de Alzheimer). Existem várias correntes de pensamento quanto à forma de classificar um diagnóstico para esta patologia, podendo alterar os biomarcadores considerados, a importância que é dada a cada um deles para

concluir o diagnóstico e até a classificação dos diferentes estádios da doença. Tudo isto são componentes importantes em que é emergente um consenso para potenciar a utilização eficaz de biomarcadores, caso contrário não será possível reunir análises e resultados suficientes que concluam sobre a capacidade de um biomarcador para o diagnóstico da DA. Numa publicação recente (Clifford *et. al*) a solução poderá passar por um sistema de classificação de biomarcadores que seja de fácil interpretação e uso, podendo categorizar as informações obtidas por diferentes análises num sistema A/T/N, em que A representa o valor de um biomarcador  $\beta$ -amiloide (por exemplo, PET-amiloide ou A $\beta$ 42 em LCR), T o de um biomarcador tau (PET-tau ou tau presente no LCR) e N o de biomarcadores de neurodegeneração (PET-FDG ou RM estrutural), sendo a cada um deles atribuída a classificação positivo/negativo (exemplo: A<sup>+</sup>/T<sup>-</sup>/N<sup>-</sup>), permitindo assim uma melhor perceção sobre o papel de cada biomarcador e a sua possível relação com a demência em causa. <sup>(96)</sup>

Desta forma, embora proteínas A $\beta$ , tau e ainda outros intervenientes no processo possam ser pontos-chave na DA, o facto de não existir para já um consenso quanto à especificidade destes biomarcadores nesta patologia (também por existirem várias formas das proteínas, especialmente da A $\beta$ ), aliado ao facto de se verificar uma grande variabilidade nos resultados obtidos por falta de padronização nos procedimentos, tem levado a resultados contraditórios quanto à capacidade preditiva destas análises e faz com que, atualmente, não se registre a sua utilização na prática clínica, excetuando para a exclusão de outras patologias ou em casos de expressão atípica da patologia em questão. No entanto, devido à óbvia participação que estes possuem na fisiopatologia da DA vários biomarcadores desta categoria se encontram em estudo e serão revistos no capítulo seguinte. <sup>(67)(96) (97)</sup>

#### **4. Diagnóstico precoce: possíveis abordagens futuras**

Até aqui foram enunciadas algumas das técnicas e análises utilizadas atualmente para diagnosticar a DA. Embora tenha existido uma grande evolução que permitiu um crescimento na precisão dos resultados, é possível concluir-se que distinguir esta de outras demências ainda não é um processo simples ou que seja possível em cem por cento dos casos. Além do óbvio problema para um doente de DA, tal retarda também a evolução de novos tratamentos,

uma vez que dificulta a concretização de ensaios clínicos, quer por nem sempre os participantes serem doentes (ainda é comum a confusão com outras demências, especialmente em fases precoces), quer por não se saber em que estágio da doença se encontram. Neste ponto pode então concluir-se que a DA não possui ainda nem métodos de obter um diagnóstico absolutamente preciso, nem terapia efetiva que retarde a sua evolução e garanta um maior período de vida com qualidade ao doente.

Vários estudos realizados ao longo dos últimos anos têm apresentado sinais patológicos da DA anos antes dos primeiros sintomas e sinais da doença se começarem a manifestar, apontando para uma nova fase pré-demência a que se atribuiu o nome de DCL, como começou por ser referido neste trabalho. Tendo em conta esta nova perspetiva, surgiu interesse em apostar no estudo de biomarcadores precoces da doença, ao em vez da sua fase sintomática, uma vez que não parece existir grande resultado em tentar retardar a patologia neste ponto. É neste sentido que surge a necessidade de detetar biomarcadores precoces da DA, ou seja, encontrar indicadores da doença para estádios iniciais e assintomáticos, para que possam começar por ser utilizados em ensaios clínicos e possivelmente permitir a descoberta de novos alvos terapêuticos e, quiçá, posteriormente serem também utilizados a nível clínico, de forma a possibilitar um diagnóstico clínico precoce. Consequentemente a possibilidade de planeamento e melhores cuidados ao doente poderão daí advir.<sup>(98)</sup>

Seguidamente serão apresentados alguns dos principais biomarcadores a serem estudados para uma fase precoce e que se podem incluir em análises imagiológicas, análises a fluídos corporais ou estudos genómicos. Como se pode constatar tratam-se das mesmas categorias elencadas no capítulo anterior (Capítulo 3.3 Principais métodos de diagnóstico utilizados), sendo de realçar que nenhuma delas foi até agora comprovada ou é admitida na prática clínica.<sup>(99)(100)</sup>

## 4.1. Análise Imagiológica

### 4.1.1 Ressonância magnética avançada

A imagiologia é sem dúvida uma das principais possibilidades atuais no diagnóstico na DA. No entanto, no que toca a uma avaliação precoce do desenvolvimento da DA, enquanto atualmente se procura principalmente a existência de atrofia cerebral, os principais intervenientes numa fase precoce poderão ser placas amiloides depositadas, tau, neuro-inflamação ou disfunção sináptica. Neste sentido, e por ser uma área em que já existe alguma experiência de diagnóstico, há um grande desejo de encontrar biomarcadores precoces que possam ser detetados através destas técnicas. A RM, já aqui apresentada no capítulo anterior, é usada atualmente para a avaliação da atrofia cerebral. Porém, começa a surgir como hipótese a RM funcional em estado de repouso, com resultados promissores para a sua utilização no futuro como um detetor do impacto precoce de modificações na função cerebral. Esta é uma técnica que permite detetar alterações no fluxo sanguíneo como resposta a atividade neural, recorrendo às diferenças no fluxo sanguíneo em diferentes regiões do cérebro.<sup>(101)</sup> Deste modo, poderá oferecer uma opção não-invasiva para a recolha de informação semelhante à obtida com uma PET-FDG, mas em fases pré-sintomáticas. O que se verifica com esta análise? Nos ensaios realizados têm sido visíveis alterações na conectividade, nas zonas tempo-parieto-frontal em estado de repouso, bem como alterações relacionadas com a ativação de componentes presentes nessas zonas (que podem preceder os danos cerebrais em muitos anos), em indivíduos pré-sintomáticos, mas com risco elevado de desenvolver DA. A procura de alterações no volume da substância cinzenta consegue normalmente indicar a conversão do DCL para a DA, no entanto se observarmos antes alterações funcionais a nível cerebral, poderemos obter informações sobre fases precoces da doença, a sua progressão ou até mesmo da resposta à terapia, com maior sensibilidade.<sup>(99)(102)(103)</sup>

#### 4.1.2. Imagiologia por difusão de tensão

Na sequência do ponto anterior, a imagiologia por difusão de tensão (IDT) é uma das técnicas por ressonância magnética e outra das hipóteses promissoras a ser estudada, como biomarcador *in vivo* de alterações nas substâncias branca e cinzenta.<sup>(104)(105)</sup>

A IDT é uma medida das movimentações aleatórias de moléculas de água. Esta acaba por ser traduzida em dois parâmetros principais: fração anisotrópica (FA), que traduz a dependência direcional da difusão protónica no tecido cerebral e magnitude de difusidade (MD). A substância cinzenta é um exemplo de ambiente isotrópico, em que a difusão das moléculas segue uma distribuição Gaussiana, apresentando o mesmo comportamento em todas as direções. Se esta movimentação aleatória estiver restringida por algum motivo, como por exemplo devido a trilhos de substância branca, a restrição anisotrópica é expressa pela FA, que vai de 0 (considerado um nível de difusão isotrópica) a 1 (difusão exclusivamente unidirecional). A substância cinzenta é caracterizada por difusão isotrópica, enquanto na substância branca de um cérebro saudável, as moléculas de água movem-se mais livremente ao longo das fibras de axónios, mas são relativamente restringidas perpendicularmente a estas (devido a um justo empacotamento de axónios e lençóis de mielina). Assim, enquanto na substância cinzenta o FA é normalmente baixo, na substância branca este será superior. Em casos em que a integridade de axónios e mielina é rompida, como acontece na DA, haverá uma característica alteração na difusão das moléculas de água. Até agora esta alteração característica parece ser sensível a alterações precoces na microestrutura do cérebro e que potencialmente precedem alterações macroestruturais.<sup>(104)(106)</sup>

Estas alterações não sendo exclusivas da DA, poderão servir para predizer a sua progressão, independentemente da perda de volume cerebral na fase prodrómica.<sup>(104)(106)</sup>

O hipocampo é uma das primeiras regiões a ser afetada pela patologia da DA e a IDT surge como uma hipótese para a quantificação de alterações microestruturais nesta zona, com maior sensibilidade que a quantificação da perda de volume, que até então tem sido das mais referidas aquando de um diagnóstico. Também a região média e lateral-temporal apresentam um aumento de MD que pode contribuir para a distinção entre DA e outras patologias neurológicas, recorrendo a esta técnica imagiológica.<sup>(107)</sup>

Como qualquer técnica, a IDT apresenta algumas desvantagens, nomeadamente o facto de a sua qualidade e robustez ser facilmente afetada pela movimentação do indivíduo ou pelas suas pulsações cardíacas, por exemplo. Também os métodos analíticos utilizados contribuem grandemente para variação nos resultados, razão pela qual para o emprego desta técnica em ensaios clínicos e na prática clínica no futuro é fundamental que haja uma padronização do procedimento a seguir.<sup>(104)</sup>

#### **4.1.3. Tomografia de emissão de positrões**

A PET é umas das técnicas imagiológicas que já aqui foi referida como instrumento possível para o diagnóstico da DA, destacando-se como um dos principais exames na área da imagiologia. No entanto, com apenas a realização de uma PET não é possível fazer um diagnóstico da doença em questão, sendo que caso fosse descoberto um biomarcador que o permitisse, esta seria com certeza uma opção bastante viável devido ao facto de se tratar de uma técnica relativamente segura para o doente e conhecida na prática clínica. Deste modo, muito se tem investido na investigação a este nível, existindo já algumas perspetivas possíveis para o futuro.

Já aqui foi referida, no capítulo anterior, a capacidade desta análise inclusive para deteção precoce da DA. Apesar de ainda não ser de comum acordo a sua utilização generalizada, muito se tem avançado na investigação referente ao seu uso. Um dos desenvolvimentos tem decorrido ao nível de marcadores da tau, que apesar de ser um exame testado ainda num número pouco significativo de indivíduos, apresenta-se como uma análise promissora quer para diagnóstico diferencial, prognóstico ou até mesmo para avaliação em ensaios clínicos.<sup>(99)</sup>

Outro dos pontos de desenvolvimento na utilização da PET nestes casos é na deteção de placas solúveis A $\beta$ , uma vez que estas serão melhores marcadores do estado da doença (por as placas insolúveis se relacionarem desproporcionalmente com o estágio da doença). A aposta neste campo é o desenvolvimento de radioligandos baseados em anticorpos para uso na PET que permitam esta deteção, ou seja, compostos passíveis de serem marcados com radioatividade e que tenham depois de administrados, capacidade para se ligar aos

tecidos/proteínas que se pretendem analisar. No entanto, existem alguns obstáculos, tais como a elevada possibilidade de ligação não específica dos radioligandos e consequentemente, baixa capacidade de discriminar entre diferentes formas da proteína que se procure analisar. A aposta em radioligandos baseados em anticorpos tem como vantagem poderem ser desenvolvidos especificamente para se ligar a uma forma da proteína em questão, no entanto tal acaba por se tornar mais complicado devido à necessidade de atravessar a BHE. São já algumas hipóteses que começam a surgir, como é o caso do Ab158, um anticorpo específico com elevada afinidade para a A $\beta$  e a sua versão humanizada BAN2401.<sup>(108)(109)(110)</sup> Num artigo publicado em 2007 é apresentada a capacidade deste anticorpo se ligar a apenas algumas conformação da proteína amiloide, bem como a ligação apenas a agregados A $\beta$  e não a formas monoméricas.<sup>(110)</sup>

Ainda outro desenvolvimento que houve na área da PET para o diagnóstico da DA foi o marcador *11C-deuterium-L-deprenyl* (DED). Uma das representações patológicas da DA, ainda que não seja das mais específicas, é um aumento na atividade de MAO-B, que por sua vez levam a uma maior produção de espécies reativas de oxigénio, estando estes acontecimentos associados à neurodegeneração. O DED tem capacidade para se ligar à MAO-B presente nos astrócitos e apesar de não ser este um fator absoluto na representação da DA é sem dúvida um fator que varia quando a patologia está presente, pelo que a sua deteção será no mínimo importante para um melhor entendimento da doença, podendo também representar um papel importante no seu diagnóstico, em especial na fase prodrómica, onde se têm apontado estados mais aumentados de astrocitose.<sup>(111)(112)(113)(114)</sup>

O florbetabeno 18, um radiofármaco de diagnóstico que se liga às placas A $\beta$ , tem sido outro dos recentes marcadores apontados para o uso com a PET, surgindo como uma hipótese viável ao uso de PIB. Este já se encontra disponível para ser utilizado no diagnóstico de DA, tendo apresentado sensibilidade de 77,4% e uma especificidade de 94,2% para tal. Contudo, não foi ainda determinada a utilidade deste composto quer para a previsão do desenvolvimento de DA, quer na monitorização terapêutica.<sup>(115)(116)(117)</sup>

## 4.2. Análise de fluidos corporais

### 4.2.1. Líquido cefalorraquidiano

Ao longo deste trabalho já foram referidos vários biomarcadores do LCR que apresentam boas perspectivas de diagnóstico da DA. É uma área em que a investigação tem apostado grandemente nas últimas décadas devido aos indícios de que estes permitem de facto detetar alterações patológicas e de que o poderão fazer de forma antecipada. Mas se estes biomarcadores são assim tão promissores, por que motivo não se realizam cada vez mais análises ao LCR para detetar a DA? Apesar de promissora, esta é uma área que apresenta ainda variadas limitações que impedem estes biomarcadores de se tornar a primeira linha de diagnóstico. Um dos problemas que acompanha a investigação aos biomarcadores do LCR é o relativamente curto período de tempo em que houve acompanhamento dos resultados obtidos, isto é, dos indivíduos em que têm sido medidos os biomarcadores no LCR. Este acompanhamento tem durado à volta de três anos e é insuficiente para estimar a real prevalência da fase prodrómica desta doença, não permitindo assim e para já, grande precisão no diagnóstico.<sup>(98)</sup>

Além disso há também uma limitação inata a todos os biomarcadores de LCR, que diz respeito ao facto destes não permitirem uma visão sobre a distribuição topográfica das alterações patológicas no cérebro, ou seja, ao serem medidos no LCR, não permitem inferir sobre as áreas neurológicas onde o processo patológico esteja a decorrer maioritariamente e concluir assim sobre que domínios, cognitivo ou não cognitivo por exemplo, serão mais afetados e porquê.<sup>(118,119)</sup> Existe também o problema destes se manterem razoavelmente estáveis ao longo da fase de demência, limitando assim a sua utilidade em definir o estágio da doença ou em fazer prognóstico. Outro dos grandes problemas é a falta de procedimentos padronizados para a sua análise nos laboratórios em que são utilizados, tendo-se vindo a registar cerca de 20-30% de discrepâncias entre laboratórios. No Quadro 4.1 é possível distinguir várias diferenças entre os protocolos estabelecidos por diferentes laboratórios antes de um consenso estabelecido pela *Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative* (ABSI). Deste modo, torna-se quase impossível poder comparar resultados e tirar conclusões sobre a sua real utilidade.<sup>(120)</sup>

**Quadro 4.1:** Alguns fatores de variação em protocolos estabelecidos por diferentes laboratórios antes de um consenso estabelecido pela ABSI. Adaptado de Vanderstichele e Bibl.<sup>(121)</sup>

Fator de variação	Centro de investigação						
	ADNI	Erlangen	Antwerp	Lille	Lyon	Gothenborg	Perugia
Material de tubos utilizados	PP+PE	PP+PE	PP+PE	PP+PE	PP+PE	PP	PP
Altura da colheita	Manhã	Todo o dia	8-12h	11:30h–14h	11h–18h	9–11h	Todo o dia
Volume total	15-20mL	~12mL	≥15mL	15mL	3-10mL	10mL	10-20mL
Temperatura de armazenamento	NE	TA	TA	4°C	4°C	4°C	4°C

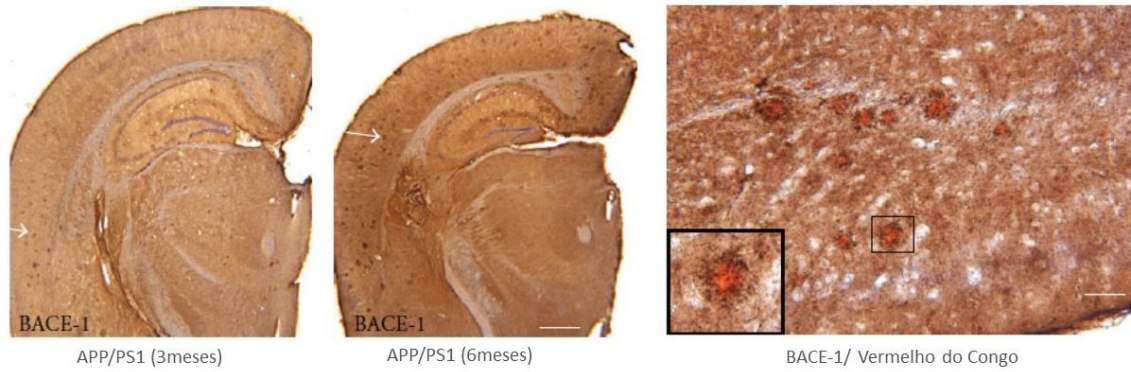
PP – polipropileno, PE – polietileno, mL – mililitros, NE – não especificado, TA – temperatura ambiente, ADNI - *Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative*

São vários os fatores pré-analíticos que podem influenciar a análise e o seu resultado. Neste momento, já foram identificados alguns dos fatores-chave que podem influenciar o resultado, relativamente à colheita e à análise, o que permitiu a concretização de *guidelines* para estas e para o seu acondicionamento, relativo ao LCR.<sup>(122)</sup> Por exemplo, uma punção lombar traumática pode aumentar o risco de contaminação da amostra de LCR com sangue, o que deverá então ser evitado. Existe também um facto já conhecido de que os péptidos A $\beta$  se podem ligar de forma não específica a tubos de colheita que não sejam constituídos por polipropileno, conduzindo a valores mais baixos de concentração. Assim, uma das recomendações é a utilização de tubos de polipropileno durante a colheita.<sup>(121)</sup> Outra questão que também deve ser tida em conta neste tipo de análise são as possíveis flutuações de valores das proteínas em análise (os mais referidos sendo A $\beta$  e tau) consoante o período do dia, outro dos pontos que requer maior investigação antes de se considerar os biomarcadores presentes no LCR passíveis de utilizar na prática clínica.<sup>(122)</sup>

Ainda assim, esta é uma das classes de biomarcadores mais promissora para o futuro, uma vez que existem vários exemplos que têm apresentado bons resultados individualmente e que quando combinados entre si parecem aumentar a precisão do diagnóstico. Além disso, até recentemente procuravam-se essencialmente marcadores que permitissem o diagnóstico da doença quando os sintomas surgissem, no entanto, com o avanço do conhecimento sobre a patologia de Alzheimer e devido à necessidade de novas terapêuticas, percebeu-se que alterações patológicas precoces poderão ser muito mais importantes na abordagem da DA, tornando os biomarcadores de LCR uma boa proposta a este nível.<sup>(118)</sup>

Que biomarcadores estão então a ser considerados neste campo, para o futuro? Uma das propostas mais evidentes é a associação dos níveis de A $\beta$ 42 e tau, que juntos têm demonstrado mais de 85% de sensibilidade e especificidade na diferenciação da DA de indivíduos saudáveis.<sup>(123)</sup>

Outra hipótese é a BACE-1 (*beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme-1*), uma protease associada a membrana, também conhecida como  $\beta$ -secretase, que se encontra maioritariamente no complexo de Golgi e apresenta larga distribuição na superfície de células do SNC, sendo a sua expressão nos neurónios acentuada. Após síntese no retículo endoplasmático, esta é transportada até à superfície celular, onde a clivagem da PPA acontece, sendo um catalisador da formação de produtos A $\beta$  que irão ser de extrema importância para a patologia da DA. Ao contrário da A $\beta$  e da Tau, os seus níveis no LCR têm apresentado padrões consistentes em doentes de DA. Apesar de ainda não possuir resultados conclusivos sobre a sua manifestação quando a DA está presente, têm sido apresentados estudos que implicam o seu aumento em estádios iniciais, indicando-o como um possível biomarcador para prever DA na fase prodrómica, como é o caso de um recente estudo realizado em modelo animal, que indica a BACE-1 como um potenciador das alterações verificadas na DA (Figura 4.1).<sup>(124)(125)</sup>



**Figura 4.1:** Aumento na concentração de BACE-1 em ratinhos transgênicos PS1. Adaptado de Luo e Huang et.al. <sup>(125)</sup>

Também as concentrações dos diferentes fragmentos resultantes da clivagem da PPA, poderão ser indicadores da neurodegeneração na DA. No Capítulo 2 foi referido o papel da PPA na DA, sendo que as principais vias de clivagem são as da  $\alpha$  e  $\beta$  secretase, dando respetivamente origem a fragmentos solúveis de sPPA $\alpha$  e sPPA $\beta$ . Até agora, análises a estes fragmentos no LCR têm apresentado uma boa correlação com a existência ou não de DA, o que faz sentido uma vez que o processo amiloidogénico estará alterado na DA, fazendo sentido explorar a possibilidade destes fragmentos como indicadores para a doença, ainda antes destes originarem placas amiloides. Assim, apesar de ainda não serem conhecidos resultados conclusivos e existirem pelo menos três vias conhecidas de proteólise ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -secretase) a investigar, este poderá ser também um ponto de interesse para a patologia de Alzheimer e seu diagnóstico. <sup>(126)(127)</sup>

Muitas outras moléculas estão na mira de investigadores de forma a colmatar os hiatos no conhecimento da DA. <sup>(118)</sup> Podem-se destacar outras isoformas da A $\beta$ , que também estão presentes no LCR de doentes. São exemplos a A $\beta$ 16, A $\beta$ 33, A $\beta$ 39 e A $\beta$ 38. Esta última é um exemplo que parece estar limitado por não se correlacionar com o nível de captação de amiloide numa PET e por não ser suficiente para distinguir um indivíduo com DA de outros. Outros exemplos promissores são o caso de F2-isoprostanos, marcadores da peroxidação lipídica causada por radicais livres, visto que o dano oxidativo poderá também ser um dos atores na patogénese da DA. <sup>(6)</sup> Os níveis de F2-isoprostanos encontram-se elevados no LCR destes doentes e parecem relacionar-se com o eventual declínio cognitivo da fase prodrómica, podendo servir para aumentar a precisão do diagnóstico quando em combinação com outras análises. <sup>(128)(129)</sup> Ainda no que toca a neuro-inflamação, pode-se destacar o papel do YKL-40

(também conhecido como glicoproteína 39), um marcador de placas associadas a neuro-inflamação que é secretado e ativado pela microglia, havendo sugestão que os seus níveis estejam aumentados numa fase pré-clínica da DA.<sup>(130,131)</sup>

Um outro ponto que parece ser de particular interesse é a expressão de cinases pro-apoptóticas, que tem sido observada no cérebro de doentes de DA e cujas vias celulares poderá relacionar-se com a fisiopatologia desta doença. Segundo a teoria de Hardy, péptidos A $\beta$  podem desencadear a participação de proteínas cinases na via de sinalização neuronal entre placas A $\beta$  e a fosforilação da tau. Alguns exemplos destas cinases que poderão ser detetadas no LCR e indiciar um estado pré-clínico de DA são a proteína cinase RNA-dependente (em inglês *RNA-dependent protein kinase*), cuja maior concentração se parece associar com um maior declínio cognitivo, a Glicogénio sintase cinase-3 (em inglês *Glycogen synthase kinase-3 - GSK-3*) e as *C-JunN-terminalkinases* (JNK). A GSK-3 parece influenciar vários processos metabólicos como transcrição genética, apoptose, regulação do metabolismo do glicogénio e a estabilidade de microtúbulos. Existe em grandes quantidades nos neurónios e parece ser capaz de fosforilar a tau em 17 locais da proteína, em maior extensão que outras proteínas. Vários estudos têm sugeridos que o seu envolvimento na DA está ligado à redução da síntese de acetilcolina e ao aumento da produção de A $\beta$ , sendo apontada como um futuro biomarcador complementar da DA. Quanto às JNKs, o interesse neste caso reside no facto destas parecerem ser capazes de controlar a expressão da BACE-1, fosforilar a PPA e aumentar a produção de A $\beta$ . Além disso, ensaios imunohistoquímicos têm apresentado formas ativas da JNK na periferia de PN, entrelaçados neurofibrilares e em degenerações granulovacuolares, existindo assim uma correlação entre os seus níveis e o desenvolvimento de DA.<sup>(132)</sup>

O último exemplo aqui a ser referido é o da neurogranina (Ng), uma proteína sináptica, cujos níveis no LCR também parecem estar elevados na presença da DA, podendo permitir a previsão da conversão de DCL a DA.<sup>(118,133)</sup>

#### 4.2.2. Biomarcadores de sangue, urina e saliva

Biomarcadores que pudessem ser avaliados em fluídos como o sangue, urina ou até mesmo saliva são o principal âmbito da investigação, devido à facilidade da sua recolha. No entanto, a influência de outros processos poderá ter um impacto muito maior nestes casos, não sendo tão grave no LCR devido à sua proximidade com o SNC e devido a menor influência por outros tecidos.<sup>(134)</sup>

No que toca a biomarcadores sanguíneos estes têm a vantagem de, devido a se tratarem duma prática que requer uma recolha minimamente invasiva e com poucos gastos, poderem ser facilmente implementados e permitirem uma amostragem em grande número, podendo mais rapidamente obter resultados de cariz conclusivo. Contudo, a sua matriz de complexa composição traz grandes dificuldades à sua utilização, razão pela qual ainda não existe nenhum procedimento implementado. Os principais desafios na tentativa de obter biomarcadores de sangue para a DA é o grande número de proteínas que este contém e o facto da sua composição refletir tanto processos periféricos, como centrais. Contudo, num processo normal de envelhecimento ocorre uma fragilização da BHE, o que aproxima a composição sanguínea dos processos que decorrem no cérebro. A acontecer de forma precoce como se julga na DA, poderá então ser um biomarcador para o futuro. Até agora nenhum dos biomarcadores conhecidos possui concentrações significativas no sangue, por comparação às suas concentrações no LCR.<sup>(134)</sup>

Em relação à recolha de biomarcadores na urina ou na saliva, também se tratam de uma possibilidade devido à sua ainda maior facilidade de recolha, por comparação ao sangue. Porém aqui a dificuldade será maior, visto que componentes presentes nestes fluídos sofrem processos de metabolização e filtração, tornando-se muito menos provável que possam refletir alterações que ocorrem no cérebro. Contudo, o facto de não existirem resultados conclusivos que permitam a sua exclusão enquanto biomarcadores, estes continuam também a ser uma hipótese para o futuro.<sup>(118)</sup>

No Quadro 4.1 apresentam-se os considerados principais candidatos a biomarcadores no sangue até agora.

**Quadro 4.2:** Principais candidatos a biomarcadores no sangue da DA. Adaptado de Ritter, Cumming. <sup>(118)</sup>

<b>Biomarcador</b>	<b>Papel na patologia da DA</b>	<b>Evidência para uso</b>
<i>Aβ40</i>	Principal produto secundário da cascata de clivagem da PPA.	Associado a um aumento no risco de DA em alguns estudos.
<i>Aβ42</i>	Principal componente das placas amiloides.	Associado a um aumento no risco de DA em alguns estudos.
<i>Tau</i>	Tranças neurofibrilares compostas por tau são um dos sinais cardinais da DA.	Análises de ultra-sensibilidade detetaram um aumento desta em doentes de DA, mas ainda não é possível a partir destas distinguir que indivíduos com DCL progridem para DA.

Porém estes não serão os únicos candidatos. Muitas evidências têm sugerido que a inflamação possa ter um papel na fisiopatologia da DA, tendo-se vindo a registar em vários ensaios a presença aumentada de várias citocinas no LCR e no sangue periférico em doentes de DA por comparação a indivíduos saudáveis. Porém estes resultados nem sempre são concordantes, como foi o caso, por exemplo, da Interleucina-6 em que se registaram maiores concentrações no sangue periférico em doentes, por comparação a grupos controlo, enquanto no LCR não se registou diferença de concentrações de doentes para controlos. Ainda assim, IL-6, IL-1β, TNF-α, fator de transformação do crescimento β (em inglês *Transforming growth factor - TGF-β*), IL-12 e IL-18 têm apresentado concentrações diferentes para doentes de DA em comparação a controlos saudáveis, sendo estas significativamente mais altas no sangue periférico de doentes. Ainda que não seja claro se este aumento é uma consequência da doença ou antes um fator de predisposição, a meta-análise de 2010 que analisou vários ensaios permitiu reunir vários exemplos de citocinas em que existe variação na concentração em sangue periférico de doentes de DA, havendo também indício de que

esta variação poderá ser dependente da progressão da doença. Não se tratando de um mecanismo exclusivo da DA, poderá ser um fator importante para a obtenção mais simples de um diagnóstico.<sup>(135)</sup>

### 4.3. Análise genómica

Também aqui já foi referido a importância do fator genético para o risco de progredir de DCL para demência, particularmente o alelo  $\epsilon 4$  da apoE. Além disso, cerca de um por cento dos casos de DA é resultado da presença de pelo menos uma de três mutações genéticas que envolvem o PPA e os genes PSEN 1 e 2. A presença de qualquer um destes três amplifica a possibilidade de desenvolvimento de DA, normalmente com manifestação precoce em relação aos restantes casos.<sup>(98,100)</sup>

Atualmente testes genéticos não são tidos como prática clínica, pois apenas uma esmagadora minoria dos casos se deve às mutações conhecidas. Além disso, não teria um grande impacto na decisão terapêutica, uma vez que não existem neste momento opções de tratamento preventivas ou curativas.<sup>(98,100)</sup>

O caso da presença do alelo apoE está associada a uma redução da idade em que os sintomas de demência têm início, havendo indicação que o gene da apoE influencia os níveis de t-Tau (tau total) no LCR e A $\beta$ 42. São vários os indícios que sugerem a capacidade do gene influenciar o transporte e metabolismo de A $\beta$ , contudo os resultados apresentados não têm sido conclusivos. Dado o forte efeito que os alelos da apoE parecem ter relativamente ao risco de desenvolvimento de DA, existe um grande interesse em perceber se de facto estes estão relacionados. Nem todos os estudos sobre os níveis de apoE no LCR têm apresentado associação com os valores de A $\beta$  recolhidos no LCR de doentes de DA. Tal pode dever-se ao grande problema ainda presente em distinguir casos de DA de controlos, o que acaba por ciclicamente tornar difícil o desenvolvimento de mais uma ferramenta de estudo da doença. Ainda assim, a conclusão de que um gene estaria firmemente relacionado com a DA seria um excelente complemento à compreensão da doença e eventualmente a forma mais precoce de se fazer o diagnóstico e definir novas direções a partir daí.<sup>(98,100)</sup>

Até agora foram referidos os principais fatores assumidos como possíveis biomarcadores genéticos: apoE, PSEN 1 e PSEN 2. No entanto, muitas são as possibilidades existentes neste campo. Por exemplo, a apolipoproteína J (apoJ), também conhecida como *clusterin* em inglês, é atualmente o terceiro gene de risco mais associado à DA. O gene que dá origem à apoJ poderá explicar cerca de 9% do risco associado ao DA tardio e vários estudos *Genome Wide Association* e de genes candidatos têm identificado uma associação substancial entre alelos do apoJ e a DA, em populações caucasianas.<sup>(136)</sup> Durante muito tempo a hipótese amiloide tem liderado a explicação científica da DA, contudo parece existir evidência de que o apoJ poderá interferir com a amiloide  $\beta$ , tendo assim também um papel importante na patogênese desta doença. Assim é lançada a hipótese de mais um biomarcador, neste caso genético, que poderia consequentemente vir a afetar os biomarcadores de imagiologia ou do LCR.<sup>(136)</sup>

Outro polimorfismo que poderá estar associado a esta patologia é o do Fator neurotrófico derivado do cérebro (em inglês, *brain-derived neurotrophic factor* – BDNF), BDNF Val66Met. O BDNF é importante na base biológica da aprendizagem e da memória. A presença deste polimorfismo parece estar associada a um mais rápido declínio cognitivo e atrofia do hipocampo, por influência na capacidade do cérebro de tolerar a toxicidade A $\beta$  numa fase pré-clínica da DA. Um estudo realizado em 2015 em participantes do *Australian Imaging, Biomarkers and Lifestyle Study*, que contou com uma amostra total de 333 participantes, veio apoiar a teoria de que este polimorfismo está associado a alterações relacionadas com depósitos A $\beta$ . Os resultados foram também consistentes com a influência do BDNF na plasticidade sináptica no hipocampo, tendo existido um mais rápido declínio cognitivo nos grupos que apresentaram este polimorfismo e ainda mais acentuado quando o alelo  $\epsilon 4$  da apoE e placas A $\beta$  também estavam presentes.<sup>(137)</sup>

Um outro ponto inserido na genética é o papel de micro-RNAs (miRNA). Existem já vários registos que indicam a sua presença e abundância em regiões anatómicas do cérebro, alvos da patologia em questão, até agora apenas visíveis após análise *post-mortem*, no plasma sanguíneo e no LCR. Também aqui não existe consenso sobre como a presença destes RNAs (ácido ribonucleico) poderá influenciar a patologia nos diferentes tecidos ou biofluidos em que se encontrem, em doentes de DA. No entanto, a persistência das mutações já aqui mencionadas ao longo da vida, em contraste com o desenvolvimento tardio da DA, sugere que

existirão múltiplos mecanismos regulatórios genéticos associados à idade que deverão reunir-se para que a DA se desenvolva e os miRNAs parecem ser candidatos exímios para fazer esta regulação, pelo que a possibilidade de fazer a sua análise seria mais um ótimo complemento à perceção da doença.<sup>(138)</sup>

É pouco provável que um único miRNA no LCR, plasma sanguíneo, urina ou em outro fluido corporal, seja suficiente para prever qualquer estágio da doença, mas poderá ser significativo para progredir na capacidade de diagnóstico da doença, especialmente se associado à expressão de outros genes relacionados. Neste campo, as possibilidades que se colocam no horizonte são as de uma medicina personalizada, tal como já começa a ser posto em prática noutras patologias (como é o caso do cancro da mama e a deteção do Receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano), envolvendo a avaliação de vários fatores presentes na DA, tais como miRNAs, mRNA e alterações na expressão de genes, mutações no ácido desoxirribonucleico (ADN), biomarcadores pro-inflamatórios e acumulação de A $\beta$ , em conjunto com dados obtidos a partir de técnicas imagiológicas, história clínica ou até mesmo estilo de vida. Torna-se assim numa questão de tempo, até que haja também capacidade tecnológica para realizar estas análises e poder assim comprovar o seu efeito num número de indivíduos suficiente, de modo a poder integrar também a genómica na prática clínica.<sup>(138)</sup>

## 5. Validade ética do diagnóstico precoce

Ao longo dos anos 50 e 60, 9 em cada 10 médicos afirmava preferir não revelar aos doentes um diagnóstico de cancro. A razão generalizada prendia-se com o desejo de proteger o doente e preservar a sua esperança, uma vez que nesta fase não existiam tratamentos eficazes disponíveis. Apesar de não existir nenhuma investigação no sentido de perceber se de facto seria preferível poupar os doentes do diagnóstico, nestas circunstâncias, a evolução na terapia oncológica e na formação dos clínicos para melhor informar e acompanhar os doentes, fez com que a política atual seja a de informar e aconselhar da melhor maneira possível. Este problema é facilmente transposto a outras patologias e em casos como demências, pode-se levantar a questão de que capacidade terá o doente para receber esta notícia.<sup>(139)</sup>

No que diz respeito à doença de Alzheimer, pode-se também colocar a questão da falta de perspectivas para o futuro, acentuada pela atual falta de resoluções terapêuticas. Uma vez feito um diagnóstico de DA são vários os tópicos decisivos que podem surgir. Um estudo realizado em doentes de DA e seus cuidadores e publicado na revista *BMC Research Notes*, apontou como principais tópicos de preocupação assinalados o tratamento para a doença, o papel da família e de externos no dia a dia e questões legais, bem como outros detalhes associados à cooperação entre doente e seu cuidador. Não será difícil perceber que um diagnóstico de DA obrigará à realização de planos na vida futura, uma vez que o indivíduo passa a ter conhecimento de que no futuro deixará de ser totalmente independente, podendo mesmo alcançar níveis de total dependência. No entanto, é comum que estas decisões vão sendo adiadas até que seja absolutamente necessário que sejam tomadas.<sup>(140)</sup>

Ao longo deste trabalho, ao referir-se as várias hipóteses de diagnóstico precoce para o futuro, estas são sempre tidas como um benefício para o indivíduo em questão, mas com o avanço cada vez mais rápido de novos mecanismos de diagnóstico torna-se importante considerar o passo seguinte. Se se tornar possível, através de análises imagiológicas, ao LCR ou até mesmo ao sangue, diagnosticar a DA até pelo menos 10 anos antes desta se manifestar, será fundamental elaborar uma estratégia de apoio ao doente e à sua família, de forma a garantir o bem-estar do doente e evitar o sobrecarregar da família.<sup>(140)</sup>

São várias as reações registadas a este tipo de diagnóstico, desde medo, tristeza, a alívio. Com a investigação a avançar cada vez mais rápido neste campo é importante que se pese a relação benefício/risco de realizar um diagnóstico precoce, sendo que qualquer pessoa tem o direito de não ter acesso ao diagnóstico.<sup>(140)</sup>

## **6. O papel do farmacêutico na Doença de Alzheimer**

O farmacêutico, enquanto profissional de saúde, tem a capacidade para ser uma influência na prevenção da DA, bem como no seu diagnóstico e acompanhamento dos doentes desta patologia. Esta vertente acaba por ser principalmente importante para o farmacêutico comunitário, pela sua proximidade ao doente.

É certo que existem vários fatores de risco para a DA, não sendo específico o papel que todos desempenham no desenvolvimento desta patologia. Contudo, existe uma série de fatores que podem servir como protetores, contribuindo para um estilo de vida saudável, como é o caso do incentivo à prática de exercício físico, controlo da pressão arterial e baixos níveis de colesterol. Este é um dos pontos em que o farmacêutico já desempenha um papel importante associado ao trabalho que se tem realizado para diminuir o número de doentes cardíacos e poderá fazê-lo de forma ainda mais interventiva e precoce, contribuindo também para a prevenção de outras patologias como a DA.<sup>(141)</sup>

Por outro lado, a proximidade do farmacêutico à população é também um fator importante para o diagnóstico. Sendo que as visitas realizadas a uma farmácia comunitária são na maioria dos casos superiores às que são realizadas ao médico, principalmente para os doentes que necessitam de adquirir terapia crónica (especialmente no caso de idosos, principal faixa etária afetada pela DA), o acompanhamento farmacêutico acaba por ser mais propício à deteção de problemas cognitivos e alterações no comportamento. É também importante que o farmacêutico esteja atento a utentes que solicitam suplementos para a falta de memória, de modo a tentar perceber a origem dessa preocupação e avaliar a necessidade de consulta por um especialista.<sup>(141)(142)</sup>

Após um diagnóstico de demência, neste caso específico, DA, o papel do farmacêutico tornar-se-á ainda mais importante, visto que tem a capacidade de ser um dos principais apoios ao doente e seus cuidadores, quer no aconselhamento farmacoterapêutico como forma a potenciar os tratamentos, quer no acompanhamento do tratamento e da evolução da própria doença. É importante que o farmacêutico enquanto especialista do medicamento, procure acompanhar os sintomas que o doente apresenta e perceber a sua origem, podendo estes deverem-se a efeitos secundários (especialmente em casos de polimedicação), que poderão em alguns casos ser facilmente resolvidos com diminuição de dose, substituição terapêutica ou suspensão da medicação. De forma a ter uma intervenção mais eficiente neste último ponto, a possibilidade de realizar a preparação da medicação semanal pela farmácia poderá ser uma boa forma de apoio ao doente e seus cuidadores, acompanhando de mais perto a evolução terapêutica.<sup>(141)(142)</sup>

## 7. Conclusão

A DA é uma das principais preocupações na área da saúde do século XXI, visto que o número de indivíduos afetados por esta patologia continua a aumentar, prevendo-se um aumento exponencial nos próximos anos, em todo o mundo. À doença associam-se os problemas relacionados com o peso social e psicológico que a DA acarreta, bem como os custos que cada doente irá representar e que, devido à dependência a que estes ficam sujeitos, são bastante consideráveis. Aliado a esta problemática surge o facto de não existir para já terapêutica eficaz disponível, o que vem contribuir para uma maior necessidade em compreender a doença, de modo a descobrir novos alvos terapêuticos.

Após revisão da literatura é possível concluir que não existe ainda um método de diagnóstico definido para a DA, baseando-se a maioria das *guidelines* redigidas até agora na conjugação entre várias análises de carácter cognitivo e imagiológico, em conjunto com outras análises que permitam excluir outras demências e aumentar a precisão de um diagnóstico de DA. O reconhecimento da existência de uma fase pré-demência foi um dos grandes avanços feitos na investigação desta patologia, tendo este contribuído para uma nova forma de a encarar. Assim, o principal objetivo é atualmente o de discriminar indivíduos em fase pré-demência da DA de outros, de forma a poder atuar de modo preventivo e reversivo, o que não é possível num diagnóstico feito em fase sintomática.<sup>(143)</sup>

São muitas as hipóteses disponíveis para futuramente serem aceites como biomarcadores da DA, tanto na área imagiológica, como a nível de técnicas com maior reprodutibilidade, como uma análise ao sangue. No entanto, não existe ainda padronização suficiente para poder validar a maioria destas possibilidades, razão pela qual estas não são ainda utilizadas a nível clínico, apesar dos resultados positivos que têm apresentado. A nível imagiológico pode-se salientar a importância de marcadores como compostos radiológicos ou o DED, por exemplo, que poderão permitir através de análises já conhecidas como a RM ou a PET um diagnóstico por deteção de placas A $\beta$  ou de espécies reativas de oxigénio. No que toca à análise do LCR ou do sangue, são dos pontos em que há maior empenho em encontrar biomarcadores para a patologia, pela sua facilitada obtenção. Neste caso, proteínas como a BACE-1 ou outras que vão sendo relacionadas à patologia poderão desempenhar o papel mais

importante para a concretização deste meio como método de obtenção de biomarcadores.<sup>(143)</sup>

Assim, verifica-se que a principal questão emergente reside em definir métodos de avaliação dos biomarcadores em estudo e padronizá-los, de modo a poder concluir sobre a sua utilização em ambiente clínico, contribuindo também para o desenvolvimento de novas terapêuticas e possivelmente numa diminuição da epidemiologia da DA.<sup>(143)(144)</sup>

E que papel poderá um farmacêutico exercer neste âmbito? Enquanto profissional de saúde é fundamental que se procure contribuir em qualquer processo patológico, tentando contribuir de alguma forma para o seu retardamento, reversão e para potenciar o bem-estar do doente. Ao farmacêutico são deixadas em aberto várias hipóteses, quer no ramo da investigação, no ramo laboratorial (âmbito em que esta monografia assenta principalmente) ou a nível comunitário, em que embora não possa realizar o diagnóstico, procure contribuir para este e para o acompanhamento da evolução da doença, sendo um dos profissionais de saúde que poderá ter um maior e mais direto contacto com o utente. Sendo as Ciências Farmacêuticas uma área de elevada polivalência, haverá sempre lugar para o farmacêutico contribuir para uma patologia crónica como a DA, sendo para isso primordial que este não perca o contacto entre os seus diferentes âmbitos de atuação: a proximidade ao utente e o acompanhamento do desenvolvimento científico.

## Bibliografia

1. Gauthier S, Reisberg B, Zaudig M, Petersen RC, Ritchie K, Broich K, et al. Mild cognitive impairment. *Lancet* (London, England). 2006;367(9518):1262–70.
2. Saúde D-G da. Abordagem Terapêutica das Alterações Cognitivas. Portugal; 2011 p. 1–19.
3. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. Arlington. 2013. 991 p.
4. World Health Organization. Dementia: a public health priority. *Dementia*. 2012;112.
5. Sweetman SC, editor. *Martindale THE COMPLETE DRUG REFERENCE*. Thirty-six. *Journal of Chemical Information and Modeling*. London: Pharmaceutical Press; 2009. 1689-1699 p.
6. Dipiro JT, Talbert RL, Yee GC, editors. *Pharmacotherapy: a Pathophysiologic Approach*. Sixth. *Journal of Chemical Information and Modeling*. New York: McGRAW-HILL Medical Publishing division; 2005. 1689-1699 p.
7. DeCarli C. Mild cognitive impairment: Prevalence, prognosis, aetiology, and treatment. *Lancet Neurol*. 2003;2(1):15–21.
8. Kim Y, Kim Y, Hwang O, Kim DJ. Pathology of Neurodegenerative Diseases. *Brain Damage - Bridg Between Basic Res Clin Dr Alina Gonzalez-Quevedo*. 2012;111–20.
9. Brookmeyer R, Gray S, Kawas C. Projections of Alzheimer’s disease in the United States and the public health impact of delaying disease onset. *Am J Public Heal*. 1998;88(9):1337–42.
10. Wyngaarden, James, Smith L. *Tratado de Medicina Interna*. 18<sup>a</sup> ed. Guanabara, editor. Rio de Janeiro; 1990.
11. Smith T. *Cérebro e sistema nervoso*. Lisboa: Cículo de Leitores; 1993.
12. Robert J-M. *O cérebro*. BBCC, editor. Lisboa: Instituto Piaget; 1994.
13. Liu Z, Li T, Li P, Wei N, Zhao Z, Liang H, et al. The Ambiguous Relationship of Oxidative Stress, Tau Hyperphosphorylation, and Autophagy Dysfunction in Alzheimer’s Disease. *Oxid Med Cell Longev*. Hindawi Publishing Corporation; 2015;2015.
14. Wiseman FK. Europe PMC Funders Group Europe PMC Funders Author Manuscripts A genetic cause of Alzheimer disease : mechanistic insights from Down syndrome. 2015;16(9):564–74.
15. Huang YC, Yen PS, Wu ST, Chen JT. Brain Metabolism of Less-Educated Patients With Alzheimer Dementia Studied by Positron Emission Tomography. 2015;94(30):1–5.
16. Kandel ER, Schwart JH, Jessell TM, editors. *Principles of Neural Science*. Fifth. *Journal of Chemical Information and Modeling*. New York: Mc-Graw Hell Medical; 2013. 1689-1699 p.
17. Cumming T, Brodtmann A. Dementia and stroke: The present and future epidemic. *Int*

- J Stroke. 2010;5(6):453–4.
18. Chan SW-C. Family caregiving in dementia: the Asian perspective of a global problem. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2010;30(6):469–78.
  19. Santana I, Farinha F, Freitas S, Rodrigues V, Carvalho Á. Epidemiologia da Demência e da Doença de Alzheimer em Portugal : Estimativas da Prevalência e dos Encargos Financeiros com a Medicação. [The Epidemiology of Dementia and Alzheimer Disease in Portugal: Estimations of Prevalence and Treatment-Costs]. *Acta Med Port*. 2015;28(2):182–9.
  20. World Health Organisation. the Epidemiology and Impact of Dementia: Current State and future trends. First WHO Minist Conf Glob Action Against Dement [Internet]. 2015;1–4. Available from: [http://www.who.int/mental\\_health/neurology/dementia/thematic\\_briefs\\_dementia/en/](http://www.who.int/mental_health/neurology/dementia/thematic_briefs_dementia/en/)
  21. Lobo a, Launer L. Prevalence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. *Neurology*. 2000;54(June 2000):S4–9.
  22. Lemos R, Martins C, Simões M, Santana I. Estudo de adaptação do Teste de Recordação Selectiva Livre e Guiada para a população portuguesa. [Adaptation study of the Free and Cued Selective Reminding Test for the Portuguese population]. *Avaliação Psicológica*. 2012;11(1):49–61.
  23. Cheng X, Zhang L, Lian Y-J. *Molecular Targets in Alzheimer’s Disease: From Pathogenesis to Therapeutics*. Biomed Res Int. Hindawi Publishing Corporation; 2015;2015:1–6.
  24. Associação Alzheimer Portugal. Plano Nacional de Intervenção Alzheimer: Trabalho preparatório para a conferência “Doença de Alzheimer: Que Políticas.” 2009;28.
  25. Xu W, Marseglia A, Ferrari C, Wang H. Alzheimer ’ s Disease : A Clinical Perspective. *Neurodegener Dis*. 2013;3–34.
  26. The progression of Alzheimer ’ s disease and other dementias. :1–8.
  27. Reisberg B. CLINICAL STAGES OF ALZHEIMER’S [Internet]. [cited 2016 May 16]. Available from: <https://www.alzinfo.org/understand-alzheimers/clinical-stages-of-alzheimers>
  28. Dickson D, Weller R, editors. *Neurodegeneration: The Molecular Pathology of Dementia and Movement Disorders, Second Edition*. Second. PhD Proposal. West Sussex: Wiley-Blackwell; 2011.
  29. Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E, Hyman BT. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2011;1(1):1–24.
  30. Perl DP. Neuropathology of Alzheimer ’ s Disease. *Mt Sinai J Med*. 2010;77(1):32–42.
  31. Gentier RJ, van Leeuwen FW. Misframed ubiquitin and impaired protein quality control: an early event in Alzheimer’s disease. *Front Mol Neurosci*.

- 2015;8(September):47.
32. Kumar A, Singh A, Ekavali. A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: An update. *Pharmacol Reports. Institute of Pharmacology, Polish Academy of Sciences*; 2015;67(2):195–203.
  33. Olazarán J, Reisberg B, Clare L, Cruz I, Peña-Casanova J, Del Ser T, et al. Nonpharmacological therapies in alzheimer's disease: A systematic review of efficacy. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2010;30(2):161–78.
  34. Seeley R, Stephens T TP. *Anatomia & Fisiologia*. 3ª edição. Lisboa: LUSODIDACTA – Sociedade Portuguesa de Material Didático, Lda; 1997.
  35. Liu C, Cui G, Zhu M, Kang X, Guo H. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: Chemokines produced by astrocytes and chemokine receptors. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(12):8342–55.
  36. Kristen E. Funk, Robert E. Mrak and JK. Granulovacuolar Degeneration Bodies of Alzheimer's Disease Resemble Late-stage Autophagic Organelles. 2011;4(164):295–306.
  37. Spears W, Furgerson M, Sweetnam J, Evans P, Gearing M, Fehheimer M et al. Hirano bodies differentially modulate cell death induced by tau and the amyloid precursor protein intracellular domain [Internet]. *BMC Neuroscience*. 2014 [cited 2016 May 28]. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2202/15/74>
  38. Reitz C. Toward precision medicine in Alzheimer's disease. *Ann Transl Med*. 2016;4(6):107.
  39. Massoud F, Gauthier S. An update on the pharmacological treatment of Alzheimer disease. *Curr Neuropharmacol*. 2010;8:69–80.
  40. INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I da S. *Prontuário Terapêutico*. 11ª edição. INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I da S, editor. 2012.
  41. Delagarza VW. Pharmacologic Treatment of Alzheimer's Disease: An Update. *Am Fam Physician*. 2003;68(7):8.
  42. Burns A, Byrne J, Ballard C, Holmes C. Sensory stimulation in dementia: an effective option for managing behavioural problems. *BMJ*. 2002;325(7376):1312–3.
  43. Parkhurst CN, Yang G, Ninan I, Savas JN, Yates JR, Lafaille JJ et al. Neuroprotective Effects of Lithium: Implications for the Treatment of Alzheimer's Disease and Related Neurodegenerative Disorders [Internet]. *ACS Chem Neurosci*. 2014 [cited 2016 May 30]. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cn5000309> \n <http://www.cell.com/article/S0092867413014815/fulltext>
  44. Porsteinsson AP, Keltz MA, Smith JS. Role of citalopram in the treatment of agitation in Alzheimer's disease. 2015;4(5):345–9.
  45. V. Staedtler A, D N. Nonpharmacological therapy for the management of

- neuropsychiatric symptoms of Alzheimer's disease: linking evidence to practice [Internet]. *Worldviews Evid Based Nurs*. 2015 [cited 2016 May 30]. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/wvn.12086/asset/wvn12086.pdf?v=1&t=ibmyuzal&s=6e018a07aeb5ba9da6df364e745a3c12b04aac9f>
46. Sadowsky CH, Galvin JE. Guidelines for the management of cognitive and behavioral problems in dementia. *J Am Board Fam Med*. 2012;25(3):350–66.
  47. Lutz MW, Sundseth SS, Burns DK, Saunders AM, Hayden KM, Burke JR, et al. A genetics-based biomarker risk algorithm for predicting risk of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement Transl Res Clin Interv*. 2016;2(1):30–44.
  48. DeMarshall CA, Nagele EP, Sarkar A, Acharya NK, Godsey G, Goldwaser EL, et al. Detection of Alzheimer's disease at mild cognitive impairment and disease progression using autoantibodies as blood-based biomarkers. *Alzheimer's Dement Diagnosis, Assess Dis Monit*. Elsevier Inc.; 2016;3(April):1–12.
  49. Knopman DS, Dekosky ST, Cummings JL, Chui H, Relkin N, Small GW, et al. Practice Parameter : Diagnosis of Dementia ( an Evidence-Based Review ). 2001;
  50. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR, Kawas CH, et al. 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 Dement*. Elsevier Ltd; 2011;7(3):263–9.
  51. Jr CRJ, Knopman DS, Jagust WJ, Shaw LM, Aisen PS, Weiner W, et al. Pathological Cascade. 2010;9(1):1–20.
  52. Alladi S, Xuereb J, Bak T, Nestor P, Knibb J, Patterson K, et al. Focal cortical presentations of Alzheimer's disease. *Brain*. 2007;130(10):2636–45.
  53. Dolan D, Troncoso J, Resnick SM, Crain BJ, Zonderman AB, O'Brien RJ. Age, Alzheimer's disease and dementia in the Baltimore Longitudinal Study of Ageing. *Brain*. 2010;133(8):2225–31.
  54. Montine TJ, Phelps CH, Beach TG, Bigio EH, Cairns NJ, Dickson DW, et al. National institute on aging-Alzheimer's association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease: A practical approach. *Acta Neuropathol*. Elsevier Ltd; 2012;123(1):1–11.
  55. Mckhann G, Drachman D, Folstein M. Clinical diagnosis of Alzheimer ' s disease : Report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*. 1984;(July).
  56. Freitas S, Simões MR, Martins C, Vilar M, Santana I. ESTUDOS DE ADAPTAÇÃO DO MONTREAL COGNITIVE ASSESSMENT (MOCA) PARA A POPULAÇÃO PORTUGUESA. *Avaliação Psicológica*. 2010;9(3):345–57.
  57. Lawton M, Brody E. Assessment of Older People: Self-Maintaining and Instrumental Activities of Daily Living. *Nurs Res*. 1970;19:278.
  58. Cummings JL. The Neuropsychiatric Inventory: Assessing psychopathology in dementia

- patients. *Neurology*. 1997;48(6):S10–6.
59. Atkinson A.J. J, Colburn WA, DeGruttola VG, DeMets DL, Downing GJ, Hoth DF, et al. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*. 2001;69(3):89–95.
  60. United Nations Environment Programme, Organization ILWHO. Biomarkers In Risk Assessment: Validity And Validation [Internet]. 2001 [cited 2016 Apr 23]. Available from: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc222.htm>
  61. Strimbu K, Tavel J a. What are Biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS*. 2011;5(6):463–6.
  62. Administration F and D, Health NI of. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource. 2016.
  63. Ahmed RM, Paterson RW, Warren JD, Zetterberg H, O’Brien JT, Fox NC, et al. Biomarkers in dementia: clinical utility and new directions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2014;85(12):1426–34.
  64. Mayeux R. Biomarkers: potential uses and limitations. *NeuroRx*. 2004;1(2):182–8.
  65. Rohlff C. Proteomics in neuropsychiatric disorders. *Int J Neuropsychopharmacol Off Sci J Coll Int Neuropsychopharmacol CINP*. 2001;4(1):93–102.
  66. Merikangas K. Genetic epidemiology: bringing genetics to the population--the NAPE Lecture 2001. *Acta Psychiatr Scand*. 2002;105(1):3–13.
  67. Muller U, Graeber MB. Neurogenetic diseases: molecular diagnosis and therapeutic approaches. *J Mol Med (Berl)*. 1996;74(2):71–84.
  68. Frank R, Hargreaves R. CLINICAL BIOMARKERS IN DRUG DISCOVERY AND DEVELOPMENT. *Nat Rev*. 2003;2(July):566–80.
  69. Atkinson A.J. J, Colburn WA, DeGruttola VG, DeMets DL, Downing GJ, Hoth DF, et al. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*. 2001;69(3):89–95.
  70. Schneider LS, Mangialasche F, Andreasen N, Feldman H, Giacobini E, Jones R, et al. Disease : an Appraisal From 1984 To 2014. 2015;275(3):251–83.
  71. Pepe MS, Thompson ML. Combining diagnostic test results to increase accuracy. *Biostatistics*. 2000;1(2):123–40.
  72. Mayeux R, Saunders AM, Shea S. UTILITY OF THE APOLIPOPROTEIN E GENOTYPE IN THE DIAGNOSIS OF. *N Engl J Med*. 1998;338.
  73. Perrin RJ, Fagan AM, Holtzman DM. Multimodal techniques for diagnosis and prognosis of Alzheimer’s disease. *Nature*. 2009;461(7266):916–22.
  74. Shimojo M, Higuchi M, Suhara T, Sahara N. Imaging multimodalities for dissecting Alzheimer’s disease: Advanced technologies of positron emission tomography and fluorescence imaging. *Front Neurosci*. 2015;9(DEC).
  75. Arora A, Bhagat N. Insight into the Molecular Imaging of Alzheimer’s Disease. *Int J*

- Biomed Imaging. 2016;2016.
76. Schuff N, Woerner N, Boreta L, Kornfield T, Shaw LM, Trojanowski JQ, et al. MRI of hippocampal volume loss in early Alzheimers disease in relation to ApoE genotype and biomarkers. *Brain*. 2009;132(4):1067–77.
  77. Liu S, Cai W, Pujol S, Kikinis R, Feng DD. Cross-view neuroimage pattern analysis in Alzheimer’s disease staging. *Front Aging Neurosci*. 2016;8(FEB):1–15.
  78. Eskildsen SF, Coup?? P, Fonov VS, Pruessner JC, Collins DL. Structural imaging biomarkers of Alzheimer’s disease: Predicting disease progression. *Neurobiol Aging*. 2015;36(S1):S23–31.
  79. Katz S, Ford AB, Moskowitz RW, Jackson B a, Jaffe MW. Studies of illness in the aged. The Index of ADL: A Standardized Measure of Biological and Psychosocial Function. *J Am Med Assoc*. 1963;185(12):914–9.
  80. Plassman BL, Langa KM, Fisher GG, Heeringa SG, Weir DR, Ofstedal MB, et al. Prevalence of dementia in the United States: The aging, demographics, and memory study. *Neuroepidemiology*. 2007;29(1-2):125–32.
  81. Darby MJ, Barron DA, Hyland RE, editors. *Oxford handbook of MEDICAL IMAGING*. First. 2012. New York: Oxford University Press; 2009. 1-46 p.
  82. Commission E. *Directrizes para a Prescrição de Exames Imagiológicos*. Portugal; 2000.
  83. Zhang S, Han D, Tan X, Feng J, Guo Y, Ding Y. Diagnostic accuracy of 18F-FDG and 11C-PIB-PET for prediction of short-term conversion to Alzheimer’s disease in subjects with mild cognitive impairment. *Int J Clin Pract*. 2012;66(2):185–98.
  84. Ringman JM, Younkin SG, Pratico D. Biochemical markers in persons with preclinical familial Alzheimer disease Biochemical markers in persons with preclinical familial Alzheimer disease. 2011;85–92.
  85. Nordberg A, Carter SF, Rinne J, Drzezga A, Brooks DJ, Vandenberghe R, et al. A European multicentre PET study of fibrillar amyloid in Alzheimer’s disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2013;40(1):104–14.
  86. Lu F, Yuan Z. PET / SPECT molecular imaging in clinical neuroscience : recent advances in the investigation of CNS diseases. *Quant Imaging Med Surg*. 2015;5(3):433–47.
  87. Pimlott SL, Sutherland A. Molecular tracers for the PET and SPECT imaging of disease. *Chem Soc Rev*. 2011;40(1):149–62.
  88. Zhu L, Ploessll K, Kung HF. PET/SPECT imaging agents for neurodegenerative diseases. 2015;43(19):37–54.
  89. Kantarci K, Lowe VJ, Boeve BF, Weigand SD, Senjem ML, Przybelski SA, et al. Multimodality Imaging Characteristics of Dementia with Lewy Bodies. *NIH Public Access*. 2013;33(9):2091–105.
  90. O’Brien JT, Firbank MJ, Davison C, Barnett N, Bamford C, Donaldson C, et al. 18F-FDG PET and perfusion SPECT in the diagnosis of Alzheimer and Lewy body dementias. *J*

- Nucl Med. 2014;55(12):1959–65.
91. Srivastava AK, Kadayakkara DK, Bar-Shir A, Gilad AA, McMahon MT, Bulte JWM. Advances in using MRI probes and sensors for in vivo cell tracking as applied to regenerative medicine. *Dis Model Mech*. 2015;8(4):323–36.
  92. Colloby SJ, Cromarty RA, Peraza LR, Johnsen K, Jóhannesson GH, Bonanni L, et al. Multimodal EEG-MRI in the differential diagnosis of Alzheimer’s disease and dementia with Lewy bodies. *J Psychiatr Res*. Elsevier Ltd; 2016;78:48–55.
  93. Skinner J, Carvalho JO, Potter GG, Thames A, Zelinski E, Crane PK, et al. The Alzheimer’s Disease Assessment Scale-Cognitive-Plus (ADAS-Cog-Plus): An expansion of the ADAS-Cog to improve responsiveness in MCI. *Brain Imaging Behav*. 2012;6(4):489–501.
  94. Arevalo-Rodriguez I, Smailagic N, Roque i Figuls M, Ciapponi A, Sanchez-Perez E, Giannakou A, et al. Mini-Mental State Examination (MMSE) for the detection of Alzheimer’s disease and other dementias in people with mild cognitive impairment (MCI) (Review). *Cochrane Database Sytematic Rev*. 2015;21(3):Art. No.: CD010783.
  95. Monge-Argilés JA, Gasparini-Berenguer R, Gutierrez-Agulló M, Muñoz-Ruiz C, Sánchez-Payá J, Leiva-Santana C. Influence of APOE Genotype on Alzheimer’s Disease CSF Biomarkers in a Spanish Population. *Biomed Res Int*. 2016;2016:1–7.
  96. Perret-liaudet A. Formación Continuada a Distancia. In Lyon; 2012.
  97. Mattsson N, Andreasson U, Persson S. The Alzheimer’s Association external quality control program for cerebrospinal fluid biomarkers. *NIH Public Access*. 2013;7(4):386–95.
  98. Baldeiras I, Santana I, Garrucho MH, Pascoal R, Lemos R, Santiago B, et al. CSF biomarkers for the early diagnosis of Alzheimer’s disease in a routine clinical setting – the first Portuguese study. *Sinapse*. 2012;12(2):15–22.
  99. Ahmed RM, Paterson RW, Warren JD, Zetterberg H, O’Brien JT, Fox NC, et al. Biomarkers in dementia: clinical utility and new directions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* [Internet]. 2014;85(12):1426–34. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4335455&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  100. Lu H, Zhu X-C, Jiang T, Yu J-T, Tan L. Body fluid biomarkers in Alzheimer’s disease. *Ann Transl Med* [Internet]. 2015;3(5):70. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4402605&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  101. Lindquist M a, Wager TD. Principles of functional Magnetic Resonance Imaging. *Handb neuroimaging data Anal*. 2014;3–48.
  102. Fonslow BR, Stein BD, Webb KJ, Xu T, Choi J, Kyu S, et al. *NIH Public Access*. 2013;10(1):54–6.
  103. Filippini N, MacIntosh BJ, Hough MG, Goodwin GM, Frisoni GB, Smith SM, et al. Distinct

- patterns of brain activity in young carriers of the APOE-epsilon4 allele. *Pnas* [Internet]. 2009;106(17):7209–14. Available from: <http://www.pnas.org/content/106/17/7209.long>
104. Zhang B, Xu Y, Zhu B, Kantarci K. The role of diffusion tensor imaging in detecting microstructural changes in prodromal Alzheimer's disease. *CNS Neurosci Ther* [Internet]. 2014;20(1):3–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24330534>
  105. Li Y, He H, Dong H, Feng X, Xie G, Zhang L. Discriminative analysis of early-stage Alzheimer's disease and normal aging with automatic segmentation technique in subcortical gray matter structures: a multicenter in vivo MRI volumetric and DTI study. *Acta Radiol*. 2013;54(10):1191–200.
  106. Kantarci K, Avula R, Senjem ML, Samikoglu AR, Zhang B, Weigand SD, et al. Dementia with Lewy bodies and Alzheimer disease: Neurodegenerative patterns characterized by DTI. *Neurology*. 2010;74(22):1814–21.
  107. Rogalski E, Stebbins G, Barnes C. Age-related changes in parahippocampal white matter integrity: a diffusion tensor imaging study. *Neuropsychologia*. 2012;50(8):1759–65.
  108. Sehlin D, Fang XT, Cato L, Antoni G, Lannfelt L, Syvänen S. Antibody-based PET imaging of amyloid beta in mouse models of Alzheimer's disease. *Nat Commun*. 2016;7:10759.
  109. Van Dongen GAMS, Poot AJ, Vugts DJ. PET imaging with radiolabeled antibodies and tyrosine kinase inhibitors: Immuno-PET and TKI-PET. *Tumor Biol*. 2012;33(3):607–15.
  110. Englund H, Sehlin D, Johansson AS, Nilsson LNG, Gellerfors P, Paulie S, et al. Sensitive ELISA detection of amyloid- $\beta$  protofibrils in biological samples. *J Neurochem*. 2007;103(1):334–45.
  111. Schöll M, Carter SF, Westman E, Rodriguez-Vieitez E, Almkvist O, Thordardottir S, et al. Early astrocytosis in autosomal dominant Alzheimer's disease measured in vivo by multi-tracer positron emission tomography. *Sci Rep*. Nature Publishing Group; 2015;5(October):16404.
  112. Betensky RA, Frosch MP. Differential relationships of Reactive Astrocytes and Microglia to fibrillar amyloid deposits in Alzheimer Disease. 2014;72(6):462–71.
  113. Tong J, Meyer JH, Furukawa Y, Boileau I, Chang L-J, Wilson AA, et al. Distribution of monoamine oxidase proteins in human brain: implications for brain imaging studies. *J Cereb Blood Flow Metab*. Nature Publishing Group; 2013;33(6):863–71.
  114. Carter SF, Scholl M, Almkvist O, Wall a., Engler H, Langstrom B, et al. Evidence for Astrocytosis in Prodromal Alzheimer Disease Provided by  $^{11}\text{C}$ -Deuterium-L-Deprenyl: A Multitracer PET Paradigm Combining  $^{11}\text{C}$ -Pittsburgh Compound B and  $^{18}\text{F}$ -FDG. *J Nucl Med*. 2012;53(1):37–46.
  115. Sabri O, Sabbagh MN, Seibyl J, Barthel H, Akatsu H, Ouchi Y, et al. Florbetaben PET imaging to detect amyloid beta plaques in Alzheimer's disease: Phase 3 study. *Alzheimer's Dement*. 2015;11(8):964–74.

116. Villemagne VL, Ong K, Mulligan RS, Holl G, Pejoska S, Jones G, et al. Amyloid Imaging with 18F-Florbetaben in Alzheimer Disease and Other Dementias. *J Nucl Med.* 2011;52(8):1210–7.
117. Agency EM. Resumo do EPAR destinado ao público - Neuraceq. 2016 p. 3.
118. Ritter A, Cummings J. Fluid biomarkers in clinical trials of Alzheimer’s disease therapeutics. *Front Neurol.* 2015;6(Aug).
119. Rosén C, Hansson O, Blennow K, Zetterberg H. Fluid biomarkers in Alzheimer’s disease – current concepts. *Mol Neurodegener.* 2013;8(1):20.
120. Blennow K, Dubois B, Fagan AM, Lewczuk P, de Leon MJ, Hampel H. Clinical utility of cerebrospinal fluid biomarkers in the diagnosis of early Alzheimer’s disease. *Alzheimers Dement.* 2015;11(1):58–69.
121. Molinuevo JL, Blennow K, Dubois B, Engelborghs S, Lewczuk P, Perret-Liaudet A, et al. The clinical use of cerebrospinal fluid biomarker testing for Alzheimer’s disease diagnosis: A consensus paper from the Alzheimer’s Biomarkers Standardization Initiative. *Alzheimer’s Dement.* Elsevier Ltd; 2014;10(6):808–17.
122. Cicognola C, Chiasserini D, Parnetti L. Preanalytical Confounding Factors in the Analysis of Cerebrospinal Fluid Biomarkers for Alzheimer’s Disease: The Issue of Diurnal Variation. *Front Neurol.* 2015;6(June):143.
123. Lu H, Zhu X-C, Jiang T, Yu J-T, Tan L. Body fluid biomarkers in Alzheimer’s disease. *Ann Transl Med.* 2015;3(5):70.
124. Lopez-Font I, Cuchillo-Ibanez I, Sogorb-Esteve A, García-Ayllón MS, Sáez-Valero J. Transmembrane amyloid-related proteins in CSF as potential biomarkers for Alzheimer’s disease. *Front Neurol.* 2015;6(JUN):1–6.
125. Luo G, Xu H, Huang Y, Mo D, Song L, Jia B, et al. Deposition of BACE-1 Protein in the Brains of APP/PS1 Double Transgenic Mice. Hindawi Publishing Corporation; 2016;2016:1–9.
126. Lopez-Font I, Cuchillo-Ibañez I, Sogorb-Esteve A, García-Ayllón MS, Sáez-Valero J. Transmembrane amyloid-related proteins in CSF as potential biomarkers for Alzheimer’s disease. *Front Neurol.* 2015;6(JUN):1–6.
127. Zekanowski C, Religa D, Graff C, Filipek S, Kuznicki J. Genetic aspects of Alzheimer’s disease. *Acta Neurobiol Exp.* 2004;64(1):19–31.
128. Brys M, Pirraglia E, Rich K, Et.al. Prediction and Longitudinal Study of CSF Biomarkers in Mild Cognitive Impairment. 2010;48(Suppl 2):1–6.
129. Sultana R, Baglioni M, Cecchetti R, Cai J, Klein JB, Bastiani P, et al. Lymphocyte mitochondria: Toward identification of peripheral biomarkers in the progression of Alzheimer disease. *Free Radic Biol Med.* 2013;65:595–606.
130. Sutphen CL, Mateusz JS, Et.al. Longitudinal Cerebrospinal Fluid Biomarker Changes in Preclinical Alzheimer Disease During Middle Age. *Proc SPIE--the Int Soc Opt Eng.* 2015;73(4):389–400.

131. Perrin RJ, Craig-Schapiro R, Malone JP, Shah AR, Gilmore P, Davis AE, et al. Identification and Validation of Novel Cerebrospinal Fluid Biomarkers for Staging Early Alzheimer's Disease. *PLoS One*. 2011;6(1):e16032.
132. Paquet C, Dumurgier J, Hugon J. Pro-apoptotic kinase levels in cerebrospinal fluid as potential future biomarkers in Alzheimer's disease. *Front Neurol*. 2015;6(Aug):6–11.
133. Kvartsberg H, Duits FH, Ingelsson M, Andreasen N, Ohrfelt A, Andersson K, et al. Cerebrospinal fluid levels of the synaptic protein neurogranin correlates with cognitive decline in prodromal Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*. 2015;11(10):1180–90.
134. Baird AL, Westwood S, Lovestone S. Blood-based proteomic biomarkers of Alzheimer's disease pathology. *Front Neurol*. 2015;6(NOV).
135. Swardfager W, Lanctt K, Rothenburg L, Wong A, Cappell J, Herrmann N. A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* [Internet]. Elsevier Inc.; 2010;68(10):930–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.06.012>
136. Tan L, Wang H-F, Tan M-S, Tan C-C, Zhu X-C, Miao D, et al. Effect of CLU genetic variants on cerebrospinal fluid and neuroimaging markers in healthy, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease cohorts. *Sci Rep*. Nature Publishing Group; 2016;6(April):26027.
137. Lim YY, Villemagne VL, Laws SM, Pietrzak RH, Snyder PJ, Ames D, et al. APOE and BDNF polymorphisms moderate amyloid  $\beta$ -related cognitive decline in preclinical Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry*. Nature Publishing Group; 2015;20(11):1322–8.
138. Zhao Y, Bhattacharjee S, Dua P, Alexandrov PN, Lukiw WJ. microRNA-Based Biomarkers and the Diagnosis of Alzheimer's Disease. *Front Neurol*. 2015;6(July):1–5.
139. Report S. 2015 Alzheimer's Disease Facts and Figures. Chicago; 2015.
140. Bronner K, Pernecky R, McCabe R, Kurz A, Hamann J. Which medical and social decision topics are important after early diagnosis of Alzheimer's Disease from the perspectives of people with Alzheimer's Disease, spouses and professionals? *BMC Res Notes*. BioMed Central; 2016;9(1):149.
141. Alice S. The role of pharmacists in the early detection of dementia. *Aust Pharm*. 2014;33(10):38–41.
142. Riachi M. How pharmacists can help their dementia patients. *Can Pharm J*. 2016;149(2):67–9.
143. Fiandaca MS, Mapstone ME, Cheema AK, Federoff HJ. The critical need for defining preclinical biomarkers in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*. Elsevier Ltd; 2014;10(3 SUPPL.):S196–212.
144. Teipel SJ, Kurth J, Krause B, Grothe MJ. The relative importance of imaging markers for the prediction of Alzheimer's disease dementia in mild cognitive impairment - Beyond classical regression. *NeuroImage Clin*. Elsevier B.V.; 2015;8:583–93.