



ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA
CURSO BIOMEDICINA

GEOVANA SANTOS SILVA

**AVALIAÇÃO DOS POSSÍVEIS BIOMARCADORES DO
LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO NO DIAGNÓSTICO DA
DOENÇA DE ALZHEIMER: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

SALVADOR – BA
2022

GEOVANA SANTOS SILVA

**AVALIAÇÃO DOS POSSÍVEIS BIOMARCADORES DO
LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO NO DIAGNÓSTICO DA
DOENÇA DE ALZHEIMER: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Escola Bahiana de
Medicina e Saúde Pública, como
parte dos requisitos para obtenção do
título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof^ª. Dra. Thessika
Hialla Almeida Araújo

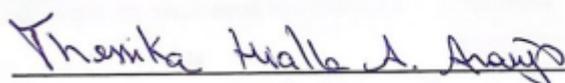
SALVADOR – BA

2022

GEOVANA SANTOS SILVA

**AVALIAÇÃO DOS POSSÍVEIS BIOMARCADORES DO LÍQUIDO
CEFALORRAQUIDIANO NO DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE ALZHEIMER:
UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado à obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina e aprovada em sua forma final pelo Curso de Biomedicina da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.
Salvador – BA, 11 de novembro 2022.



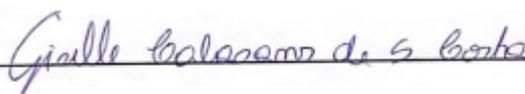
Prof^a. Dra. Thessika Hialla Almeida Araújo

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública



Prof^a Dra. Cinthia Vila Nova Santana

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública



Prof^a. Dra. Giselle Calasans de Souza Costa

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

Dedico primeiramente a Deus por não me deixar desistir nessa jornada. E toda a minha família em especial minha mãe Maria Cristina Jesus dos Santos e irmã Maiana Santos Silva, que sempre me apoiaram na minha vida acadêmica. Enfim, muito obrigada a todos!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me capacitar todos os dias na minha jornada e pelo dom da vida. A minha família em especial minha mãe Maria Cristina Jesus dos Santos, que sempre foi minha inspiração e minha irmã Maiana Santos Silva que sempre esteve presente na minha vida me incentivando nos momentos difíceis.

Aos meus professores pelo ensinamento e contribuição para um melhor aprendizado em especial minha orientadora de Trabalho de Conclusão de Curso prof^a. Dra. Thessika Hialla Almeida Araújo por ter me ajudado e incentivado durante todo o processo da construção desse TCC.

Aos meus amigos que sempre estiveram comigo em todos os momentos. A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada.

Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.

Carol Carolina

RESUMO

Introdução: A doença de Alzheimer (DA) se caracteriza pela forma mais comum de demência neurodegenerativa em pessoas idosas. A doença está relacionada com as perdas de alguns neurônios, associada à deposição de placas amiloides ($A\beta$), formação de emaranhados neurofibrilares (NFT) e neuroinflamação no cérebro. Vários estudos realizados demonstraram que biomarcadores do líquido cefalorraquidiano (LCR) podem se apresentar como auxiliar para o diagnóstico da DA. **Objetivo:** Portanto, o objetivo dessa revisão sistemática foi identificar os possíveis biomarcadores para a DA no líquido cefalorraquidiano comparando as metodologias laboratoriais utilizadas. **Metodologia:** Trata-se de uma revisão sistemática, que buscou artigos originais nas bases de dados *PubMed*, *Scielo* e *Lilacs*, publicado entre 2012 e 2022. **Resultados:** Foram encontrados 487 artigos, dos quais 10 foram selecionados. Os resultados demonstraram que os biomarcadores mais avaliados nos estudos foram $A\beta_{40}$, $A\beta_{42}$ / p-tau e t-tau, que se utilizaram os testes de ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA). As proteínas $A\beta_{42}$, p-tau e t-tau se apresentaram como um potencial biomarcador para auxiliar no diagnóstico da DA. **Considerações Finais:** Pacientes com DA e CCL apresentaram diferenças entre os níveis dos biomarcadores do LCR em que as proteínas p-tau e t-tau estão aumentadas e $A\beta_{42}$ está diminuída. As variabilidades de medições podem estar em uma série de fatores entre laboratórios e intralaboratoriais, como os testes utilizados, diferença entre os lotes dos kits, manuseio, processamento e armazenamento das amostras, além de fatores do paciente, por exemplo, etnia.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer, Biomarcadores, Amiloide, Proteína Tau e Diagnóstico

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| Artigo Científico | 10 |
| 1 INTRODUÇÃO | 11 |
| 2 METODOLOGIA | 13 |
| 2.1 PERGUNTA INVESTIGATIVA | 13 |
| 2.2 ESTRATÉGIA DE BUSCA | 13 |
| 2.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO | 14 |
| 2.4 SELEÇÃO DOS ARTIGOS | 14 |
| 2.5 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE | 14 |
| 3 RESULTADOS | 16 |
| 3.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS ESTUDOS..... | 16 |
| 3.2 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS ESTUDOS INCLUÍDOS | 17 |
| 4 DISCUSSÃO | 21 |
| 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS | 24 |
| 6 CONFLITO DE INTERESSES | 24 |
| REFERÊNCIAS | 25 |
| 7 PROPOSTA DE SUBMISSÃO | 28 |
| 1.1 REVISTA: Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML) . | 28 |
| 1.2 REGRAS PARA SUBMISSÃO: | 28 |

Artigo Científico

AVALIAÇÃO DOS POSSÍVEIS BIOMARCADORES DO LÍQUIDO CEFALORRAQUEDIANO NO DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE ALZHEIMER: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Geovana S. Silva¹; Thessika H. A. Araújo¹

¹ Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Salvador, Bahia, Brasil.

ABSTRACT

Introduction: Alzheimer's disease (AD) is characterized by the most common form of neurodegenerative dementia in the elderly. The disease is associated with the loss of some neurons, which is accompanied by the deposition of amyloid plaques ($A\beta$), the formation of neurofibrillary tangles (NFT), and neuroinflammation in the brain. Several studies have shown that cerebrospinal fluid (CSF) biomarkers can be presented as an aid in the diagnosis of AD. **Objective:** Therefore, the objective of this systematic review was to identify possible biomarkers for AD in cerebrospinal fluid by comparing the laboratory methodologies used. **Methodology:** This is a systematic review searching PubMed, Scielo and Lilacs databases for original articles published between 2012 and 2022. **Results:** 487 articles were found, of which 10 were selected. The results showed that the most evaluated biomarkers in the studies were $A\beta_{40}$, $A\beta_{42}/p\text{-tau}$, and $t\text{-tau}$, which were used by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The $A\beta_{42}$, $p\text{-tau}$, and $t\text{-tau}$ proteins were presented as potential biomarkers to aid in the diagnosis of AD. **Final Considerations:** Both AD and MCI patients showed differences between the levels of CSF biomarkers in which $p\text{-tau}$ and $t\text{-tau}$ proteins are increased and $A\beta_{42}$ is decreased. Variability in measurements may be due to a number of factors between and intralaboratories, including the tests used; differences between batches of test kits; sample handling, processing, and storage; of samples, in addition to patient factors, for example, race.

Keywords: alzheimer's disease, biomarkers, tau proteins, amyloid, diagnosis

1 INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) se caracteriza pela forma mais comum de demência neurodegenerativa em pessoas idosas ⁽¹⁾. A demência se apresenta pela perda constante ou progressiva da capacidade de aprender novas informações ou lembrar de informações recentes, afetando diretamente o comportamento e assim levando a limitações da autonomia dessas pessoas ⁽²⁾.

A progressão da doença está relacionada com as perdas de alguns neurônios que levam à incapacidade de determinadas funções do sistema nervoso, devido à deposição de placas amiloides (A β), formação de emaranhados neurofibrilares (NFT) e neuroinflamação no cérebro, porém, a demência clínica se apresenta como o estágio final e duradoura da patologia ^(1,3).

Há uma grande quantidade de indivíduos que sofre com a demência em todo mundo, sendo a DA responsável por mais de 50 milhões de casos, com uma perspectiva deste número triplicar até 2050 ⁽⁵⁾. Em relação a etiologia da DA ainda continua indefinida, posto que esforços consideráveis tenham sido alcançados em relação aos seus mecanismos bioquímicos e genéticos ⁽⁶⁾. Além disso, estudos demonstraram avanços no desenvolvimento do diagnóstico da DA, como análise de diversos espectros clínicos e uma maior capacidade de detectar *in vivo* os processos fisiopatológicos relacionada a doença ⁽⁷⁾.

De acordo, o *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke* e pela *Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* (NINCDS- ADRDA), o diagnóstico da DA é feito através dos critérios clínicos padronizados, que classificam a DA em provável, possível e definitiva, no qual inclui exames clínicos, por exemplo, exames de imagem, testes objetivos para estabelecer a demência e testes neuropsicológicos ^(8,9). Entretanto o diagnóstico definitivo é evidenciado na autópsia, onde é observado presença de placas amilóides e emaranhados neurofibrilares, que consistem principalmente em beta-amilóide agregada que são formados através da clivagem da proteína precursora amilóide (APP), que se caracteriza como uma substância tóxica para as células neuronais e as proteínas tau que está associada aos microtúbulos presentes nos neurônios do sistema nervoso que leva a emaranhados neurofibrilares ^(3,9,10). Alguns estudos neuropatológicos vêm demonstrando que as alterações encontradas na doença de Alzheimer podem ser identificadas em

pacientes assintomáticos, sugerindo que doença comece cerca de 20 anos antes do aparecimento da demência, resultando em um longo estágio pré-clínico em que alterações fisiopatológicas são refletidas pelo aumento de biomarcadores da doença ^(11,12).

Nas últimas década vários estudos realizados demonstraram que biomarcadores do líquido cefalorraquidiano (LCR) como a proteína beta-amilóide ($A\beta$), proteína tau e tau fosforilada podem se apresentar como auxiliar para o diagnóstico da DA ⁽²⁾. Apesar disso, esses biomarcadores estudados não são amplamente utilizados na clínica, devido à falta de padronização dos métodos, a sua utilização ainda se encontra no ambiente de pesquisa como sugerido pelas novas diretrizes diagnósticas da DA ⁽¹³⁾. A identificação dos desafios da inclusão dessa ferramenta na rotina laboratorial poderia auxiliar no diagnóstico clínico da DA, em que há uma grande dificuldade para distinguir os tipos de demência e assim, contribuir para melhores resultados terapêuticos. Portanto, o objetivo dessa revisão sistemática foi identificar os possíveis biomarcadores para a DA no líquido cefalorraquidiano comparando as metodologias laboratoriais utilizadas.

2 METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão sistemática que foi realizada para identificar os possíveis biomarcadores do líquido cefalorraquidiano no diagnóstico da doença de Alzheimer e as prováveis variáveis laboratoriais. O estudo foi realizado seguindo o diagrama estabelecido pelo *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) ⁽²⁴⁾. Utilizou-se para pesquisa de dados as seguintes plataformas *PubMed*, *Scielo* e *Lilacs*, para o levantamento de referências bibliográficas.

2.1 PERGUNTA INVESTIGATIVA

Para construção da pergunta investigativa foi utilizado a estratégia PICO, que representa uma abreviatura para População, Intervenção, Comparação e “*Outcomes*” (desfecho). Em que estabeleceu a seguinte proposta: Quais os possíveis biomarcadores do líquido cefalorraquidiano e as metodologias laboratoriais utilizadas para o diagnóstico da Doença de Alzheimer?

2.2 ESTRATÉGIA DE BUSCA

Utilizou-se para a busca bibliográfica os descritores “Doença de Alzheimer”, “Biomarcadores”, “Amiloide”, “Proteína Tau” e “Diagnóstico” em inglês como guia para pesquisa. Os Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) foram usados para buscas no *Scielo* e *Lilacs* e os termos *Medical Subject Headings* (MeSH) foram empregados para melhorar as buscas no *PubMed*. Para estratégia de busca utilizou-se os operadores booleano “AND” e “OR”.

Como estratégias de busca utilizou-se as seguintes combinações no *PubMed*, (alzheimer's disease OR alzheimer Dementia AND biomarkers OR tau proteins OR amyloid OR amyloid substance AND diagnosis), execução no dia 02 agosto de 2022.

Para as pesquisas no *Lilacs* e *Scielo* utilizou-se os algoritmos – (alzheimer's disease AND biomarkers OR tau proteins OR amyloid AND diagnosis). A execução da busca bibliográfica ocorreu em 08 de agosto de 2022.

2.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Os critérios de inclusão foram artigos originais de estudos observacionais de caso controle, coorte, corte transversal e experimental que tratassem sobre biomarcadores no diagnóstico da doença de Alzheimer, publicados entre 1 de janeiro de 2012 a 08 de agosto 2022. Esse período foi selecionado devido uma maior quantidade dos estudos sobre biomarcadores do líquido cefalorraquidiano na doença de Alzheimer e por se tratar de metodologias laboratoriais mais atuais. E artigos em inglês ou espanhol. Como critérios de exclusões foram usados, artigos em forma de revisão e aqueles fora do escopo do objetivo deste trabalho, como por exemplo, artigos que abordam possíveis biomarcadores que não sejam do líquido cefalorraquidiano.

2.4 SELEÇÃO DOS ARTIGOS

Os artigos identificados a partir das estratégias de busca foram importados para planilha no Excel, as duplicadas excluídas. A distinção ocorreu após a leitura de título, resumo e palavras-chaves. Em suma, os artigos selecionados foram consultados na íntegra para confirmar a sua elegibilidade.

Os registros foram organizados e as extrações de dados incluíram informações sobre idade dos pacientes, sexo, tipo de testes utilizados, país em que ocorreu o estudo, desenho do estudo, forma de armazenamento das amostras, especificidade e sensibilidade dos biomarcadores. A triagem e organização dos artigos foi realizado no Mendeley Desktop.

2.5 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE

A qualidade dos estudos foi avaliada pelo checklist do *Joanna Briggs Institute* (JBI), feita baseada em uma série de perguntas de acordo com desenho dos estudos, analisando as metodologias a partir da escala de intervenções viáveis, adequação ética e cultural, significados para o paciente e efetividade para o desfecho. Para estudos transversais foram classificados em: 0-3 perguntas respondidas “sim” tendo um alto risco de viés, 4-6 como médio risco e 7-8 baixo risco de viés. Os estudos de caso controle e coorte com 0-4 “sim” tendo um alto risco de viés, 5-7 médio risco e 8-10 como baixo risco de viés. Os

estudos randomizados 0-4 “sim” tendo um alto risco de viés, 5-10 médio risco e 10-13 baixo risco de viés.

3 RESULTADOS

Segundo as estratégias de busca foram inicialmente encontrados 487 artigos: sendo 484 registros de banco de dados e 3 de fontes adicionais, os registros duplicados foram analisados, sendo excluídos 13 artigos. Dos 474 registros, 463 artigos foram excluídos por não responderem todos os critérios de inclusão e 1 por não estar disponível na íntegra (Figura 1). Dos 10 artigos totais incluídos na revisão, 6 foram identificados no *PubMed*, 1 do *Lilacs*, 1 do *Scielo* e 2 por citação, foram encontrados estudos observacionais e experimentais como demonstrados na (Tabela 1). Todos os artigos selecionados foram publicados em inglês.

3.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS ESTUDOS

Os 10 estudos analisados foram realizados em diferentes países sendo, 1(um) no Brasil ⁽²⁾, 1(um) na Grécia, 1(um) receberam amostras de locais da Finlândia, Suécia, Alemanha e Holanda ⁽¹⁸⁾, 1(um) dos Estado Unidos ⁽¹⁷⁾, 1(um) da Itália ⁽¹⁶⁾, 1(um) da Holanda ⁽²⁰⁾, 1(um) da Suécia ⁽¹⁴⁾ e 3 não forneceram essas informações.

Os pacientes foram selecionados através de critérios de elegibilidade que avaliaram aspectos neuropsicológicos para a participação nos estudos, em dois artigos não foram identificados essa informação ^(14,15). Dentre as populações estudadas foram avaliados pacientes com DA em diferentes estágios, comprometimento cognitivo leve (CCL) devido a DA ^(2,13,16,17,18,19), demência leve, moderada, grave ⁽¹³⁾ e até mesmo pacientes saudáveis com história de um dos pais ou vários parentes de primeiro grau com DA ⁽²¹⁾. Alguns estudos avaliaram apenas o sexo feminino ou masculino enquanto outros usaram ambos os sexos. Em relação às idades dos pacientes foram ≥ 60 anos, excerto 2 (20%) estudos que trabalharam também com a faixa etária de 45 e 55 anos ^(18,21) (Tabela 2).

Os biomarcadores mais avaliados dos estudos foram A β 40, A β 42/ p-tau e t-tau ^(2,13-21). Todas as amostras foram obtidas através da punção lombar e 7 (70%) dos estudos utilizaram tubos de polipropileno para armazenarem as amostras em -70–80 °C. Para as análises das amostras os estudos utilizaram os

testes de ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA), para medir os biomarcadores, exceto um que foi realizado utilizando imunoensaio eletroquimioluminescência (ECLIA) em que foram investigados também outras proteínas do LCR, além das proteínas Tau e beta- amiloide (TABELA 2). Todos os testes seguiram as recomendações dos fabricantes sendo a maioria do kit INNOTEST®.

| TABELA 1 | | Estudos selecionados na literatura científica | | |
|--|----------------------------|---|----------------|-------------------|
| AUTOR (ES) | PERIÓDICO | BASE DE DADOS | TIPO DE ESTUDO | ANO DE PUBLICAÇÃO |
| Mattsson <i>et al.</i> ⁽¹⁴⁾ | <i>NIH Public Access</i> | <i>PubMed</i> | Transversal | 2013 |
| Vos <i>et al.</i> ⁽²⁰⁾ | PLOS ONE | <i>PubMed</i> | Multicêntrico | 2014 |
| Tondelli M <i>et al.</i> ⁽¹⁶⁾ | <i>Clin Chem Lab Med</i> | <i>PubMed</i> | Coorte | 2014 |
| Magalhães <i>et al.</i> ⁽²⁾ | <i>JBPML</i> | <i>SciELO</i> | Transversal | 2015 |
| Howell JC <i>et al.</i> ⁽¹⁷⁾ | <i>Alzheimers Res Ther</i> | <i>PubMed</i> | Transversal | 2017 |
| Tardif CL <i>et al.</i> ⁽¹⁹⁾ | <i>Hum Brain Mapp</i> | <i>PubMed</i> | Randomizado | 2018 |
| Begcevic I <i>et al.</i> ⁽¹³⁾ | <i>F1000Res</i> | <i>PubMed</i> | Randomizado | 2018 |
| Milà-Alomà M <i>et al.</i> ⁽¹⁵⁾ | <i>Alzheimers Res Ther</i> | <i>PubMed</i> | Transversal | 2021 |
| Rosenberg A <i>et al.</i> ⁽¹⁸⁾ | <i>Alzheimers Res Ther</i> | <i>PubMed</i> | Randomizado | 2021 |
| Peles <i>et al.</i> ⁽²¹⁾ | <i>Arq. neuropsiquiatr</i> | <i>LILACS</i> | Caso-controle | 2022 |

Fonte: Elaboração própria a partir dos dados obtidos na pesquisa.

3.2 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

Após a análise de todos os estudos de acordo com o *Joanna Briggs Institute*, grande parte dos artigos apresentaram um risco médio de viés, sendo 3 (30%) estudos transversais, 1 (10%) estudo de caso-controle, 1 (10%) estudo coorte, 1 (10%) multicêntrico e 3 (20%) randomizados em que um apresentou baixo risco de viés e apenas um estudo transversal apresentou um risco de viés alto, por não demonstrar características importante dos pacientes que podem influenciar nos resultados.

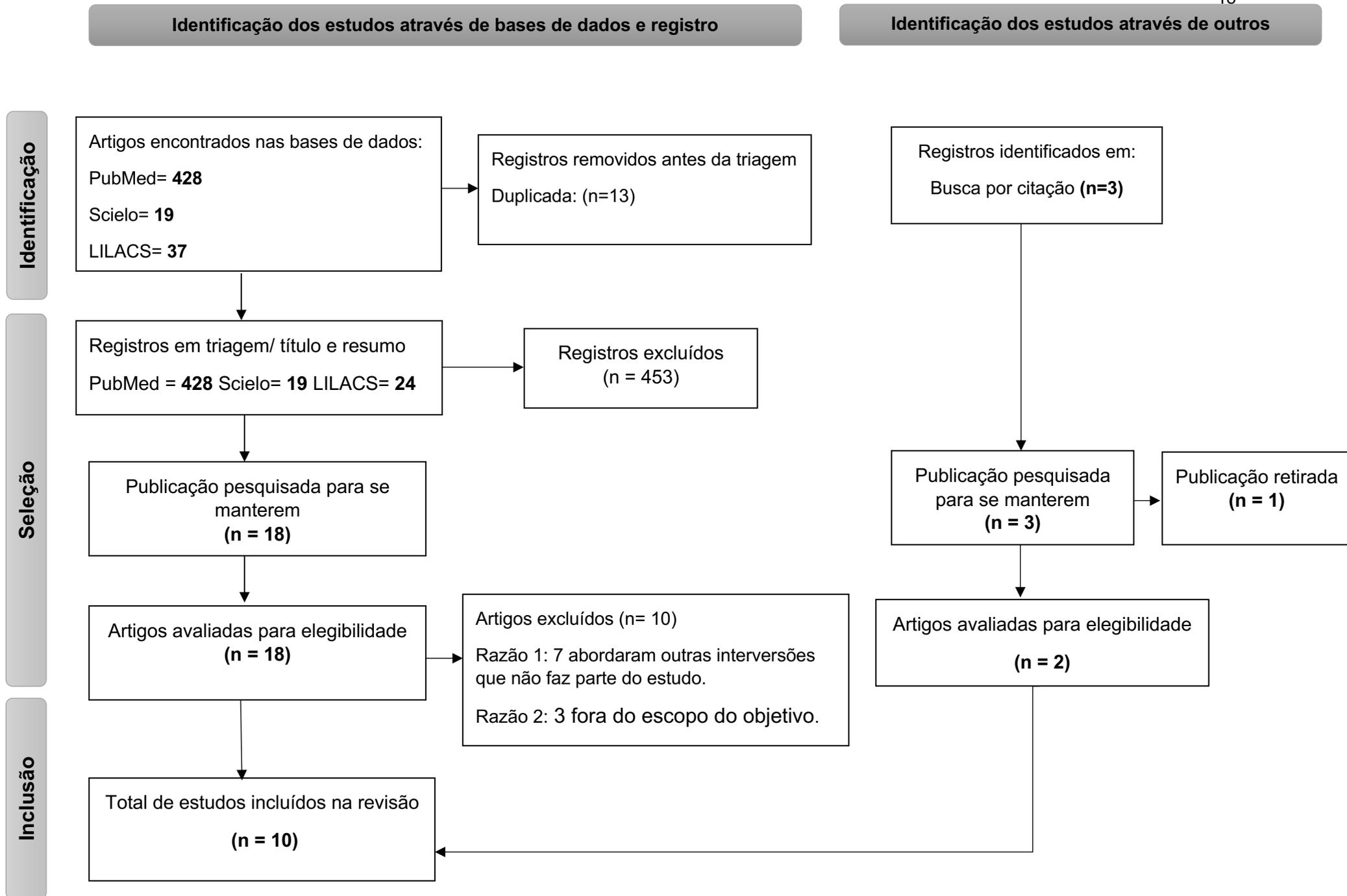


Fig 1. Fluxograma do processo de seleção dos estudos.

| TABELA 2 | Caracterização do <i>corpus</i> da pesquisa conforme, autores, critérios de elegibilidade, população estudadas, idade, sexo biomarcadores e teste. | | | | | |
|--|--|---|-------------------------|--------------|--|---|
| AUTOR (ES) | CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE | POPULAÇÕES ESTUDADAS | SEXO | ANOS (IDADE) | BIOMARCADORES | TESTES |
| Mattsson <i>et al.</i> ⁽¹⁴⁾ | ** | ** | ** | ** | Aβ42, p-tau e t-tau | ELISA, xMAP e MSD |
| Vos <i>et al.</i> ⁽²⁰⁾ | MEEM | SCI, CCL ou demência | Feminino | 67.0 (9.2) | Aβ42, t-tau e p-tau | ELISA |
| Tondelli M <i>et al.</i> ⁽¹⁶⁾ | MEEM | CCL | Femininos/ Masculino | 66-68 | Aβ42, p-tau e t-tau | ELISA |
| Magalhães <i>et al.</i> ⁽²⁾ | NINCDS/ADRDA | DA provável, CCL, outras demências | Femininos/ Masculino | 65.89 ± 9.65 | Aβ, Tau e P-tau | ELISA |
| Howell JC <i>et al.</i> ⁽¹⁷⁾ | MEEM | Cognição normal, CCL e com DA | Masculino | 69 -72 | Aβ40, Aβ42/ p-tau e t-tau | ELISA |
| Begcevic I <i>et al.</i> ⁽¹³⁾ | NINCDS/ADRDA | Demência leve, moderada, grave e CCL | Feminino | 71- 80 | Aβ1-42, t-tau, p-tau NPTXR | ELISA |
| Tardif CL <i>et al.</i> ⁽¹⁹⁾ | RBANS | Saudáveis com histórico de parentes de primeiro grau com DA | Femininos/ Masculino | ≥ 60 | Aβ42, p- tau e tau total | ELISA |
| Rosenberg A <i>et al.</i> ⁽¹⁸⁾ | NIA-AA | Pacientes com DA e CCL | Feminino | 55 - 85 | Aβ40, Aβ42/ p-tau e t-tau | ELISA |
| Milà-Alomà M <i>et al.</i> ⁽¹⁵⁾ | ** | História familiar de DA | Feminino | 45 - 75 | Aβ40, Aβ42/ p-tau e t-tau, NfL, neurogranina, GFAP | Imunoensaios de eletroquimioluminescência |
| Peles <i>at al.</i> ⁽²¹⁾ | MEEM BCSB | Pacientes com e sem DA | Feminino/ Masculino | 65,3 | Aβ42/ T-tau e P-tau | ELISA |

MEEM: Mini Exame do Estado Mental; RBANS: Bateria Repetitiva para Avaliação do Status Neuropsicológico; BCSB: Bateria Breve de Rastreio Cognitivo

NIA-AA: *National Institute on Aging–Alzheimer’s Association*

CCL: comprometimento cognitivo leve; SCI: comprometimento cognitivo subjetivo

A β 40: β -amilóide 1-40; A β 42: β -amilóide 1–42; P-tau: tau fosforilada; T-tau: tau total; NPTXR: receptor neuronal da pentraxina, NfL: Polipeptídeo leve de neurofilamento, GFAP: proteína ácida fibrilar glial

ELISA: ensaios de imunoabsorção enzimática

MSD: *Meso Scale Discovery*

** : Informações não identificadas

FONTE: Elaboração própria a partir dos dados obtidos na pesquisa.

4 DISCUSSÃO

Essa revisão sistemática é classificada como um estudo exploratório que buscou avaliar os possíveis biomarcadores no LCR da doença de Alzheimer e os analitos laboratoriais. Os estudos apresentaram diferentes critérios para a elegibilidade dos diagnósticos da DA que foram feitos a partir de testes neuropsicológicos.

Os artigos que analisaram pacientes com comprometimento cognitivo leve (CCL) ^(2,13,16,17,18,19), apresentaram diferença significativa entre os níveis de proteína A β 42, A β 40, p-tau e t-tau. Mesmo o CCL se caracterizando como uma desordem heterogênea, houve uma diminuição nos níveis de A β 42 nos pacientes com CCL com progressão para DA, comparado com CCL não relacionado a DA ⁽¹⁶⁾. Essas alterações são vistas também no estudo de Milà-Alomà M *et al.*, 2021 que teve o objetivo caracterizar a doença de Alzheimer pré-clínica analisando indivíduos com histórico familiar com DA. Além disso, outras proteínas como neurogranina, NfL e GFAP apresentaram uma tendência a aumentar, mas não atingiram significância estatística nesse grupo de indivíduos ⁽¹⁵⁾.

Observou-se que existe uma clara diferença entre os níveis dos biomarcadores no LCR nos pacientes com possível DA ⁽²⁰⁾. As proteínas p-tau e a t-tau no LCR estão aumentadas em pacientes com DA e podem estar presentes também em outras doenças neuropsiquiátricas. Já a proteína A β apresentou diminuição em suas concentrações, porém não está claro o que leva a esse mecanismo ^(14,15,18). Diante das diferentes populações estudadas entre os artigos os valores de corte precisam ser definidos para atender às especificidades e características de cada população ⁽²⁾.

Em relação a alteração da quantidade de biomarcadores com a idade dos pacientes, os estudos não sinalizaram alterações ^(2,13,16,17,18,18,21), uma vez que os estudos trabalharam com as duas formas da DA, esporádica (início tardio) e familiar (início precoce) ⁽³⁾ com participantes que apresentaram idade \geq 60 anos. Apenas o estudo de Vos *et al.*, 2014 apresentou que os níveis de tau aumentam

com a idade ⁽²⁰⁾. Nenhum dos artigos traz relações entre os níveis dos biomarcadores e o sexo (masculino e feminino) dos participantes.

As proteínas A β 42 e p-tau, apresentaram maior variabilidade comparadas a t-tau quando analisadas por diferentes laboratórios ⁽²⁰⁾. Apesar disso, outro estudo que comparou os afro-americanos que possuem uma alta prevalência de DA, com os caucasianos demonstram que os níveis dos biomarcadores de ambas as proteínas tau no LCR são fortemente influenciados pela raça, em que ocorre o aumento das proteínas p-tau e t-tau nos afro-americanos comparado com os caucasianos. O que pode implicar na sua inserção como um dos biomarcadores na rotina laboratorial para o diagnóstico da Doença de Alzheimer ⁽¹⁷⁾. No estudo de Begcevic I *et al.*, 2018 que analisou a proteína NPTXR que faz parte da família neuronal das pentraxinas expressa no cérebro, podendo ser observadas principalmente no cerebelo, apresentou valores significativos tendo uma diminuição no LCR de pacientes com CCL e DA, utilizando a técnica de ELISA sanduíche e se apresentou como um novo biomarcador prognóstico da DA ⁽¹³⁾.

As amostras foram analisadas por diferentes lotes dos kits de ELISA, o que pode influenciar para variabilidade dentro do ensaio, dentro e entre testes. A variabilidade geral foi frequentemente baixa para ELISA INNOTEST® do que para medições nos sistemas de ensaio MSD e INNO-BIA xMAP que um ensaio para quantificação simultânea de A β 42, p-tau e t-tau. E ainda assim as variabilidades estão entre laboratórios chegando a 20%-30% ⁽¹⁴⁾. Outro estudo demonstrou que variações entre lotes foi a principal causa de variabilidade intralaboratorial ⁽²⁰⁾. No estudo Teunissen *et al.*, 2010 foi observado que os métodos de ELISA da marca INNOTEST® melhoraram a variação entre laboratórios na medição da A β 42 comparados aos outros kits ⁽²²⁾. Enquanto a metodologia de Imunoensaios de eletroquimioluminescência demonstrou grandes variações entre os níveis dos biomarcadores ⁽¹⁵⁾.

As proteínas p-tau e t-tau tiveram sensibilidade em torno de 70%-80%, com especificidade entre 70%-84%. Em relação as proteínas A β a sensibilidade e especificidade identificadas foram em torno de 75% e 84%, respectivamente ⁽²⁾. No estudo de Mattsson N. *et al.*, 2011 analisou o controle externo de qualidade

para os biomarcadores, demonstrando um total de coeficiente de variação (CV) em torno de 13% a 36% entre os laboratórios ⁽²³⁾.

Um aspecto importante a ser levado em consideração ao analisar os artigos incluídos nesse estudo, foi a falta de informações sobre padronização em relação aos procedimentos, por exemplo, segundo o estudo de Teunissen *et al.* 2010 a pipetagem inversa e a marca da pipeta são fatores que podem induzir muitas variações nos resultados dos ensaios ⁽²²⁾. A forma de armazenamento do LCR, em -70–80 °C, o que pode ser muito importante para as concentrações de proteínas instáveis ^(2,13,14,17-22).

A utilização dos biomarcadores do LCR apresentou várias vantagens por ser possível medir pela técnica de ELISA, que permite que muitas amostras sejam testadas ao mesmo tempo, possui baixo custo, além de poder ser detectado antes dos sintomas clínicos da DA, como demonstrados nos estudos ^(13,15,17,19). Como desvantagens os biomarcadores são obtidos através de um procedimento invasivo e doloroso (punção lombar) e serem susceptíveis à variações, por possuir processos manuais sendo sujeitos a erros, como por exemplo, alterações na pipetagem ⁽²²⁾.

Todas as metodologias apresentadas nos estudos são técnicas utilizadas aqui no Brasil, nas rotinas laboratoriais para o diagnóstico de outras doenças, inclusive o kit INNOTEST® até o presente momento o estudo de Magalhães *et al.*, 2015 foi o primeiro do Brasil a avaliar a concentração dos biomarcadores do LCR no diagnóstico da DA ⁽²⁾.

Ressalva-se que dois estudos que fizeram parte dessa revisão analisaram não só os biomarcadores do LCR por metodologia laboratorial, mas também por exames de imagem como tomografia computadorizada por emissão de pósitrons e ressonância magnética ^(15,19).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os delineamentos de estudos levantados na presente revisão sistemática foram na sua maioria, estudos observacionais que tentou fornecer os possíveis biomarcadores do LCR e suas metodologias laboratoriais, visando auxiliar no diagnóstico da doença de Alzheimer (DA). Dentre os biomarcadores, as proteínas A β 42, p-tau e t-tau apresentaram-se como potenciais biomarcadores para auxiliar no diagnóstico da DA. Pacientes com DA e CCL apresentaram diferenças entre os níveis dos biomarcadores no LCR em que as proteínas p-tau e t-tau estão aumentadas e A β 42 está diminuída. E técnica de ELISA se apresentou o melhor método até o presente estudo.

As principais variabilidades de medições podem estar em uma série de fatores entre laboratórios e intralaboratoriais, como os testes utilizados, diferença entre os lotes dos kits, manuseio, processamento e armazenamento das amostras, além de fatores do paciente, por exemplo, a etnia. Uma das medidas adotadas para reduzir ou evitar as variações é a padronização dentro dos próprios laboratórios principalmente dos lotes do teste de ELISA.

6 CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Polis B, Samson AO. A New Perspective on Alzheimer's Disease as a Brain Expression of a Complex Metabolic Disorder. In: Wisniewski T, editor. Alzheimer's Disease [Internet]. Brisbane (AU): Codon Publications; 2019 Dec 20. Chapter 1. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK552149/> doi: 10.15586/alzheimersdisease.2019.ch1
2. Magalhães CA, Figueiró M, Fraga VG, Mateo EC, Toledo AASF, Carvalho M das G, *et al.* Cerebrospinal fluid biomarkers for the differential diagnosis of Alzheimer's disease. J Bras Patol e Med Lab [Internet]. 2015 [cited 2022 Mar 24];51(6). Available from: <https://www.scielo.br/j/jbpm/a/mhN4vJZM9ymm8TKzFQpxfkg/abstract/?lang=en>
3. Tailor B, Pillozzi A, Huang X. Contributing Factors of Neurodegeneration in Alzheimer's Disease. In: Wisniewski T, editor. Alzheimer's Disease [Internet]. Brisbane (AU): Codon Publications; 2019 Dec 20. Chapter 5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK552140/> doi: 10.15586/alzheimersdisease.2019.ch5
4. D'Alencar, R. S.; Santos, E. M. P. DOS; Pinto, J. B. T. Conhecendo a doença de Alzheimer. ed. Ilhéus: Editus, 2010. 87 p.
5. Patterson C. World Alzheimer Report 2018. Prof Geogr. 2018;2(4):14–20.
6. Brasil, Ministério da Saúde. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas doença de alzheimer. CONITEC., p. 38, 2017.
7. Jr CRJ, Albert M, Knopman DS, Mckhann GM, Sperling RA, Carillo M, *et al.* Introduction to revised criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: National Institute on Aging and the Alzheimer Association Workgroups. Alzheimer Dement. 2011;7(3):257–62.
8. Sternick M, Pires R. Projeto Diretrizes Clínicas na Saúde Suplementar. São Paulo AMB e SBOT [Internet]. 2011;1–24. Available from: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Diretrizes+Clínicas+na+Saúde+Suplementar#5>
9. Mckhann G. 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. Alzheimers Dement. 2011;7(3):263–9.

10. Drummond E, Wisniewski T. Using Proteomics to Understand Alzheimer's Disease Pathogenesis. In: Wisniewski T, editor. Alzheimer's Disease [Internet]. Brisbane (AU): Codon Publications; 2019 Dec 20. Chapter 3. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK552137/> doi: 10.15586/alzheimersdisease.2019.ch3
11. Aisen PS, Cummings J, Jack CR, Morris JC, Sperling R, Frölich L, et al. On the path to 2025: Understanding the Alzheimer's disease continuum. *Alzheimer's Res Ther.* 2017;9(1):1–10.
12. Deture MA, Dickson DW. The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener.* 2019;14(1):1–18.
13. Begcevic I, Tsolaki M, Brinc D, Brown M, Martinez-Morillo E, Lazarou I, et al. Neuronal pentraxin receptor-1 is a new cerebrospinal fluid biomarker of Alzheimer's disease progression [version 1; peer review: 4 approved]. *F1000Research.* 2018;7(0).
14. Mattsson N, Andreasson U, Persson S, Carrillo MC, Collins S, Chalbot S, et al. CSF biomarker variability in the Alzheimer's Association quality control program on behalf of the Alzheimer's Association QC Program Work Group. *Alzheimers Dement [Internet].* 2013;9(3):251–61. Available from: www.innogenetics.com;
15. Milà-Alomà M, Shekari M, Salvadó G, Gispert JD, Arenaza-Urquijo EM, Operto G, et al. Cognitively unimpaired individuals with a low burden of A β pathology have a distinct CSF biomarker profile. *Alzheimers Res Ther.* 2021 Jul;13(1):134.
16. Tondelli M, Bedin R, Chiari A, Molinari MA, Bonifacio G, Lelli N, et al. Role of cerebrospinal fluid biomarkers to predict conversion to dementia in patients with mild cognitive impairment: A clinical cohort study. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53(3):453–60.
17. Howell JC, Watts KD, Parker MW, Wu J, Kollhoff A, Wingo TS, et al. Race modifies the relationship between cognition and Alzheimer's disease cerebrospinal fluid biomarkers. *Alzheimers Res Ther.* 2017 Nov;9(1):88.
18. Rosenberg A, Solomon A, Soininen H, Visser PJ, Blennow K, Hartmann T, et al. Research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: findings from the LipiDiDiet randomized controlled trial. *Alzheimers Res Ther.* 2021 Mar;13(1):64.
19. Tardif CL, Devenyi GA, Amaral RSC, Pelleieux S, Poirier J, Rosa-Neto P, et al. Regionally specific changes in the hippocampal circuitry accompany

- progression of cerebrospinal fluid biomarkers in preclinical Alzheimer's disease. *Hum Brain Mapp.* 2018 Feb;39(2):971–84.
20. Vos SJB, Visser PJ, Verhey F, Aalten P, Knol D, Ramakers I, et al. Variability of CSF alzheimer's disease biomarkers: Implications for clinical practice: *PLoS One.* 2014 Jun 24;9(6):e100784. doi: 10.1371/journal.pone.0100784. PMID: 24959687; PMCID: PMC4069102.
21. Peles PRH, Salvador L de S, Souza LC de, Caramelli P. Accuracy of the brief cognitive screening battery for diagnosing Alzheimer's disease defined by cerebrospinal fluid biomarkers and AT(N) classification: a case-control study TT. *Arq neuropsiquiatr [Internet].* 2022;80(1):23–9. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-282X2022000100023
22. Teunissen CE, Verwey NA, Kester MI, Van Uffelen K, Blankenstein MA. Standardization of assay procedures for analysis of the CSF biomarkers amyloid β (1 - 42), Tau, and phosphorylated Tau in Alzheimer's disease: Report of an international workshop. *Int J Alzheimers Dis.* 2010;2010.
23. Mattsson N, Andreasson U, Persson S, Arai H, Batish SD, Bernardini S, Bocchio-Chiavetto L, Blankenstein MA, .The Alzheimer's Association external quality control program for cerebrospinal fluid biomarkers. *Alzheimers Dement.* 2011 Jul;7(4):386-395.e6. doi: 10.1016/j.jalz.2011.05.2243.
24. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ.* 2021;372.

7 PROPOSTA DE SUBMISSÃO

1.1 REVISTA: Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML)

1.2 REGRAS PARA SUBMISSÃO:

➤ INSTRUÇÕES PARA AUTORES

O Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML), continuação do Jornal Brasileiro de Patologia, publicado continuamente, é o órgão oficial da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica Laboratório de Medicina [Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML)]. Está indexado na Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde [Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS)], em Periódicos e em Chemical Abstracts, além de fazer parte da base de dados Scientific Electronic Library Online (SciELO).

Destina-se à publicação de artigos científicos que contribuam para o desenvolvimento da área de Medicina Laboratorial e aceita as seguintes categorias: artigos originais, artigos de revisão, relatos de casos, comunicações breves e cartas aos editores.

➤ ANÁLISE DOS ARTIGOS

O manuscrito recebido será encaminhado a pelo menos dois avaliadores independentes, pares científicos de renome e expertise na área abordada no artigo. Após sua análise, o editor-chefe do JBPML entrará em contato com o autor principal para informar os passos a serem seguidos para publicação ou sua rejeição final.

➤ DIREITOS AUTORAIS

Os autores devem enviar um termo de responsabilidade informando formalmente a autoria do texto e a transferência dos direitos autorais.

O sistema de gestão de publicações do JBPML possui um modelo deste documento e as instruções para preenchimento e envio.

➤ ÉTICA

Os estudos realizados com seres humanos, incluindo órgãos e/ou tecidos isolados e prontuários clínicos, devem estar de acordo com as normas 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. De acordo com a Declaração de Helsinki (1989), quando necessário, o artigo deve ser acompanhado do consentimento por escrito do paciente e de uma cópia do certificado de aprovação do comitê de ética da instituição onde a pesquisa foi realizada.

Nas investigações experimentais envolvendo animais, os princípios éticos de experimentos com animais preconizados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e as normas estabelecidas pelo Guia de Cuidados e Uso de Animais de Laboratório (Instituto de Recursos Animais de Laboratório, Comissão de Ciências da Vida, National Research Council, Washington, DC, 1996) deve ser respeitado.

As drogas e substâncias químicas utilizadas na pesquisa devem ser identificadas com precisão.

Nomes ou iniciais de pacientes, nomes comerciais, empresas e registros hospitalares não devem ser usados.

➤ RESPONSABILIDADE AUTORIA E CONFLITO DE INTERESSES

De acordo com as diretrizes desenvolvidas pelo Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (ICMJE), atualizadas em 2013, a autoria deve ser validada para:

- a) projeto de trabalho e concepção ou aquisição, análise e interpretação dos dados;
- b) redação inicial ou revisão crítica de seu conteúdo;
- c) aprovação final da versão a ser publicada;
- d) responsabilidade por todos os aspectos do trabalho, garantindo que as questões relacionadas à precisão ou integridade de qualquer parte do trabalho sejam adequadamente pesquisadas e analisadas.

Todos os autores listados no artigo devem atender aos quatro critérios de validação de autoria para serem designados como tal. Os participantes do trabalho que não atendem aos quatro critérios devem ser incluídos na seção de

Agradecimentos. O autor principal deve especificar a contribuição de cada um nas diferentes etapas do estudo.

Da mesma forma, o autor principal deve declarar ou negar a existência de potenciais ou reais conflitos de interesse. Se houver algum conflito, ele deve ser especificado como nota no final do artigo.

➤ TÍTULO ACADÊMICO

Os nomes dos autores devem ser referidos da seguinte forma: nome e sobrenome serão escritos por extenso e os nomes do meio serão abreviados. Após o nome de cada autor adicione seu respectivo ORCID. Apenas a Instituição onde cada autor trabalha deve ser incluída nos créditos. O nome da Instituição será escrito em português ou no idioma do país anfitrião da Instituição, relacionado por número ao nome dos autores correspondentes.

➤ RESUMOS E PALAVRAS-CHAVE

Independentemente do idioma em que o artigo foi escrito, deve haver dois resumos: um em português e outro em inglês. Os resumos devem identificar os objetivos, procedimentos e conclusões da pesquisa (máximo de 250 palavras para artigos originais, de revisão e atualização; e máximo de 100 palavras para relatos de casos e comunicações breves). Se o artigo estiver em espanhol, também deve haver um resumo em espanhol.

As palavras-chave, que representam o assunto abordado no artigo, devem estar entre três e seis, utilizando o vocabulário controlado Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) da BIREME, com outros termos quando necessário. Devem ser apresentados em português e inglês. Se o artigo for escrito em espanhol, as palavras-chave também devem estar nesse idioma.

➤ RECONHECIMENTOS

Devem ser breves, objetivos e direcionados à pessoa ou instituição que contribuiu consideravelmente para a elaboração da pesquisa. Devem ser incluídos após a conclusão e antes das referências bibliográficas.

➤ ESTRUTURA DO TEXTO

Artigos de revisão serão aceitos por meio de convite.

São avaliações críticas sistematizadas da literatura sobre determinado tema, que devem apresentar conclusões e ter até 5 mil palavras. A organização do artigo fica a critério do autor, além da Introdução, Discussão e Conclusão. É necessário um resumo estruturado do texto em seu idioma original e outro em inglês. Uma extensa lista de referências deve aparecer no final do texto.

➤ REFERÊNCIAS

As referências bibliográficas devem vir ao final do artigo, numeradas na ordem em que são mencionadas pela primeira vez no texto. Devem seguir os padrões do Estilo Vancouver. Links de busca:

1. <https://usp.br/sddarquivos/arquivos/vancouver.pdf> .
2. <http://www.abenmt.org.br/VancouverNormas-2017.pdf> .
3. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>).

Os títulos dos periódicos devem ser referidos de forma abreviada de acordo com o Index Medicus (Lista de Periódicos Indexados no Index Medicus). Caso as referências não sigam as normas adotadas, os artigos serão imediatamente rejeitados sem revisão de conteúdo.

Os autores devem certificar-se de que as referências citadas no texto estão incluídas na bibliografia com datas exatas e nomes dos autores escritos com precisão. A exatidão da bibliografia é de responsabilidade dos autores. Comunicações pessoais, textos originais ou em andamento podem ser citados quando absolutamente necessário, mas não podem ser incluídos nas referências, apenas mencionados no texto ou em nota de rodapé. As referências devem seguir os exemplos abaixo.

➤ TABELAS E IMAGENS

As tabelas devem ser numeradas consecutivamente em algarismos arábicos e encabeçadas com título. Os mesmos dados não devem ser repetidos em

gráficos. As tabelas devem seguir os padrões de apresentação tabular estabelecidos pelo Conselho Nacional de Estatística e publicados pela Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 1993).

As ilustrações (gráficos, fotos, desenhos etc.) devem ser numeradas consecutivamente em algarismos arábicos e citadas como figuras. Eles devem ser suficientemente claros para permitir a reprodução. Os gráficos devem ser preparados em um sistema de processamento gráfico. Devem ser indicados os locais aproximados onde as ilustrações serão intercaladas como figuras no texto. Aceitamos tabelas, imagens e gráficos nos seguintes formatos de arquivo eletrônico: jpg, gif, psd, tif e png.

➤ ABREVIATURAS E NOMES DE MEDICAMENTOS

As abreviaturas devem ser indicadas quando aparecem pela primeira vez no texto. Use o nome genérico dos medicamentos e indique a origem das substâncias não disponíveis para prescrição.

As unidades de medida bem como as abreviaturas devem ser expressas no sistema métrico decimal e, se o autor desejar, no Internacional entre parênteses.

Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML) [Internet]. Brasil: JBPML;2022[cited 2022 Aug 8]. Available from: <https://www.jbpml.org.br/pt/instructions-for-authors/>.