



BIOMARCADORES PARA DOENÇA DE ALZHEIMER

BERNARDO MATTIELLO CAZELLA

RESUMO

O diagnóstico da Doença de Alzheimer (DA) foi, por muito tempo, baseado apenas em critérios clínicos. Esses critérios nem sempre são satisfatórios, devido à sua inespecificidade (BLENNOW; ZETTERBERG, 2018). Com a melhor compreensão da doença e sua fisiopatologia, caracterizada acúmulo de placas amilóides e emaranhados de proteína Tau no cérebro, hoje é possível identificar biomarcadores laboratoriais úteis no diagnóstico e acompanhamento dos pacientes. Entre os biomarcadores mais utilizados, estão a dosagem de Proteína Tau, Proteína Tau fosforilada e proteína Beta-amilóide em amostras de líquido (LCR). Outros biomarcadores estão em desenvolvimento, como as proteínas pré-sinápticas (Sinaptotagmina, rab3a, SNAP-25 e proteína dendrítica Neurogranina), que também podem ser dosadas em LCR, e testes sanguíneos. O objetivo desse trabalho foi revisar a literatura sobre os biomarcadores laboratoriais para DA disponíveis e em estudo.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer; Biomarcadores; Peptídeos beta-Amiloides; Líquido Cefalorraquidiano.

1 INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é uma doença complexa, heterogênea e progressiva, sendo o tipo mais comum de demência neurodegenerativa. O desenvolvimento da doença passa por três estágios: o estágio pré-sintomático, o estágio prodromático de comprometimento cognitivo leve (CCL) e a forma clínica (DUBOIS et al., 2007). A DA é responsável por 50% a 70% dos casos de demência neurodegenerativa e estima-se que cerca de 44 milhões de pessoas em todo o mundo vivem com a doença. Esse número pode triplicar até 2050 devido ao envelhecimento da população (WINBLAD et al, 2016).

A patologia da DA é a neurodegeneração (incluindo atrofia e/ou perda de neurônios), que está associada a oligômeros beta-amilóide tóxicos e agregados de proteínas, emaranhados neurofibrilares intraneuronais consistindo em proteína Tau associada a microtúbulos hiperfosforilados, redução específica do metabolismo cerebral da glicose, disfunção sináptica e disfunção mitocondrial. Como o diagnóstico clínico é inespecífico, há uma necessidade cada vez maior de testes diagnósticos que possam detectar a DA em um estágio inicial com alta especificidade e custo relativamente baixo. Os métodos de diagnóstico atuais são baseados em imagens de tomografia por emissão de pósitrons (PET), que é um método relativamente caro, e análise das proteínas Beta-amilóide e Tau no LC, cujo procedimento de coleta é altamente invasivo (KLYUCHEREV et al., 2022; LEE et al., 2019).

Assim, esse trabalho teve como objetivo fazer uma revisão bibliográfica sobre os biomarcadores disponíveis para auxílio ao diagnóstico de Doença de Alzheimer (DA) em amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR) e aqueles que estão em estudo, sua aplicação diagnóstica e suas limitações.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Revisão bibliográfica a partir da coleta de dados recentes na base PubMed, utilizando diferentes combinações dos descritores “Alzheimer”, “Biomarkers”, “CSF” e “Cerebrospinal fluid”.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados 1.616 resultados referentes ao assunto e selecionados os 12 mais pertinentes para o trabalho.

O primeiro caso de DA foi descrito em 1906, chamado de “demência pré-senil”. Acreditava-se tratar-se de uma doença que afetava pessoas entre 50 e 60 anos de idade. Se iniciasse após essa faixa etária, considerava-se demência senil, ou seja, deterioração cognitiva considerada mais ou menos normal em decorrência da idade. Com o tempo, mostrou-se que elas tinham as mesmas características patológicas, e passaram a ser consideradas a mesma doença. A sintomatologia clínica da DA é inespecífica e os critérios diagnósticos puramente clínicos costumam ser insatisfatórios (BLENNOW; ZETTERBERG, 2018).

Desde os anos 70, observou-se que a principal característica neuropatológica da DA era o acúmulo de placas e emaranhados proteicos no cérebro. Em 1985, uma das substâncias componentes das placas foi sequenciado, uma proteína que é atualmente conhecida como Beta-amilóide. Em 1986 foi demonstrado que os emaranhados são compostos por um tipo de proteína Tau diferente da normalmente encontrada nos neurônios: nesses pacientes a proteína contém três vezes mais sítios fosforilados do que a proteína Tau normal. A proteína Tau faz parte da composição normal dos axônios, e sua função é se ligar e estabilizar os microtúbulos dos neurônios. Com a modificação na sua estrutura, a proteína Tau não consegue manter a conexão entre os neurônios.

Em 1992 demonstrou-se que a proteína Beta-amilóide é secretada para o líquido cefalorraquidiano (LCR). Essa descoberta preparou o terreno para o desenvolvimento de exames para sua quantificação nesse material. O primeiro teste foi publicado em 1995, demonstrando uma redução acentuada da proteína no LCR de pacientes com DA. Em 2006 um trabalho explicou esse mecanismo, demonstrando que em pacientes com DA essa proteína se agrega e fica sequestrado em placas no cérebro, restando menores quantidades para serem secretadas no espaço extracelular e no LCR, resultando em níveis mais baixos no LCR (MANKHONG et al., 2022).

A descoberta de que a proteína Tau fosforilada é o componente-chave dos emaranhados proteicos da DA fez com que logo sua pesquisa em LCR fosse cotada como um possível biomarcador. Em 1995 foi publicado o primeiro teste de Tau-total, proposto como um 'marcador de estado', refletindo a intensidade da neurodegeneração ou a gravidade do dano neuronal. De fato, valores de proteína Tau maiores no LCR predizem uma progressão clínica mais rápida da doença. A dosagem de Tau fosforilado, por sua vez, é um marcador do estado de fosforilação da proteína. Ambos estão aumentados nos estágios iniciais da doença, antes que os agregados de Tau possam ser identificados em exames de imagem (LEUZY et

al., 2021).

Em 2006, um estudo mostrou uma sensibilidade diagnóstica muito alta (95%) para a combinação de A β 42 (uma das formas da proteína Beta-amilóide) baixa e T-tau/P-tau altas no LCR para prever DA no estágio prodromático da doença, acompanhado de uma alta especificidade para diferenciar DA de outras demências. Ainda, mostrou-se que a comparação entre as dosagens das duas formas da proteína Beta-amilóide (A β 42 e A β 40) com a dosagem da proteína Tau prediz declínio cognitivo futuro e demência em idosos assintomáticos com até 8 anos de antecedência (KLYUCHEREV et al., 2022).

Em 2007 os biomarcadores em LCR entraram oficialmente nos critérios de diagnóstico da DA. Em 2018 foram publicadas as diretrizes diagnósticas para DA, pela National Institute on Aging and Alzheimer's Association (NIA-AA), colocando os biomarcadores de LCR em papel central (JACK et al., 2018).

As dosagens das proteínas Beta-amilóide e das proteínas Tau-total e Tau-fosforilada estão consolidadas como biomarcadores importantes e promissores para DA. Todavia, tem sido observada muita variação entre valores encontrados em diferentes laboratórios e entre os estudos. Essas variações, que podem ser analíticas ou pré-analíticas (tubo de coleta, agulha, transporte, entre outros). Para melhorar o desempenho clínico dos testes, a Alzheimer's Association lançou (em 2009) um programa de Controle de Qualidade Externo, com o objetivo de estabelecer uma plataforma para monitorar as medições dos biomarcadores entre laboratórios e entre lotes de reagentes. O IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*), por sua vez, comercializa um material de referência certificado, para Controle de Qualidade Interno dos laboratórios, o que permite uma validação dos kits de análise no momento da rotina analítica, em tempo real. Outro dado importante é que esses biomarcadores estão em cada vez mais disponíveis em plataformas analíticas automatizadas, o que tende a tornar os ensaios menos suscetíveis a interferentes e os resultados mais comparáveis e interpretáveis pelo clínico (KUHLMANN et al., 2017; MATTSSON et al., 2011).

Além dos biomarcadores mencionados, já bem consolidados, existem outros em fase de desenvolvimento. Sabe-se, atualmente, que disfunções e degeneração sináptica (na região responsável por realizar a comunicação entre um neurônio e outro) são um componente importante na patologia na DA. A literatura mostra que há uma degeneração acentuada e perda de sinapses em regiões de substância cinzenta na DA, já nos estágios iniciais da doença. Mostrou-se que gravidade dessa perda está mais fortemente correlacionada com o grau de comprometimento cognitivo do que a contagem de placas ou emaranhados. Acredita-se que biomarcadores sinápticos possam ser utilizados na avaliação da resposta ao tratamento da doença. Um estudo de 2010 mostrou que as proteínas da vesícula pré-sináptica (Sinaptotagmina, rab3a, SNAP-25 e proteína dendrítica Neurogranina) podem ser dosadas no LCR, através de técnicas de laboratório e os resultados têm sido promissores e corroborados por outros estudos. Sobre a Neurogranina, especificamente, em 2016 um grupo de cientistas sugeriu que essa proteína alta no LCR pode ser um marcador específico da DA, não encontrada em outros distúrbios neurodegenerativos (GIAMPIETRI et al., 2022).

Biomarcadores em outras matrizes, como sangue e fluidos, estão em fase de desenvolvimento, como é o caso da dosagem das proteínas Tau e A β no plasma. Os biomarcadores de sangue têm a vantagem de serem menos invasivos e não dependerem de um profissional capacitado para coleta de LCR. Também podem ser utilizados como uma triagem inicial em um processo de diagnóstico. Estudos indicam que o A β plasmático pode ser uma alternativa econômica aos marcadores convencionais baseados no LCR para identificação da

DA, todavia o teste têm apresentado inconsistências analíticas devido ao mascaramento do epítipo A β por sua ligação às proteínas plasmáticas e devido às suas concentrações plasmáticas serem muito baixas, em comparação com LCR. A dosagem da proteína Tau em amostras de sangue é promissora, pois tem maior especificidade para DA do que sua dosagem em LCR. Todavia, assim como a A β plasmática, um desafio para o desenvolvimento de testes de Tau em sangue é sua concentração relativamente baixa nessa matriz (NAKAMURA et al., 2018; KLYUCHEREV et al., 2022).

Mais recentemente, a literatura descreve os MicroRNAs (miRNA) como biomarcadores da DA. Os miRNAs são moléculas de RNA de fita simples de 20 a 25 nucleotídeos que podem regular a expressão gênica bloqueando a síntese de proteínas ou levando à degradação de mRNAs alvo. Seus níveis são alterados na patologia e no curso da DA, afetando processos críticos para o desenvolvimento e progressão da doença, como a fosforilação de Tau e produção de A β . Métodos para sua pesquisa e quantificação em amostras de LCR e sangue estão sendo desenvolvidos, sobretudo pela aplicação da técnica reação e RT-qPCR. Os miRNAs facilitam a compreensão da patologia da DA e, por isso, sua utilização diagnóstica é promissora (KLYUCHEREV et al., 2022).

4 CONCLUSÃO

Atualmente, as Análises Clínicas contribuem com cerca de 70% das decisões médicas. A dosagem de biomarcadores de DA em LCR (proteína Beta-amilóide, proteína Tau, proteína Tau fosforilada e marcadores sinápticos) representa um grande avanço para o diagnóstico da doença, inclusive nos estágios iniciais da doença. A automação e o desenvolvimento de programas de controle de qualidade desses exames garantiu sua segurança e reprodutibilidade. Novos biomarcadores sanguíneos (proteicos, sinápticos e miRNAs), ainda em desenvolvimento, apresentam potencial de serem mais específicos para avaliação dos estágios da patologia. O desenvolvimento de novos biomarcadores, o melhoramento dos testes disponíveis e o acesso aos exames são passos fundamentais para melhorar o diagnóstico precoce e correto e o manejo adequado dos pacientes com a doença.

REFERÊNCIAS

DUBOIS, B. et al. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol.* 2007 Aug;6(8):734-46. doi: 10.1016/S1474-4422(07)70178-3. PMID: 17616482.

WINBLAD, B. et al. Defeating Alzheimer's disease and other dementias: a priority for European science and society. *Lancet Neurol.* 2016 Apr;15(5):455-532. doi: 10.1016/S1474-4422(16)00062-4. PMID: 26987701.

LEE, J. C.; KIM, S. J.; HONG, S.; KIM, Y. Diagnosis of Alzheimer's disease utilizing amyloid and tau as fluid biomarkers. *Exp Mol Med.* 2019 May 9;51(5):1-10. doi: 10.1038/s12276-019-0250-2. PMID: 31073121; PMCID: PMC6509326.

BLENNOW, K.; ZETTERBERG, H. Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future. *Journal of Internal Medicine*, v. 284, n. 6, p. 643–663, 2018.

GIAMPIETRI, L. et al. Fluid Biomarkers in Alzheimer's Disease and Other Neurodegenerative Disorders: Toward Integrative Diagnostic Frameworks and Tailored Treatments. *Diagnostics*, v. 12, n. 4, p. 796, 24 mar. 2022.

JACK, C. R. et al. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*, v. 14, n. 4, p. 535–562, abr. 2018.

KLYUCHEREV, T. O. et al. Advances in the development of new biomarkers for Alzheimer's disease. *Translational Neurodegeneration*, v. 11, p. 25, 21 abr. 2022.

KUHLMANN, J. et al. CSF A β 1-42 - an excellent but complicated Alzheimer's biomarker - a route to standardisation. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, v. 467, p. 27–33, abr. 2017.

LEUZY, A. et al. Current advances in plasma and cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's disease. *Current Opinion in Neurology*, v. 34, n. 2, p. 266–274, 1 abr. 2021.

MANKHONG, S. et al. Development of Alzheimer's Disease Biomarkers: From CSF- to Blood-Based Biomarkers. *Biomedicines*, v. 10, n. 4, p. 850, 5 abr. 2022.

MATTSSON, N. et al. The Alzheimer's Association external quality control program for cerebrospinal fluid biomarkers. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*, v. 7, n. 4, p. 386- 395.e6, jul. 2011.

NAKAMURA, A. et al.. High performance plasma amyloid- β biomarkers for Alzheimer's disease. *Nature*. 2018 Feb 8;554(7691):249-254. doi: 10.1038/nature25456. Epub 2018 Jan 31. PMID: 29420472.