



UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA – UNEB
PROGRAMA PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS – PPGFARMA

LEIDSON RODRIGO TEIXEIRA RIBEIRO

DOENÇA DE ALZHEIMER: BIOMARCADORES E O PAPEL DO
PERFIL INFLAMATÓRIO NO LIQUIDO CEFALORRAQUIDIANO.

Salvador

2021

LEIDSON RODRIGO TEIXEIRA RIBEIRO

**DOENÇA DE ALZHEIMER: BIOMARCADORES E O PAPEL DO
PERFIL INFLAMATÓRIO NO LIQUIDO CEFALORRAQUIDIANO.**

Dissertação apresentada ao Programa Pós-Graduação *Stricto Sensu* Em Ciências Farmacêuticas (PPGFARMA), da Universidade do Estado da Bahia (UNEB) como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Antônio Veloso Cerqueira

Co-Orientador: Prof. Dr. Anibal de Freitas Santos Júnior

Linha de Pesquisa: Linha 02 – Avaliação de Fármacos, Biomarcadores, Produtos Naturais e Sintéticos

Salvador

2021

FICHA CATALOGRÁFICA
Sistema de Bibliotecas da UNEB
Dados fornecidos pelo autor

R484d

Ribeiro, Leidson Rodrigo Teixeira

Doença de Alzheimer: biomarcadores e o papel do perfil inflamatório no líquido cefalorraquidiano / Leidson Rodrigo Teixeira Ribeiro.-- Salvador, 2021.

81 fls.

Orientador(a): Bruno Antônio Veloso Cerqueira.

Coorientador(a): Anibal de Freitas Santos Júnior.

Inclui Referências

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade do Estado da Bahia. Departamento de Ciências da Vida. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGFARMA, Campus I. 2021.

1.Doença de Alzheimer. 2.P-tau. 3.T-tau. 4.Neuroinflamação. 5.Lactato.

CDD: 615

FOLHA DE APROVAÇÃO
"DOENÇA DE ALZHEIMER: BIOMARCADORES E O PAPEL DO PERFIL
INFLAMATÓRIO NO LIQUIDO CEFALORRAQUIDIANO"

LEIDSON RODRIGO TEIXEIRA RIBEIRO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Ciências Farmacêuticas – PPGFARMA, em 15 de janeiro de 2021, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade do Estado da Bahia, conforme avaliação da Banca Examinadora:



Professor(a) Dr.(a) BRUNO ANTONIO VELOSO CERQUEIRA
Universidade do Estado da Bahia - UNEB
Doutorado em Patologia Humana
Centro de Pesquisas Gonçalo Moriz – FIOCRUZ/ BA



Professor(a) Dr.(a) ANIBAL DE FREITAS SANTOS JUNIOR
Universidade do Estado da Bahia - UNEB
Doutorado em Química
Universidade Federal da Bahia



Professor(a) Dr.(a) FERNANDO DE MELLO ALMADA GIUFFRIDA
Universidade do Estado da Bahia - UNEB
Doutorado em Medicina (Endocrinologia Clínica)
Universidade Federal de São Paulo



Professor(a) Dr.(a) PAULO ROBERTO SANTANA DE MELO
Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC
Doutorado em Patologia Humana
Universidade Federal da Bahia

À mulher da minha vida Marianna Santana pelo apoio incondicional em todos os momentos. Aos meus pais Joazir Messias Ribeiro e Gilvani Pereira Teixeira Ribeiro, que me apresentaram à importância da família e ao caminho da honestidade e da persistência.

AGRADECIMENTOS

A elaboração deste trabalho não teria sido possível sem a colaboração, estímulo e empenho de diversas pessoas. Gostaria de expressar toda a minha gratidão e apreço a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para que esta tarefa se tornasse uma realidade.

Em primeiro lugar a Deus pela dádiva da vida e por me permitir realizar tantos sonhos. Obrigado por me permitir errar, aprender e crescer. Por sua eterna compreensão e tolerância e por seu infinito amor. Agradeço pela condução da minha vida até aqui.

Ao Professor Dr Bruno Antônio Veloso Cerqueira, pela orientação, competência, profissionalismo e dedicação tão importantes. Por me estimular nos momentos de tristeza e descrença. Por acreditar neste projeto e seguir ao meu lado na sua elaboração. Tenho certeza que não chegaria neste ponto sem o seu apoio. Como professor foi o expoente máximo, abriu-me horizontes, ensinou-me principalmente a pensar.

Ao Professor Dr. Anibal de Freitas Santos Júnior por toda dedicação ao PPGFARMA. A sua disponibilidade irrestrita, a sua forma exigente, crítica e criativa de arguir seus discentes sempre buscando o melhor para este programa de pós-graduação.

A equipe do Laboratório Jaime Cerqueira e Laboratório de liquorologia da Bahia por abrir suas portas a este projeto tornando-o possível.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Fernando de Mello Almada Giuffrida, Prof. Dr. Paulo Roberto Santana de Melo, que tão gentilmente aceitaram participar e colaborar com esta dissertação e buscaram novas perspectivas para aprimorar este estudo. Sou grato por todos os comentários e correções pertinentes realizadas nesta dissertação.

Ao amigo Glesley Victor, pelos trabalhos, disciplinas e projeto realizados em conjunto e, principalmente, pela preocupação e apoio constantes. Seus conhecimentos e dedicação foram fundamentais para que esta pesquisa fosse realizada. A todos os demais amigos e amigas do PPGFARMA, obrigado pelo convívio, amizade e apoio demonstrado.

À minha mãe (Gilvani Pereira Teixeira Ribeiro) e ao meu pai (Joazir Messias Ribeiro) deixo um agradecimento especial, por todas as lições de amor, companheirismo, amizade, caridade, dedicação, abnegação, compreensão e perdão que vocês me dão a cada novo dia. Sinto-me orgulhoso e privilegiado por ter pais tão especiais.

À minha amada esposa Marianna Santana Santos, por todo amor, carinho, compreensão e apoio em tantos momentos difíceis desta caminhada. Obrigado por permanecer ao meu lado, mesmo sem os carinhos rotineiros, sem a atenção devida e depois de tantos momentos de lazer perdidos. Obrigado pelo presente de cada dia, pelo seu sorriso e por saber me fazer feliz. Por fim, a todos aqueles que contribuíram,

direta ou indiretamente, para a realização desta dissertação, o meu sincero agradecimento.

"Medicina é uma ciência de incerteza e uma arte de probabilidade".

William Osler

RESUMO

RIBEIRO, L. R. T. Doença de Alzheimer: Biomarcadores e o papel do perfil inflamatório no líquido cefalorraquidiano (LCR). Dissertação do Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Salvador: Departamento de Ciências da Vida, Universidade do Estado da Bahia, 2020.

Introdução: A doença de Alzheimer (DA) é uma doença crônica, progressiva e irreversível que afeta a estrutura e a função do cérebro humano. Acredita-se que o acúmulo de peptídeos beta amilóides e a formação de emaranhados neurofibrilares sejam os caminhos para a lesão neuronal na DA. **Objetivos:** Investigar a correlação entre biomarcadores de neurodegeneração e o perfil inflamatório no líquido cefalorraquidiano de pacientes com DA e Transtorno cognitivo leve (TCL). **Materiais e métodos:** Este trabalho está dividido em 02 etapas. Na primeira etapa foi realizado um estudo observacional, transversal, analítico envolvendo 51 pacientes com diagnóstico de TCL ou DA. Os dados dos prontuários médicos, incluindo marcadores bioquímicos, resultados do painel inflamatório e características clínicas relacionadas aos biomarcadores do LCR (p-tau, t-tau e A β 1-42), foram revisados, plotados e analisados. Na segunda etapa, foi realizada uma série de casos por amostragem de conveniência de 06 pacientes do laboratório de liquorologia da Bahia que foram submetidos a análise dos biomarcadores e a todo o painel inflamatório do LCR. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da UNEB sob o CAAE 22913919.4.0000.0057. **Resultados e Discussão:** Nossa população foi composta por 27 homens (52,9%) e 24 mulheres (47,1%), com média de idade de 73 anos (\pm 10,14). Foi encontrada uma correlação positiva não linear entre a lactato desidrogenase (LDH) e os níveis de p-tau (r: 0,548; p <0,001) e t-tau (r: 0,757; p <0,001). Uma correlação negativa entre os níveis de lactato e p-tau no LCR (r: 0,399; p <0,005) e uma correlação positiva entre aspartato aminotransferase (AST) e os níveis de p-tau no LCR (r: 0,489; p <0,001). A correlação positiva entre os níveis de LDH e proteína tau aponta para um papel potencial do estresse oxidativo na DA. Além disso, a correlação negativa entre os níveis de lactato e p-tau no LCR pode sugerir um efeito prejudicial da proteína tau no metabolismo celular. **Considerações finais:** Biomarcadores oxidativos, hemolíticos e inflamatórios podem ser considerados moléculas promissoras na investigação auxiliar da DA. Simplicidade técnica, baixo custo e sua associação potencial com os níveis de p-tau e t-tau devem encorajar a busca de uma melhor compreensão do papel da LDH e do lactato na fisiopatologia, acompanhamento médico e como potenciais alvos terapêuticos da DA.

Palavras-chave: (Doença de Alzheimer; p-Tau; T-tau; neuroinflamação; lactato; LDH).

ABSTRACT

RIBEIRO, L. R. T. Alzheimer's disease: Biomarkers and the role of the inflammatory profile in cerebrospinal fluid (CSF). Master's Dissertation in Pharmaceutical Sciences. Salvador: Department of Life Sciences, Bahia State University, 2020.

Introduction: Alzheimer's disease is a chronic, progressive, and irreversible disorder that affects the structure and function of the human brain. The accumulation of amyloid beta peptides and the formation of neurofibrillary tangles are thought to be the pathways to neuronal injury. **Objective:** To investigate the correlation between biomarkers of neurodegeneration and the inflammatory profile in the cerebrospinal fluid (CSF) of patients with AD and mild cognitive impairment (MCI). **Methods:** An analytical, cross-sectional observational study involving 51 patients diagnosed with MCI or AD was carried out. Data from medical records, including biochemical markers, inflammatory panel results, and clinical characteristics related to CSF biomarkers (p-tau, t-tau, and A β 1-42), were reviewed, plotted, and analyzed. In the second phase, a series of cases was carried out by sampling for convenience of 06 patients from the licorology laboratory in Bahia, which identified the analysis of biomarkers and the entire inflammatory panel of the CSF. This study was reviewed and approved by the Bahia State University (UNEB) Research Ethics Committee under the protocol no. 22913919.4.0000.0057. **Results and Discussion:** Our population consisted of 27 men (52.9%) and 24 women (47.1%), with a mean age of 73 years (\pm 10.14). A positive, nonlinear correlation between lactate dehydrogenase (LDH) and both p-tau (r : 0.548; p < 0.001) and t-tau (r : 0.757; p < 0.001) CSF levels was found. A negative correlation between lactate and p-tau CSF levels (r : 0.399; p < 0.005) and a positive correlation between aspartate aminotransferase (AST) and p-tau CSF levels (r : 0.489; p < 0.001) were also observed. The positive correlation between LDH and tau protein levels points to a potential role for oxidative stress in AD. In addition, the negative correlation between lactate and p-tau CSF levels may suggest a detrimental effect of tau protein on cell metabolism. **Conclusions:** Oxidative, hemolytic, and inflammatory biomarkers may be considered promising molecules in the ancillary investigation of AD. Technical simplicity, low cost, and their potential association with p-tau and t-tau levels should encourage the pursuit of a better understanding of the role of LDH and lactate in AD pathophysiology, medical follow-up, and as potential therapeutic targets.

Keywords: (Alzheimer's disease; p-tau; t-tau; neuroinflammation; lactate LDH).

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

APOE	Apolipoproteína E
APP	Proteína precursora amiloide
Aβ42	Beta-amilóide 1-42
AVC	Acidente Vascular Cerebral
DA	Doença de Alzheimer
DAIP	Doença de Alzheimer de início precoce
DAIT	Doença de Alzheimer de início tardio
DCV	Departamento de ciências da vida
EUA	Estados Unidos da América
ϵ3	Epsilon 3
ϵ4	Epsilon 4
FHP	Filamentos helicoidais pareados
GWAS	genome-wide association study (Estudo de associação genômica ampla)
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
NFTs	Emaranhados neurofibrilares
NIA-AA	Instituto Nacional do Envelhecimento e a Associação de Alzheimer
PET	Tomografia por emissão de pósitrons.
PSEN1	Presenilina 1
PSEN2	Presenilina 2
p-Tau	Proteína tau fosforilada

RNM	Ressonância Nuclear Magnética
RR	Risco relativo
TCL	Transtorno cognitivo leve
t-Tau	Proteína tau total
UESC	Universidade Estadual de Santa Cruz
UNEB	Universidade Estadual da Bahia

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

- Figura 1** - Sobreposição clínico-patológica das proteinopatias neurodegenerativas
.253
- Figura 2** - Número estimado de pessoas com DA nos EUA em 2010 e projeções até 2050..... 25
- Figura 3** - (A) prevalência global de demência (%) (B) taxas de incidência de demência (por 1000 indivíduos da população)..... 27
- Figura 4** - Visão geral esquemática de genes ligados à doença de alzheimer..... 30
- Figura 5** - Alterações anatômicas e exame de imagem característicos da doença de Alzheimer 33
- Figura 6** - Visão geral da hipótese patogênica de acúmulo de A β 41
- Figura 7** - Correlação positiva entre os níveis em LCR da Proteína tau total, LDH e AST no grupo de pacientes com transtorno cognitivo leve e DA 46
- Figura 8** - Correlação positiva entre os níveis séricos da Proteína Tau fosforilada, AST, LDH e Ureia. Correlação negativa entre os níveis séricos da proteína Tau fosforilada e Lactato no grupo de pacientes com transtorno cognitivo leve e DA 47

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Quadro 1 - Alterações nos níveis de biomarcadores no LCR em diferentes doenças do sistema nervoso central	42
Tabela 1 - Características sociodemográficas, bioquímicas e perfil celular do grupo de pacientes com transtorno cognitivo leve e DA.....	45
Tabela 2 - Beta amiloide, proteína Tau e proteína Tau fosforilada em LCR no grupo de pacientes com transtorno cognitivo leve e DA.....	46

SUMÁRIO

RESUMO.....	IX
ABSTRACT	X
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	XI
LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS	XIII
LISTA DE TABELAS E QUADROS.....	XIV
1. INTRODUÇÃO	17
2.JUSTIFICATIVA.....	19
3. OBJETIVOS.....	21
3.1 OBJETIVO GERAL	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
4. A DOENÇA DE ALZHEIMER	22
4.1 DEFINIÇÃO.....	22
4.1.1 Demência.....	22
4.1.1 Doença de Alzheimer.....	23
4.2. EPIDEMIOLOGIA.....	24
4.3. FATORES DE RISCO E GENÉTICA	28
4.4. FISIOPATOLOGIA	31
4.5. QUADRO CLÍNICO	35
4.6. DIAGNÓSTICO	36
4.7. BIOMARCADORES	39
5. MATERIAIS E MÉTODOS	43
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
6.1 RESULTADOS.....	45
6.1.1 Estudo do LCR: Perfil clínico e laboratorial.....	45

6.1.2 Estudo do LCR: Biomarcadores clássicos	45
6.1.3 Biomarcadores clássicos vs. marcadores bioquímicos em LCR	46
6.2. DISCUSSÃO	47
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	50
REFERÊNCIAS.....	51
APÊNDICES	57
Apêndice A – Termo de consentimento livre esclarecido	57
ANEXOS	63
ANEXO A – Mini-exame do estado mental.....	63
ANEXO B – Clinical Dementia Rating.....	65
ANEXO C – Escala de depressão geriátrica.....	67
ANEXO D – Comprovante de submissão do artigo	68
ANEXO E – Artigo científico	69

1. INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é uma afecção neurodegenerativa progressiva e irreversível que afeta a estrutura e a função do cérebro humano, comprometendo a memória episódica, orientação e tomada de decisão (PORTELIUS *et al.*, 2017). Aproximadamente 47 milhões de pessoas sofrem com demência no mundo, sendo de 10 milhões a incidência de casos novos (KOYCHEV *et al.*, 2017; PORTELIUS *et al.*, 2017; WAALWIJK VAN DOORN, VAN *et al.*, 2017).

Alois Alzheimer descreveu a DA em 1906, estando hoje categorizada como a forma mais prevalente de demência, correspondendo a 50-60% de todos os casos. A partir dessa descoberta, cientistas fizeram notáveis progressos na compreensão da DA, embora apenas na década de 1980 duas moléculas primordiais na fisiopatologia da doença, as proteínas beta amilóide ($A\beta$) e tau, foram identificadas (AISEN *et al.*, 2017; PORTELIUS *et al.*, 2017). Sua fisiopatologia se desenvolve através do acúmulo extracelular de peptídeos beta amilóides em placas e emaranhados neurofibrilares intracelulares contendo proteína tau hiperfosforilada (KOYCHEV *et al.*, 2017).

A definição clínica de DA foi historicamente considerada provável pela exclusão de outras etiologias possíveis em um paciente com síndrome demencial e não através de provas da patologia da DA. O diagnóstico se baseia em critérios clínicos como história médica, testes neuropsicológicos, neurológicos e exame físico. No entanto, esses critérios possuem baixa acurácia diagnóstica (sensibilidade: 71-88%; especificidade: 44-71%) (WAALWIJK VAN DOORN, VAN *et al.*, 2017). Com os avanços da pesquisa básica e o reconhecimento de que, como em muitas doenças, as alterações fisiopatológicas iniciam-se anos antes dos sintomas clínicos, ferramentas para o diagnóstico da DA são promissoras no atual contexto (AISEN *et al.*, 2017). Como exemplo dessas, a tomografia por emissão de pósitrons amilóides (PET amilóide), PET com fluordesoxiglicose (FDG PET), ressonância magnética cerebral estrutural e análise de proteínas do líquido cefalorraquidiano (LCR). Essa última, ao apresentar redução das concentrações do peptídeo beta-amilóide 1-42 ($A\beta$ 1-42), elevação dos níveis das proteínas Tau total (t-Tau) e Tau fosforilada (p-Tau) é considerada a assinatura patológica de prognóstico e de diagnóstico da DA (ALEXOPOULOS *et al.*, 2016; WAALWIJK VAN DOORN, VAN *et al.*, 2017). Em

indivíduos cognitivamente hígidos, níveis anormais de A β 1-42 podem ser detectados 10 a 20 anos antes dos sintomas clínicos da DA (WAALWIJK VAN DOORN, VAN *et al.*, 2017).

O atual modelo fisiopatológico para o desenvolvimento da DA obedece uma ordem temporal de alterações cerebrais. A deposição de proteína amilóide ocorre precocemente, mas não causa diretamente os sintomas. Em seguida, há lesões neuronal e sináptica (neurodegeneração) que são acompanhadas de atrofia cerebral. A fase prodrômica da DA se caracteriza clinicamente por transtorno cognitivo leve (TCL) que é acompanhado de mudanças na bioquímica do cérebro, as quais são espelhadas no LCR em biomarcadores preditores da progressão de TCL para DA (FRÖLICH *et al.*, 2017).

Recentemente, os biomarcadores no LCR passaram a fazer parte dos critérios diagnósticos da DA com acurácia superior a 85%. No entanto, esses biomarcadores são influenciados por fatores confundidores como a pré-análise, o volume coletado e a própria senescência (WAALWIJK VAN DOORN, VAN *et al.*, 2017).

Apesar das dificuldades supracitadas, os avanços no conhecimento sobre biomarcadores provocaram mudanças no entendimento da DA, seja no espectro clínico-fisiopatológico, ou até mesmo na distinção dos diversos estratos dos distúrbios demenciais. A partir desse novo escopo, surge espaço para diagnóstico precoce, acompanhamento direcionado e novas rotas terapêuticas (AISEN *et al.*, 2017).

2.JUSTIFICATIVA

Estima-se que 47 milhões de pessoas no mundo apresentam os sinais de demência com aumento progressivo associado a senescência. A DA é um grave distúrbio neurodegenerativo do cérebro caracterizado por perda de memória e declínio cognitivo. A maioria dos casos de DA é esporádico - idade de risco > 60 anos - e menos de 2,5% têm herança monogênica. Estima-se que, em 2050, aproximadamente 80 milhões de pessoas sofrerão de DA no mundo. O diagnóstico definitivo desta doença requer avaliação clínica e verificação *post mortem* da patologia da DA (placas amilóides e emaranhados neurofibrilares). Portanto, é um desafio identificar e estabelecer um sistema confiável de biomarcadores substitutos com objetivo de diagnosticar e prever a progressão da doença. (BLOUDEK *et al.*, 2014; HEBERT *et al.*, 2013).

Um provável diagnóstico de DA pode ser estabelecido com base em critérios clínicos, incluindo histórico médico, exame físico, exames laboratoriais, neuroimagem e avaliação neuropsicológica. Apesar disso, o diagnóstico precoce e preciso da DA ainda é difícil, pois os sintomas iniciais da doença estão presentes em uma variedade de distúrbios. Nesse contexto, um biomarcador ideal para DA deve distingui-la de outros tipos de demência, como demência vascular, demência frontotemporal (DFT) ou demência por corpos de Lewy (DCL), apresentando para isso uma boa sensibilidade e especificidade, possibilidade de reprodução interlaboratorial, mensurabilidade em testes não invasivos, fáceis, de rápida execução e baixo custo, com amostras estáveis que possibilitem um transporte fácil e barato, além de serem capazes de direcionar terapêutica específica. (FERREIRA, *et al.*, 2014; HUMPEL, 2011).

Fazer a distinção entre DA e outras demências é um passo essencial para orientar a terapia e aconselhar paciente e cuidador. As diretrizes clínicas são sensíveis no diagnóstico da DA, mas geralmente têm especificidade de apenas 50 a 60%. Um significativo número de falsos positivos pode levar ao tratamento clínico desnecessário quando embasado apenas nos critérios clínicos. Nessa perspectiva, o Instituto Nacional do Envelhecimento e a Associação de Alzheimer reconheceu, em 2010, o crescente papel dos biomarcadores para auxiliar no diagnóstico da DA. Esses

biomarcadores fazem parte do novo padrão de atendimento a DA. Tecnologias como Ressonância magnética (RM), tomografia computadorizada de emissão de fóton único (SPECT), tomografia computadorizada (TC) e marcadores no líquido cefalorraquidiano (LCR) já estão incorporadas a prática clínica, mas muitos outros biomarcadores tem se mostrado promissores. (BLOUDEK *et al.*, 2014; FERREIRA, *et al.*, 2014; HUMPEL, 2011).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o papel dos biomarcadores e do perfil inflamatório no LCR de pacientes com transtorno cognitivo leve e DA.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estudar a correlação entre os biomarcadores, perfil bioquímico e inflamatório no LCR em pacientes com transtorno cognitivo leve e DA;

Determinar a correlação do perfil clínico dos pacientes com comprometimento cognitivo leve, doença de Alzheimer e outras demências com os biomarcadores e perfil inflamatório no LCR.

4. A DOENÇA DE ALZHEIMER

4.1 DEFINIÇÃO

4.1.1 Demência

As demências correspondem a uma ampla categoria de doenças cerebrais que levam a uma redução gradual das funções cognitivas. O diagnóstico de demência se embasa na história clínica, percepção de deficits cognitivos, investigações complementar incluindo geralmente exames de sangue e de imagem para afastar outras possíveis causas ou fornecer evidências a favor de um dado diagnóstico. Desta forma a demência é diagnosticada quando o paciente apresenta sintomas cognitivos ou comportamentais que são capazes de interferir nas atividades laborais e da vida diária, representando um declínio em relação a funcionalidade prévia e estas alterações são identificadas por um clínico habilidoso sendo corroboradas por uma avaliação cognitiva formal. Além disso, deve ser descartado a possibilidade de delirium ou transtorno psiquiátrico (ZETTERBERG, ROHRER E SCHOTT, 2018; MCKHANN *et al.*, 2011).

Apesar de a DA ser o tipo mais comum de demência, outros tipos como demência vascular, demência com corpos de Lewy e demência frontotemporal também são prevalentes na população. Entre as causas menos comuns incluem-se a doença de Parkinson e síndromes parkinson plus, causas infecciosas e metabólicas como demência associada ao vírus da imunodeficiência humana e doença de Creutzfeldt – Jakob. Uma característica marcante da maioria das demências degenerativas é a presença de depósitos proteicos patológicos no tecido cerebral, tais como, α -sinucleína, ubiquitina, tau e amiloide conforme figura 1. No entanto, há também um relação das demências com multimorbidades sugerindo que esses depósitos proteicos podem interagir e ser influenciados por outros fatores de risco (KAERST *et al.*, 2013; MCFARLAND, 2016; ZETTERBERG, ROHRER E SCHOTT, 2018).

FIGURA 1 - SOBREPOSIÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA DAS PROTEINOPATIAS NEURODEGENERATIVAS



Fonte: Adaptado de MCFARLAND (2016).

Legenda: ELA = esclerose lateral amiotrófica; DFT= demência frontotemporal; DLFT-U = degeneração lobar frontotemporal com ubiquitina; TDP-43 = Proteína de ligação a DNA-43.

4.1.1 Doença de Alzheimer

A DA é uma doença complexa que pode ser definida como uma proteinopatia dupla que se caracteriza por acúmulo e extracelular de peptídeos β -amiloides e agregados

intracelulares da proteína tau que formam emaranhados neurofibrilares e microtúbulos fosforilados. Associado a perda de sinapses e neurodegeneração desencadeando comprometimento de memória e outros déficits cognitivos. Para sua identificação é necessário que o paciente preencha critérios para demência associada a evolução insidiosa e ausência de outros quadros demenciais. (BEJANIN *et al.*, 2017; MCKHANN *et al.*, 2011; WEINER *et al.*, 2015)

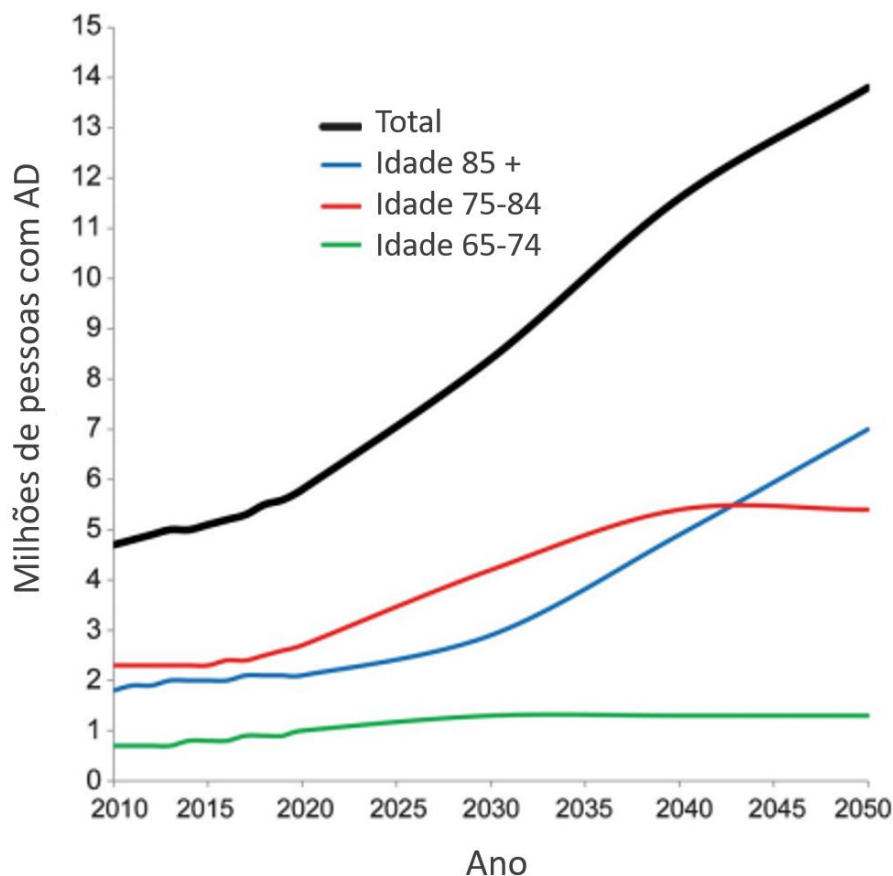
4.2. EPIDEMIOLOGIA

A DA é uma doença degenerativa cerebral e, atualmente, é a causa mais comum de demência no mundo. As demências são caracterizadas por declínio das funções corticais superiores como a memória, a linguagem e a resolução de problemas, situação que afeta a capacidade de o indivíduo realizar suas atividades da vida diária. Na DA, a destruição dos neurônios atinge diversas áreas do cérebro, incluindo as relacionadas com funções básicas como caminhar e deglutir. Desta forma, nos estágios finais da doença os indivíduos são acamados e exigem cuidados contínuos. Estima-se que, nos Estados Unidos da América (EUA), 5,4 milhões de pessoas tenham a DA. Desses, 5,2 milhões têm 65 anos ou mais e 200.000 mil indivíduos têm menos de 65 anos, estes últimos classificados como DA de início precoce. (ASSOCIATION ALZHEIMER, 2016).

A Da se caracteriza como uma doença crônico degenerativa com amplo *gap* entre o período pré-sintomático, alterações bioquímicas no cérebro e surgimento dos sintomas clínicos. A incidência de demência dobra a cada 10 anos acima dos 60 anos de idade. Alguns estudos demonstram redução da prevalência de demência em países de alta renda, sendo os níveis educacionais, a prevenção e o tratamento de doenças vasculares apontados como variáveis importantes para esses resultados. Ao avaliar apenas a população com mais de 65 anos, uma em cada nove pessoas (11%) tem DA. Considerando-se os indivíduos com 85 anos, a porcentagem sobe para 32%. Esses valores irão aumentar nos EUA nas próximas décadas a medida em que ocorre o envelhecimento da geração “baby boom”, que surgiu no período pós segunda guerra mundial, provocando aumento da população de indivíduos com DA principalmente no

subgrupo com mais de 85 anos (figura 2) (ASSOCIATION ALZHEIMER, 2016; GRASSET *et al.*, 2016; HEBERT *et al.*, 2013).

FIGURA 2- NÚMERO ESTIMADO DE PESSOAS COM DA NOS EUA EM 2010 E PROJEÇÕES ATÉ 2050



Fonte: Adaptado de HEBERT *et al.* (2013)

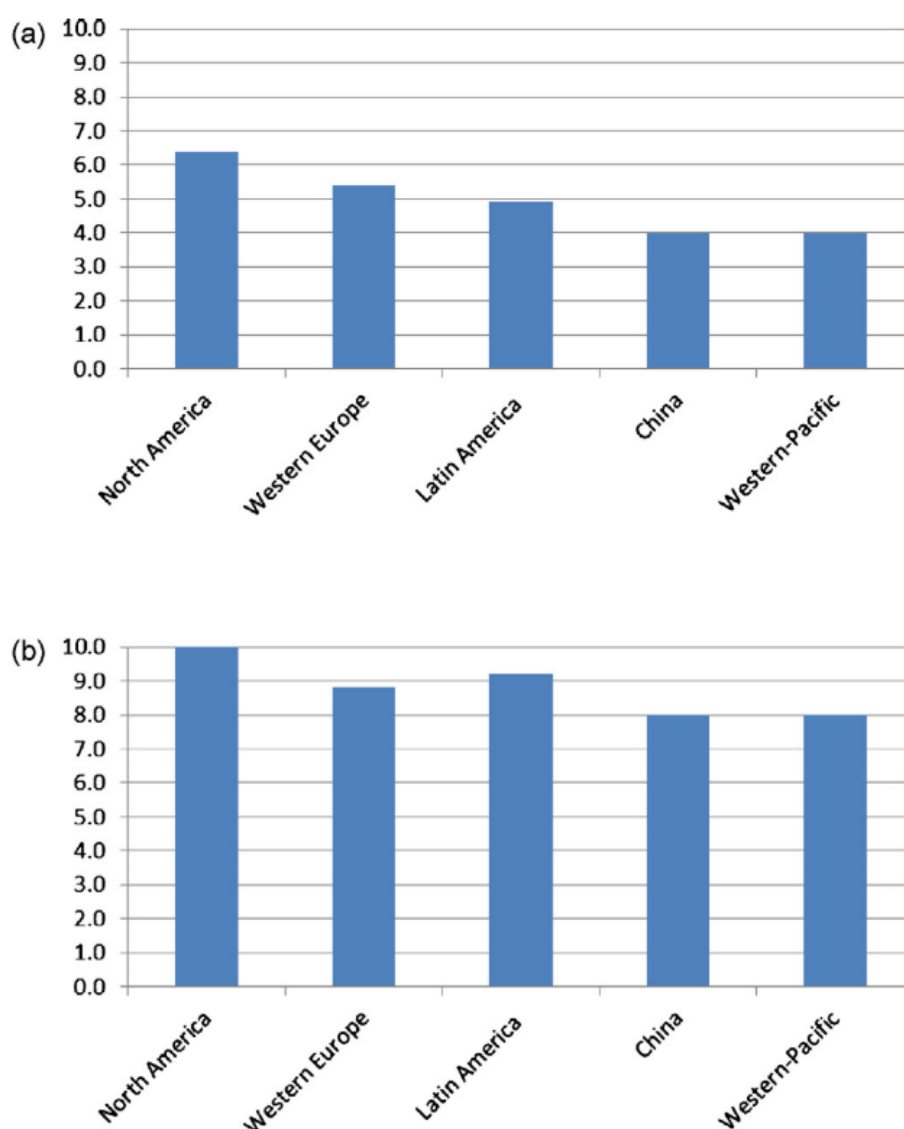
Nos pacientes em desenvolvimento a projeções que preveem o aumento da DA são proporcionalmente muito maiores que na Europa Ocidental e EUA, já que possuem populações ainda mais jovens. Estimativas confiáveis da prevalência de demência de início precoce e DA antes dos 65 anos são escassas. Mas a prevalência de demência antes dos 50 anos é inferior a 1 por 4000 pessoas, com aproximadamente 30% dos casos devido DA. O número e a proporção estimados de indivíduos que têm DA na maioria dos estudos atuais são baseados nos critérios diagnósticos para DA que são utilizados desde 1984. Esses critérios só são aplicáveis após o início dos sintomas, ao contrário dos critérios e diretrizes revisados pelo Instituto Nacional do Envelhecimento e pela Associação de Alzheimer publicados em

2011, em que se propõe que a DA comece anteriormente ao início dos sintomas. Sendo assim, se a DA pode ser diagnosticada com precisão antes mesmo que se desenvolvam os sintomas, o total de pessoas acometidas é muito maior do que os valores estimados atualmente (ASSOCIATION ALZHEIMER, 2016; MCKHANN *et al.*, 2011; SCHELTENS *et al.*, 2016).

A prevalência das demências, principalmente atribuída a DA ou DA mista, está aumentando globalmente. Em 2030, o número de indivíduos no EUA com demência terá aumentado 35% e potencialmente irá triplicar até 2050. A prevalência da DA apresenta correlação positiva com o avanço da idade e dobra a cada 5 anos em indivíduos de 65 a 85 anos saindo de aproximadamente 1% a 2% aos 65 anos, para mais de 30% a 50% aos 85 anos. Ao avaliar americanos com mais de 60 anos, 16% têm TCL. Os dados sobre DA são limitados nas demais regiões do mundo. Uma revisão sistemática de 2013 sugeriu que na China a prevalência de demência aumentou, mas estes resultados foram contestados por outra revisão em que a alteração dos critérios diagnóstico e variação de metodologia foram levados em consideração. Em estudos sobre asiáticos é observado uma aparente mudança da prevalência de demência vascular, que costumava ser mais comum, para a Doença de Alzheimer, chegando a uma proporção semelhante aos países ocidentais (ATRI, 2019; GRASSET *et al.*, 2016; SCHELTENS *et al.*, 2016).

Comparando as populações regionais com idade maior que 60 anos, acredita-se que as do EUA e Europa Ocidental exibam a maior prevalência e taxa de incidência de demência atualmente, sendo seguidas pelas da América Latina, China e seus vizinhos do Pacífico Ocidental, (Figura 3). Padrões semelhantes são observados na prevalência e incidência de DA. A prevalência de DA no Brasil ainda é pouco conhecida. Um estudo realizado na população da cidade de Catanduva, no estado de São Paulo, identificou que 7,1% da população acima dos 65 anos apresentava demência, sendo 55,1 % dos casos por DA. Além disso, nesse estudo houve aumento da prevalência atrelada ao envelhecimento e uma associação inversa com o nível educacional. Estimativas sugerem que o Brasil tem a segunda maior prevalência de DA entre 195 países analisados (EMILIO *ET AL.*, 2002; NICHOLS *ET AL.*, 2019; REITZ E MAYEUX, 2014).

FIGURA 3. (A) PREVALÊNCIA GLOBAL DE DEMÊNCIA (%) (B) TAXAS DE INCIDÊNCIA DE DEMÊNCIA (POR 1000 INDIVÍDUOS DA POPULAÇÃO)



Fonte: REITZ; MAYEUX (2014).

A DA é mais prevalente em mulheres do que em homens. Quase dois terços da população dos EUA com DA são mulheres. Ou seja, dos 5,2 milhões de pessoas acima dos 65 anos com Alzheimer, 3,3 milhões são mulheres e apenas 1,9 milhões são homens. Várias razões podem explicar porque a DA é mais comum em mulheres do que em homens. A principal hipótese é que essa diferença se deve ao fato de que as mulheres vivem, em média, mais do que os homens e a idade avançada é o principal fator de risco para DA. Em contrapartida, vários estudos avaliando a incidência da DA não conseguiram encontrar diferença significativa entre homens e

mulheres. No entanto, novas pesquisas sugerem que o risco pode ser maior para as mulheres, devido diferenças biológicas, genéticas ou até pelas variadas experiências de vida. Um grande estudo mostrou que o genótipo APOE4, um importante fator de risco genético para a DA, pode ter uma associação mais forte com a DA em mulheres. Além disso, algumas evidências sugerem uma interação entre o genótipo APOE4 e o hormônio sexual estrogênio (ALTMANN *et al.*, 2014; ASSOCIATION ALZHEIMER, 2016; CHÊNE *et al.*, 2015).

4.3. FATORES DE RISCO E GENÉTICA

Os fatores de risco clássicos associados à DA são a idade, história familiar de demência, mutações herdadas em genes que afetam a amiloide no cérebro e o alelo da apolipoproteína E (APOE) epsilon 4 ($\epsilon 4$). Pacientes apresentam maior chance de desenvolverem essa patologia quando possuem um parente de primeiro grau com demência. Indivíduos com dois ou mais irmãos afetados pela DA de início tardio têm risco três vezes maior em comparação a população geral. Cerca de 70% do risco de desenvolver a DA pode ser atribuído a fatores genéticos. Na DA de início precoce há alta prevalência de mutações nos genes APP, PSEN1 e PSEN2 (genes da proteína precursora de amiloide, presenilina 1 e presenilina 2, respectivamente), enquanto a DA de início tardio está associada principalmente a polimorfismo do gene APOE com especial prevalência do alelo $\epsilon 4$ (MCKHANN *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2019; VILATELA, MARISOL E YESCAS-G, 2012).

A APOE4 é o principal fator de risco genético para a DA. Ao longo da vida o risco de desenvolver DA é maior de 50% para homozigotos APOE $\epsilon 4$ e de 20-30% para heterozigotos APOE Epsilon 3 ($\epsilon 4$) e APOE $\epsilon 4$. No caso da população geral esse risco é de 11% para homens e 14% para mulheres. APOE $\epsilon 4$ tem vários efeitos sobre a DA. Ele causa interferência na depuração de A β no cérebro, e também é processado em fragmentos neurotóxicos. (MCKHANN *et al.*, 2011; SCHELTENS *et al.*, 2016)

Utilizando Estudos de associação genômica ampla (GWAS - genome-wide association study) foram identificados mais de 20 loci genéticos associados ao risco de desenvolver DA. Esses genes recém-identificados Estão associados a vias do sistema imunológico, resposta inflamatória, metabolismo de colesterol e lipídios e

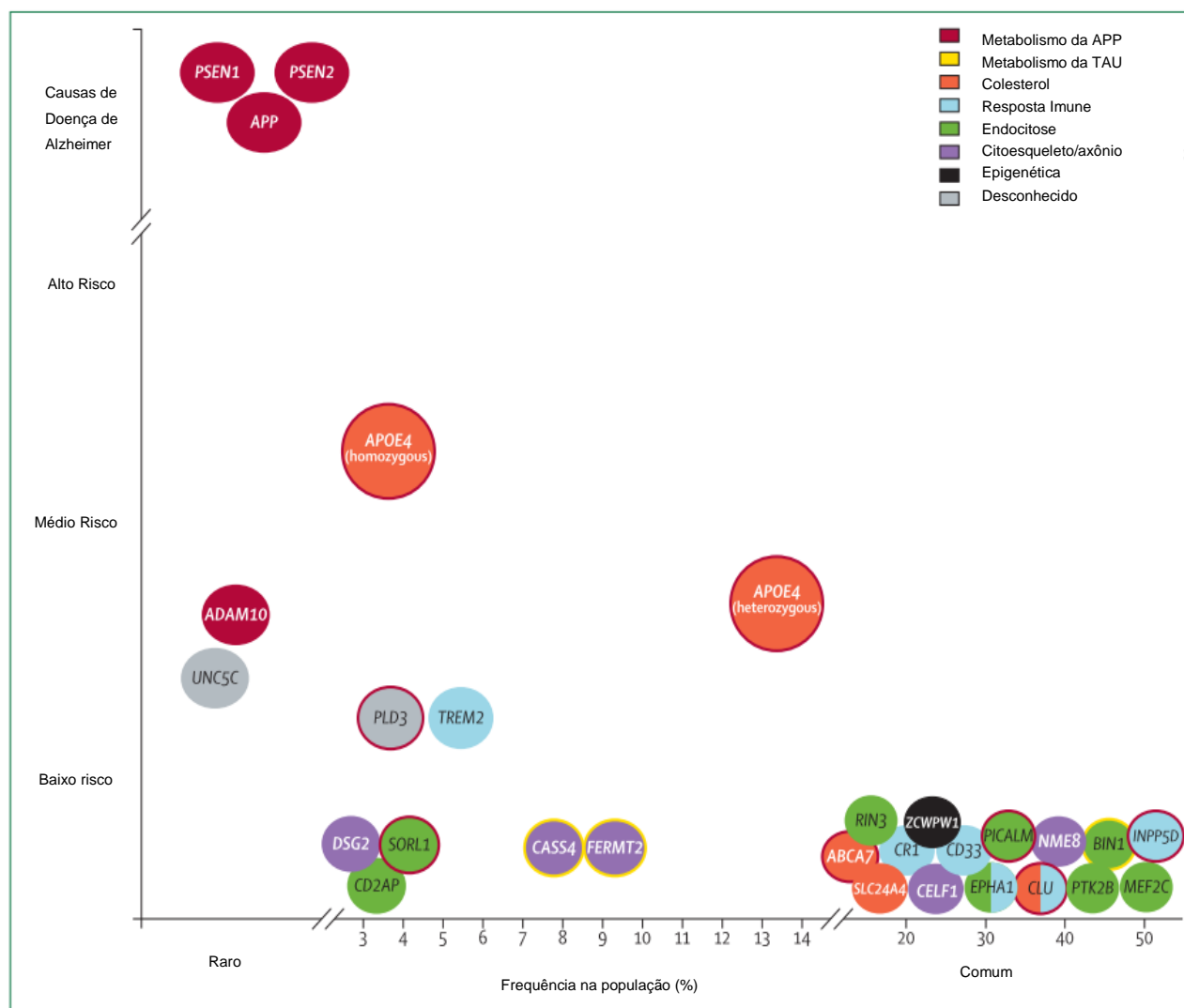
reciclagem de vesículas endossômicas. Todos esses fatores provavelmente interagem com aspectos ambientais e outros mecanismos associados a DA. Esses polimorfismos são freqüentes na população, mas isoladamente a maioria, contribui pouco para o risco individual de doença (figura 4). No entanto, uma dessas mutações que ocorre no gene do TREM2 (receptor de ativação expressos em células mielóides -2), elevou o risco relativo (RR) em 2,9% para o desenvolvimento de DA. O mecanismo fisiopatológico pelo qual essa deficiência no gene aumenta o risco de DA ainda precisa ser melhor esclarecido. O gene do TREM2 é localizado no cromossomo 6p21 e a proteína TREM2 é um receptor com alta expressão na superfície das células microgliais e possuem a função de modular as respostas inflamatórias e fagocitárias do sistema nervoso central. A deficiência do receptor TREM2 pode reduzir a capacidade de remoção dos depósitos de peptídeo A β e desta forma talvez favorecer o acúmulo de placas amiloides (SCHELTENS *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2019).

Dos vários fatores de risco demográficos, como idade, sexo, raça e classe social, a idade é um dos mais importantes para o declínio cognitivo. Com o avançar da idade, a prevalência de DA evolui de 19% em indivíduos de 75-84 anos de idade para 30-35% nos com mais de 85 anos. Postula-se que a DA poderia ser uma forma acelerada do processo fisiopatológico que ocorre no envelhecimento normal com base na percepção que muitas das alterações patológicas identificadas na DA são semelhantes, embora com maior gravidade, a aquelas presentes no envelhecimento normal. As doenças cerebrovasculares e a DA além de compartilharem múltiplos fatores de riscos muitas das vezes se sobrepõem. Alterações cerebrovasculares como AVC (acidente cérebro vascular) hemorrágico, isquêmico, vasculopatias e alterações da substância branca aumentam o risco de demência. A análise pós-mortem de pacientes com DA, indicam a presença de doença vascular do parênquima cerebral com hemorragias e infartos sendo encontrados em mais de 50% dos casos. Além disso, os achados neuropatológicos indicam de 6 a 47% dos indivíduos com demência têm a ocorrência também de doença cerebrovascular. Essas achados apontam para o papel potencial dos mecanismos homeostáticos na DA (ARMSTRONG, 2019; SILVA *et al.*, 2019).

Alguns estudos indicam que a hipertensão é capaz aumentar o risco de desenvolver DA. Principalmente quando presente desde a meia-idade ela afeta negativamente o desempenho cognitivo em idades mais avançadas, pois é capaz de

desencadear mudanças nas paredes vasculares, levando a hipoperfusão, isquemia e hipóxia cerebral. Estudos demonstram que a isquemia cerebral predispõe o acúmulo de APP e A β , além estimular a expressão da presenilina, envolvida na Síntese de A β (CROUS-BOU *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2019).

FIGURA 4: VISÃO GERAL ESQUEMÁTICA DE GENES LIGADOS À DOENÇA DE ALZHEIMER



Fonte: Adaptado de SCHELTENS *et al.* (2016).

Nota: As cores mostram os caminhos nos quais esses genes estão implicados. Os genes que afetam o metabolismo de APP estão circulado em vermelho, enquanto aqueles que afetam o caminho tau está circulado em amarelo. As cores interiores fornecem mais informações sobre as funções dos genes. Quando há duas cores, o gene pode ter papéis funcionais em duas vias biológicas diferentes. Muitos dos genes estão relacionados ao processamento ou transporte da APP (borda vermelha ou cor interior vermelha), sugerindo a importância do metabolismo de APP na doença de Alzheimer.

Estudos epidemiológicos sugerem uma associação entre diabetes mellitus tipo 2 e um risco aumentado de desenvolver DA. Vários mecanismos são postulados para justificar esta associação, incluindo resistência à insulina, toxicidade da hiperglicemia e de produtos de glicação avançada, dano cerebrovascular e inflamação vascular. A resistência a insulina é capaz de induzir a ação das β e γ -secretases e causar redução da depuração de $A\beta$, levando ao seu acúmulo cerebral, conforme demonstrado em modelos animais. Além disso, a resistência ou deficiência de insulina induz hiperfosforilação da proteína tau (SILVA *et al.*, 2019; TUMMINIA *et al.*, 2018).

O tabagismo pode afetar o risco de desenvolver DA por múltiplos mecanismos. Dentre eles o acúmulo de radicais livres que elevam estresse oxidativo, a ação pró-inflamatória sobre o sistema imunológico, levando à ativação fagocitária. Além do que, o hábito de fumar pode ocasionar doenças cerebrovasculares, que aumentam o risco de DA conforme já descrito. Em uma meta-análise que analisou 8 estudos de caso-controle com afiliações à indústria do tabaco não foram identificados efeitos protetores do tabagismo em relação à DA (odds ratio: 0,91, IC 95% 0,75-1,10). Além disso, 14 estudos de coorte sem associação com a indústria do tabaco demonstraram um risco de DA aumentado em fumantes (RR): 1,45; IC 95%, 1,16–1,80 (SILVA *et al.*, 2019; YIN *et al.*, 2016).

O papel da obesidade como fator de risco para DA permanece ainda é incerto, com grande heterogeneidade nos resultados dos estudos. Uma metanálise evidenciou que a obesidade (Índice de Massa Corporal - IMC ≥ 30 kg / m²) durante a meia idade é um fator de risco para o desenvolvimento de demência (taxa de risco - HR: 1,39; IC 95%: 1,03-1,87), enquanto que na senescência a obesidade é inversamente correlacionada com o risco de demência (HR: 0,63; IC 95%: 0,44–0,91) (SILVA *et al.*, 2019).

4.4. FISIOPATOLOGIA

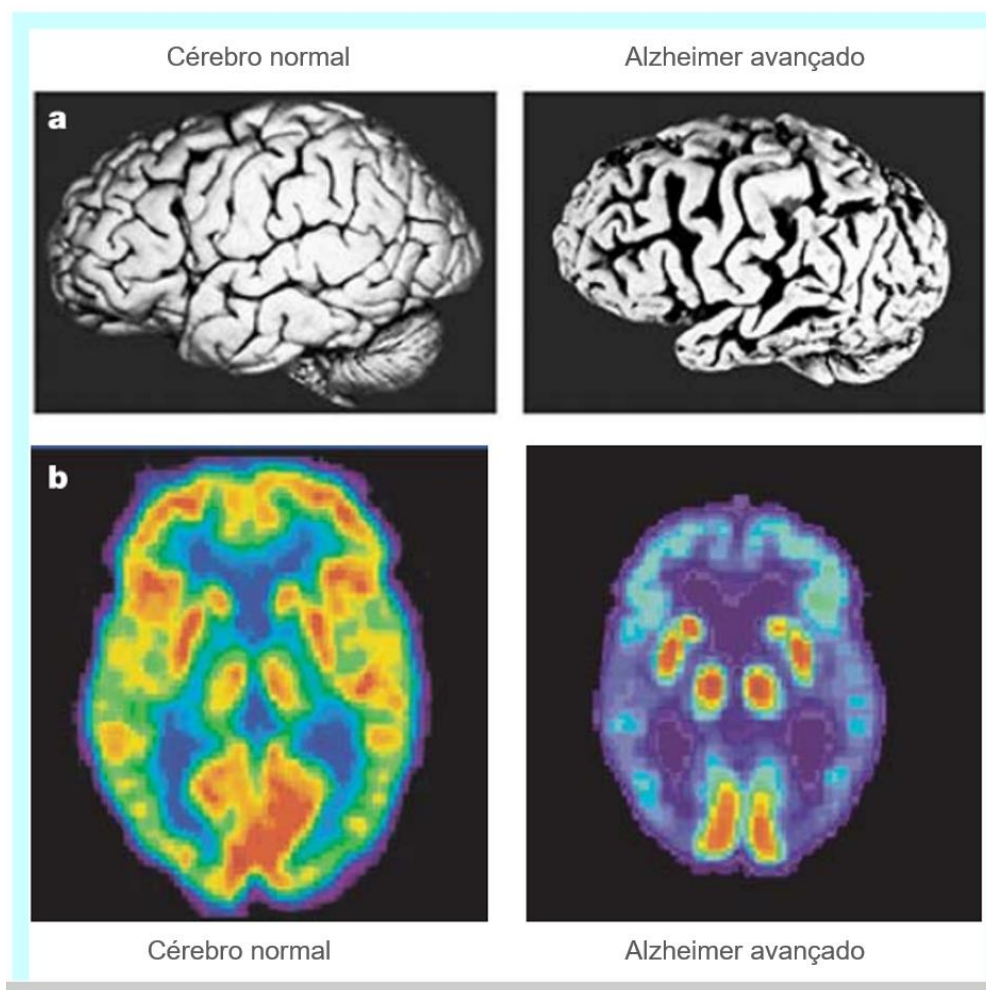
Os avanços da pesquisa básica sobre DA, nos últimos anos, aumentaram a compreensão da história natural desta doença. Hoje, já se reconhece que suas alterações fisiopatológicas iniciam-se muitos anos antes de surgirem as

manifestações clínicas. sendo assim, o espectro da DA se estende desde indivíduos clinicamente assintomáticos até os severamente comprometidos. a definição de DA por sua apresentação clínica é artificial e muitos esforços foram feitos na busca por reconhecer a doença com base em características clínicas e através de biomarcadores. As principais alterações neuropatológicas da DA são as placas difusas e neuríticas (deposição beta amiloide extracelular). Apesar disso, a etiologia da DA é complexa e ainda resta muito a ser elucidado. Claramente ocorre o acúmulo de A β , mas há controvérsia se o acúmulo de A β indica uma progressão inexorável para DA, pois evidências sugerem que o acúmulo de A β é insuficiente para produzir os sintomas da DA, surgindo em algum momento durante a progressão da doença fatores adicionais participam da neurodegeneração regional (AISEN *ET AL.*, 2017; GANDY; DEKOSKY, 2013).

A patologia Tau é aventada como um facilitador dos efeitos a jusante da amiloide, através dos emaranhados neurofibrilares (acúmulo intracelular da proteína tau e tau fosforilada). Outrossim, alterações sinápticas, mitocondriais, metabólicas, inflamatórias, neuronais, no citoesqueleto e mielina também pode desempenhar um papel na patogênese da DA. Dessa forma, com base no conhecimento atual, os principais achados histopatológicos da DA são o acúmulo progressivo de placas amiloide com deposição extracelular da proteína A β , formação dos emaranhados neurofibrilares (NFTs) – feixes intraneuronais de proteína tau incluindo a tau hiperfosforilada (p-tau) - sob a forma de filamentos helicoidais agregados dentro dos neurônios. Além disso, observa-se também uma neurodegeneração caracterizada por perda progressiva de neurônios provocando atrofia nas regiões do cérebro envolvidas nos processos de aprendizagem e memória, incluindo os lobos frontal e temporal (Figura 5). No momento, várias linhas de evidência sugerem que, na DA, a interação entre A β e tau ocorre de uma forma em que a patologia A β pode conduzir à patologia tau e vice-versa (AISEN *et al.*, 2017; GANDY E DEKOSKY, 2013; MARK, 2004).

Os aspectos epidemiológicos estão em constante modificação para a DA. As novas metodologias diagnósticas, como a detecção de biomarcadores, se apresentam na vanguarda tecnológica, sendo capazes de detectar mudanças neuropatológicas *in vivo*. Ensaios clínicos randomizados estão avaliando terapias anti-amilóides para prevenção e tratamento da DA, utilizando biomarcadores de imagem ou do LCR (GRASSET *et al.*, 2016).

FIGURA 5- ALTERAÇÕES ANATÔMICAS E EXAME DE IMAGEM CARACTERÍSTICOS DA DOENÇA DE ALZHEIMER



Adaptado de MARK (2004).

Legenda: a) Comparação entre um cérebro saudável (à esquerda) e um cérebro acometido pela DA (à direita). b) Imagens de PET Scan demonstrando a captação de glicose no cérebro de uma pessoa saudável (à esquerda) e um cérebro acometido pela DA (à direita) (cores vermelha e amarela revelam altos níveis de captação de glicose).

Na DA de início tardio, a base genética é muito mais complexa, com uma suscetibilidade provocada por amplo leque de genes, entretanto com menor influência epigenética. Dentre aqueles com maior influência para a DA de início tardio se destaca o gene APOE. Os portadores do alelo épsilon 4 têm duas a três vezes mais chance de desenvolverem DA quando comparado ao grupo selvagem. Para pacientes homozigotos para o alelo e4 a chance de desenvolver a DA está acima de oito vezes quando comparados ao grupo selvagem. Entretanto, o *background* genético é ainda

modulado por variáveis como gênero, raça e fatores de risco vasculares (NAJ E SCHELLENBERG, 2016).

A DA de início precoce apresenta herança autossômica dominante no grupo de genes proteína precursora amilóide (APP), presenilina 1 (PSEN1) e presenilina 2 (PSEN2). Mutações nesses genes modulam a produção, agregação ou depuração da proteína beta amiloide. Tais mutações apresentam alta penetrância, portanto, os portadores desenvolverão a doença durante sua vida. Essas mutações devem ser consideradas também em casos de DA de início tardio que apresentem um padrão de herança autossômica predominantemente consistente. A detecção molecular de mutações nos genes APP, PSEN1 e PSEN2 carregam importantes implicações para os pacientes e familiares. Nos pacientes sintomáticos, o aconselhamento genético deve ser realizado na presença do responsável legal do indivíduo ou de um membro da família para assegurar o consentimento informado adequado, entender o objetivo dos testes, impactos dos resultados, além de possíveis implicações para outros membros da família (GRASSET *et al.*, 2016; TÖNNIES e TRUSHINA, 2017).

Existe certa complexidade na avaliação neuropatológica da DA, sendo essa classificada de acordo com três parâmetros. O primeiro é o escore de distribuição da placa beta-amilóide, o segundo é o estágio de distribuição do emaranhado neurofibrilar e por fim, o escore de densidade de placa neurítica. A partir destes dados, as alterações neuropatológicas são classificadas em níveis baixos, intermediários ou altos. Associam-se a esse escopo os dados clínicos, neuropsicológicos, as características de neuroimagem e os marcadores clássicos laboratoriais (GANDY e DEKOSKY, 2013).

Embora a DA apresente aspectos fisiopatológicos ainda a serem esclarecidos, indivíduos afetados compartilham da superprodução e / ou diminuição da depuração dos peptídeos beta-amilóides gerados a partir da clivagem endoproteolítica da proteína madura expressa do gene proteína precursora amilóide (APP) e clivada pela beta-secretase e gama-secretase. A proteína presenilina integra o complexo gama-secretase, sendo sua expressão controlada pelos genes presenilina 1 (PSEN1) e/ou presenilina 2 (PSEN2). Mutações nesses genes, portanto, parecem facilitar a produção de beta-amilóide global, ou formas neurotóxicas de beta-amilóide. Apesar de grandes avanços no entendimento da DA, as discussões sobre a neurotoxina definitiva ainda são incipientes. As evidências experimentais apontam os pequenos

agregados de peptídeos beta-amilóides chamados oligômeros, em oposição a agregados maiores chamados fibrilas, como principais responsáveis pela fisiopatologia da DA (GREMER *et al.*, 2017).

A proteína TAU, tipicamente associada aos microtúbulos, aparece como alvo diagnóstico e com papel ímpar na patogênese da DA. Caracteriza-se como auxiliar na estabilização e montagem dos microtúbulos. A hiperfosforilação da proteína TAU na DA associa-se a formação dos filamentos helicoidais pareados (FHP) tau, um importante componente dos emaranhados neurofibrilares no citoplasma neuronal, os quais possuem relativa toxicidade para as células neuronais, em modelos experimentais. A progressão ou disseminação da DA parece obedecer a uma progressão não uniforme nas regiões cerebrais. Esse aspecto pode ser justificado pela transmissão aleatória de formas patológicas da proteína tau entre os neurônios (WYSS-CORAY e ROGERS, 2012).

4.5. QUADRO CLÍNICO

A DA apresenta sintomas variados entre os indivíduos acometidos. Entretanto, o sintoma inicial mais comum é um piora gradativa da capacidade de lembrar-se de novas informações. Isso acontece porque as áreas cerebrais envolvidas na formação de novas memórias são as primeiras a serem destruídas. Outras características comuns da DA são dificuldades em planejamento ou resolução de problemas, desorientação temporal e espacial, déficit visuoespacial, perda de insight, apatia, depressão, mudança de personalidade e humor, ansiedade, agitação e distúrbios do sono (ASSOCIATION ALZHEIMER, 2016).

Os sintomas da DA começam insidiosamente e progridem de forma gradual. A apresentação amnésica é a forma mais comum de DA, conhecida como “típica”, e se caracteriza por deficiência precoce na memória episódica que reflete a patologia no lobo temporal medial. Além desse perfil cognitivo, outras variantes de DA podem acontecer, como por exemplo, atrofia cortical posterior, afasia progressiva primária logopênica e variante frontal da DA, as denominadas formas “atípicas”. Neste âmbito, algumas dessas síndromes "atípicas" são facilmente confundidas com outras doenças, como a demência frontotemporal (DFT), quando predomina a disfunção

executiva ou de linguagem, ou a degeneração corticobasal, quando uma síndrome corticobasal é evidente. Os sinais e sintomas de demência são percebidos pelas famílias em média 3 anos antes de ser dado um diagnóstico. A medida em que a doença avança, os afetados precisam de ajuda nas atividades básicas da vida diária, como tomar banho, comer e vestir-se. Perdem a capacidade de se comunicar e por fim tornam-se acamados e dependente de cuidados 24 horas por dia. Nessa etapa, são mais vulneráveis a infecções, incluindo pneumonia, sendo um dos fatores que contribui para a morte de pessoas com DA. Embora exista uma ampla faixa, o tempo médio entre o diagnóstico e a morte é de 8-10 anos (ERATNE et al., 2018; TELLECHEA et al., 2015).

Com base na idade de início, pode-se classificar a DA em dois tipos: de início precoce (DAIP, início <65 anos) ou de início tardio (DAIT, início a partir dos 65 anos). A DAIP constitui 1 a 5% de todos os casos, e a DAIT representa > 95% dos afetados. Embora a maioria dos estudos mostrem que elas apresentam características clínicas indistinguíveis, a DAIP é geralmente associada a uma progressão clínica mais rápida e a um padrão de herança mendeliano. Três genes (APP, PSEN1 e PSEN2), que codificam proteínas envolvidas na quebra de Proteína precursora amilóide (APP) e geração de A β , estão firmemente implicados na fisiopatologia da DAIP. Mutações nesses três genes, ligadas a DA, exibem alta penetrância (> 85%), levando a agregação mais rápida de A β e consequentemente desencadeando a doença de início precoce. Dessa forma, eles são classificados como biomarcadores de diagnóstico da doença. Por outro lado, os genes envolvidos na DAIT aumentam o risco da doença em um padrão não-mendeliano (KRUEGER e KRAMER, 2010; REITZ e MAYEUX, 2014; TELLECHEA et al., 2015).

4.6. DIAGNÓSTICO

Em 1984, um grupo convocado pelo Instituto Nacional de Distúrbios Neurológicos, distúrbios comunicativos e Derrame (NINCDS) e pela Associação de Doença de Alzheimer e Distúrbios Relacionados (ADRDA) estabeleceu critérios para o diagnóstico clínico da DA. Esses critérios persistiram por mais de 27 anos e foram validados por diversos estudos com uma sensibilidade 81% e especificidade de 70%,

sendo amplamente utilizados na prática médica e em ensaios clínicos. No entanto, em 2011 o Instituto Nacional do Envelhecimento e a Associação de Alzheimer (NIA-AA) revisaram estes critérios, considerando que, na época em que foram formulados pouco se conhecia sobre outras síndromes demenciais como demência com corpos de Lewy, demência vascular, variante comportamental da demência frontotemporal e afasia primária progressiva. Além disso, estes critérios não incluíam exames como a ressonância nuclear magnética (RNM), tomografia por emissão de pósitrons (PET) e estudo do LCR, no diagnóstico e tomada de decisão. Além disso, não se conhecia as alterações genéticas relacionadas a DA como as mutações na proteína precursora amilóide, presenilina 1 e presenilina 2 (MCKHANN *et al.*, 1984, 2011).

Os critérios propostos pelo NIA-AA em 2011 foram elaborados tentando assegurar sua aplicabilidade tanto para profissionais de saúde, na maioria das vezes sem acesso a testes neuropsicológicos, exames laboratoriais e técnicas avançadas de neuroimagem, quanto por investigadores especializados, envolvidos em pesquisas científicas ou ensaios clínicos e com acesso a estas tecnologias mais avançadas. Para alcançar tal objetivo o diagnóstico foi subdividido em demência provável da DA, demência possível de DA e demência provável ou possível de DA com evidência de processo fisiopatológico da DA. Sendo que as duas primeiras classificações pretendem ser utilizadas no contexto clínico e a terceira para fins de pesquisa (MCKHANN *et al.*, 2011).

O diagnóstico de demência é estabelecido quando há sintomas cognitivos e comportamentais que interferem na capacidade funcional no trabalho e/ou em atividades habituais, com declínio em relação aos níveis anteriores de desempenho e funcionalidade que não são explicados por delírium ou transtorno psiquiátrico grave. Esse comprometimento cognitivo deve ser identificado através da história do paciente e de um informante experiente associado a avaliação cognitiva objetiva ou teste neuropsicológico. Além disso, deve envolver pelo menos dois domínios cognitivos como memória, raciocínio, julgamento, realização de tarefas complexas, habilidades visuo-espaciais, linguagem e alterações da personalidade de comportamento (ERATNE *et al.*, 2018; MCKHANN *et al.*, 2011).

A DA provável é diagnosticada quando o paciente atende aos critérios de demência e, em adição, apresenta um início insidioso dos sintomas com piora gradual ao longo de meses a anos. A apresentação clínica mais comum é a amnésica, na qual os déficits se caracterizam por comprometimento na aprendizagem e recuperação de

informações recentemente aprendidas, além de evidência de disfunção em algum outro domínio cognitivo. Além dela, ocorre a apresentação não amnésica que pode vir com déficits predominantemente em linguagem, função visuoespacial e função executiva. Além disso, não deve haver evidência de doença cerebrovascular substancial associada, sinais ou sintomas característicos de outras demências ou uso de medicamento que possa provocar piora cognitiva (ATRI, 2019; MCKHANN *et al.*, 2011).

A DA possível é diagnosticada quando o doente cumpre os critérios de demência e apresenta os principais critérios clínicos em relação aos déficits cognitivos da DA. Porém, apresenta um curso atípico com início repentino ou insuficiência dos detalhes históricos e da documentação cognitiva objetiva. Outrossim, o paciente cumpre os critérios clínicos para DA mas tem evidência concomitante de doença cerebrovascular, que é definida por uma história de acidente vascular cerebral com relação temporal ao aparecimento do comprometimento cognitivo ou presença de múltiplos infartos e extensa carga de hiperintensidade da substância branca. Manifesta características de demência com corpos de Lewy, outra doença neurológica ou uma comorbidade médica não neurológica (MCKHANN *et al.*, 2011).

Além do diagnóstico de demência da DA, o conceito de TCL devido a DA tem se tornado cada vez mais relevante. Esse termo diz respeito a fase sintomática pré-demência em que ocorre um grau de comprometimento cognitivo que não é normal para a idade. É importante ressaltar que o TCL pode ser considerado um subconjunto de diversas causas de comprometimento cognitivo que não são demência, incluindo déficits resultantes de traumatismo craniano, uso abusivo de substâncias ou distúrbios metabólicos. De maneira semelhante à demência de DA, o TCL devido à DA não é atualmente diagnosticado por um teste laboratorial, mas necessita de julgamento clínico. Dessa forma, o TCL é síndrome definida por critérios clínicos, cognitivos e funcionais. Inicialmente, deve haver evidente preocupação com uma mudança na cognição em comparação ao padrão anterior que pode ser obtida com o paciente, um informante bem orientado ou mesmo pela observação clínica. Ademais, deve haver um comprometimento maior do que o esperado para idade e formação educacional do paciente, em um ou mais domínios cognitivos. Vale ressaltar que o comprometimento da memória episódica (capacidade de aprender e armazenar novas informações) é o déficit mais comum em pacientes com TCL que irão posteriormente progredir para a demência de DA. Por fim, esses pacientes devem manter

independência nas habilidades funcionais, ou seja, podem levar mais tempo, cometer mais erros e ter menor eficiência em realizar tarefas funcionais complexas que eram feitas com facilidade como preparar uma refeição, pagar contas ou ir às compras, mas conseguem manter a capacidade de desenvolver as atividades da vida diária com o mínimo de ajuda (ALBERT *et al.*, 2011; BERTENS *et al.*, 2015).

4.7. BIOMARCADORES

Os biomarcadores são parâmetros (fisiológicos, bioquímicos, anatômicos) que podem ser mensurados *in vivo* e são caracterizados por refletir aspectos específicos dos processos fisiopatológicos de uma determinada doença. Embora o termo biomarcador tenha sido usado no passado como uma referência a análise de fluidos eles descrevem medidas de fluidos e de imagem na doença de Alzheimer. Apesar de muitos biomarcadores serem estudados para DA, atualmente apenas cinco deles foram formalmente incorporados aos critérios diagnósticos desta doença (JACK *et al.*, 2011).

As evidências atuais sugerem que, juntos, o acúmulo de placas de proteína β -amilóide e a deposição de proteína tau nos emaranhados neurofibrilares estão associados a lesão neuronal e, embora essa deposição elevada seja características da DA, as alterações nessas proteínas são encontradas em outros distúrbios neurológicos. Desta forma, é necessário incorporar a especificidade de qualquer biomarcador ao esquema de diagnóstico. Os biomarcadores de acúmulo da A β são retenção anormal de marcadores na imagem do PET amilóide e níveis baixos de A β 1-42 no LCR. Já os biomarcadores de degeneração ou lesão neuronal são os altos níveis de proteína tau total e tau fosforilada no LCR, redução da captação de fluorodeoxiglicose no PET nas regiões de córtex temporoparietal e atrofia dos lobos temporais mediais, basais e laterais e córtex parietais mediais e laterais na RNM. Nesta perspectiva, os biomarcadores amilóides podem ser anormais de forma precoce, entre 10 e 20 anos antes do limiar clínico da DA. Já os biomarcadores de neurodegeneração tornam-se alterados, frequentemente, pouco antes do aparecimento dos sintomas clínicos (DOECKE *et al.*, 2018; JACK *et al.*, 2011).

Os biomarcadores, proteína beta-amilóide 40 e 42, refletem o acúmulo cortical de placas amilóides. Essas proteínas podem ser mensuradas diretamente no LCR ou

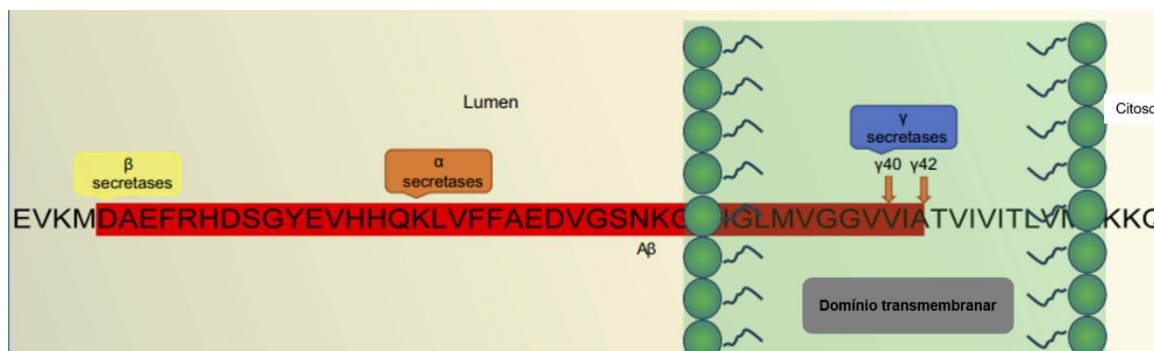
no plasma, porém, seus níveis no LCR refletem diretamente a presença de acúmulo cerebral e são mais fidedignos. A varredura PET utilizando uma variedade de ligantes, também pode detectá-las. As medidas de A β 1-42 no LCR e proteína A β fibrilar no PET são inversamente proporcionais com uma forte correlação entre si. A proteína A β tem origem na clivagem da grande proteína precursora amilóide (APP) por ação de secretases e processamento de vias amiloidogênicas produzindo dessa forma, um peptídeo de 42 aminoácidos A β 1-42 que se agrega no tecido cerebral (Figura 06). Sugere-se que a redução dos níveis de A β 1-42 no LCR é causada pela reduzida depuração do A β do cérebro para o sangue / LCR e pela agregação e deposição de placas no cérebro. Além disso, as alterações nos níveis de A β no LCR diferem com base na doença (quadro 01). Por exemplo, níveis de formas mais curtas da A β (1 a 40) no LCR permanecem normais ou aumentados na DA. Ou ainda, níveis reduzidos de A β (1 a 38) estão correlacionados com Demência fronto-temporal (DFT) e níveis de A β (1–37) com Demência por corpos de Lewy (DCL) (BLOUDEK *et al.*, 2014; FERREIRA, *et al.*, 2014; HUMPEL, 2011; SNEHAM *et al.*, 2019).

Vários estudos evidenciaram a redução da concentração da proteína A β 1-42 no líquido para cerca de 50% do valor encontrado em controles saudáveis. Sobre a utilidade diagnóstica entre indivíduos saudáveis e com DA, a A β 1-42 apresenta sensibilidade média de 80% (IC95% = 73-85%) e especificidade de 82% (IC95% = 74-88%). Além disso, uma metanálise demonstrou que ela conseguia distinguir pacientes com DA de pacientes com demência não DA com uma sensibilidade de 73% (IC 95% = 67–78%) e uma especificidade de 67% (IC 95% = 62-72%). No que diz respeito a sua utilidade para distinguir os pacientes com TCL que irão converter para DA evidenciou-se uma sensibilidade de 67% (IC95% = 59-75%) e uma especificidade de 71% (IC95% = 65-78%) (BLOUDEK *et al.*, 2014; FERREIRA, *et al.*, 2014).

A proteína tau intraneuronal é considerada um marcador de DA. Esta proteína aumenta no LCR de indivíduos saudáveis com a progressão da idade. Porém, os níveis de proteína t-Tau são significativamente mais elevados em pacientes com DA. Ela funciona também como um marcador prognóstico apresentando bom valor preditivo para conversão de TCL em DA. Um estudo identificou altos níveis de tau no LCR de 90% dos indivíduos com TCL que evoluíram para DA, mas não nos com TCL que permaneceram estáveis. Uma metanálise incluindo 24 estudos resultou em uma

sensibilidade de 78% (IC95% 73% a 83%) e especificidade e 81% (IC 95%, 76% a 85%) para o diagnóstico de DA. (BLOUDEK *et al.*, 2014; FERREIRA, *et al.*, 2014; HUMPEL, 2017).

FIGURA 06 - VISÃO GERAL DA HIPÓTESE PATOGENÉTICA DE ACUMULO DE A β .



Fonte: Adaptado de SNEHAM *et al.* (2019).

Nota: Sequência de aminoácidos do fragmento A β e local de ação das α -, β - e γ -secretases em neurônios doentes dentro de uma via amiloidogênica.

A proteína tau também é avaliada na forma hiperfosforilada, já que nessa situação ela apresenta perda sua funcionalidade provocando alterações no transporte axonal. A detecção de tau fosforilada na posição 181 é significativamente aprimorada na DA em comparação com controles. Além disso, ela pode ser fosforilada em 39 posições diferentes possibilitando a análise de outras formas (fosfo-tau-199, -231, -235, -396 e -404) que podem proporcionar melhorias significativas no diagnóstico da DA. Um estudo evidenciou uma sensibilidade 72% (IC 95% = 63-80%) e especificidade de 78% (IC 95% = 72-83%), com um valor preditivo positivo de 86% e valor preditivo negativo de 58%. Outro estudo comparou os valores de p-tau no diagnóstico de DA contra formas específicas de demências não-DA. Em relação a Demência por corpos de Lewy, os valores de p-tau no LCR foram inferiores aos da DA, com sensibilidade de 74% (IC95% = 68-80%) e especificidade de 83% (95% IC = 76-89%). Na demência frontotemporal, os níveis de p-tau também foram inferiores aos da DA com sensibilidade de 79% (IC 95%= 67-90%) e especificidade de 83% (IC 95% 76- 90%) (FERREIRA, *et al.*, 2014; HUMPEL, 2011; RIVERO-SANTANA *et al.*, 2017).

QUADRO 1. ALTERAÇÕES NOS NÍVEIS DE BIOMARCADORES NO LCR EM DIFERENTES DOENÇAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Doença	Aβ (1–42)	Tau total	Fosfo-tau
AVC agudo	-	↑↑	-
Demência alcoólica	-	-	-
Doença de Alzheimer	↓	↑	↑
Doença de Creutzfeldt – Jakob	↓↓	↑↑↑	-
Depressão	-	-	-
Demência Frontotemporal	↓	↑	-
Demência por corpos de Lewy	↓	↑	↑
Envelhecimento normal	-	-	-
Doença de Parkinson	-	-	-
Demência Vascular	↓↓	↑	-

Fonte: Adaptado de HUMPEL (2011).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho está subdividido em 02 etapas. Na primeira foi realizado um estudo analítico, observacional de corte transversal, dos prontuários médicos, seguido por uma série de casos com amostragem de conveniência no ambulatório do Laboratório de Liquorologia da Bahia, sob a Coordenação de Dra Conceição Ferraz. Cinquenta e um prontuários médicos foram analisados e revisados no primeiro momento referente ao período junho de 2018 e novembro de 2019. Na segunda etapa do projeto foram incluídos 06 pacientes, todos apresentados ao projeto de pesquisa, submetidos ao termo de consentimento livre e esclarecido, além da história clínica, exame neurológico completo, questionário sociodemográfico, testes de função cognitiva, a saber, Mini exame do estado mental (MEEM) e *Clinical Dementia Rating* (CRD), além escala geriátrica de depressão. Foram diagnosticados segundo os critérios do NIA-AA para Transtorno cognitivo leve e doença de Alzheimer e os critérios do DSM-V para outras demências. Após a avaliação, os pacientes foram alocados em 02 grupos clínicos, G1 - pacientes com provável DA ou Transtorno cognitivo leve (TCL) e G2 - pacientes com outras formas de demência.

As amostras de LCR foram coletadas como parte do procedimento diagnóstico de rotina no espaço intermédio L3 / L4 ou L4 / L5 em tubos de polipropileno de 6 mL e 9 mL (BD, EUA), utilizando técnica estéril normatizada. As amostras foram alíquotadas, processadas e em seguida congeladas - 20°C pós-análise. As análises microscópicas para citologia global, diferencial e oncótica foram realizadas nas primeiras duas horas após punção. Todas as análises bioquímicas, inflamatórias e infecciosas foram realizadas nas plataformas Integra 400 e E411 (Roche, Alemanha) com kits destinados as dosagens em LCR para LDH, Uréia, TGO, TGP, Albumina, Proteínas Totais, Glicose. Na plataforma AVL 9180 foram validadas as análises dos eletrólitos Na, K e Cl (Roche, Alemanha). Os biomarcadores beta-amilóide 1-42 (A β 42), proteínas Tau total (t-Tau) e Tau fosforilada (P-Tau) foram analisados pela técnica de ELISA (Euoimmum, Alemanha). As correlações para variáveis paramétricas seguiram o teste de Pearson, enquanto que o teste de Spearman foi destinado para correlações com variáveis com distribuição não paramétrica. O valor de $p < 0,05$ foi considerado para significância estatística neste estudo. Todas as análises foram realizadas no SPSS21 a partir de bancos de dados plotados e alimentados nessa plataforma. O

projeto de pesquisa foi submetido à aprovação pelo comitê de ética em pesquisa da UNEB sob o CAAE 22913919.4.0000.0057.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 RESULTADOS

6.1.1 ESTUDO DO LCR: PERFIL CLÍNICO E LABORATORIAL

Análise descritiva inicial das características sociodemográficas, características bioquímicas e aspectos celulares (Tabela 1).

TABELA 1. CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS, BIOQUÍMICAS E PERFIL CELULAR DO GRUPO DE PACIENTES COM COMPROMETIMENTO COGNITIVO LEVE E DA.

Características	Média (n=51)	Desvio padrão
Idade (anos)	73,0	±10,14
Sexo (n)		
Homens	27/51	-
Mulheres	24/51	-
Citologia (cel/uL)		
Linfócitos	1,0 (51/51)	-
Hemácias	0,0 (51/51)	-
Bioquímica		
Proteína (mg/dL)	25,5	±16,85
Glicose (mg/dL)	70,50	±23,33
Cloretos (mg/dL)	719,0	±18,07
Ureia (mg/dL)	27,5	±11,30
AST (U/L)	20,0	±17,11
LDH (U/L)	24,5	±15,48
Lactato (mg/dL)	16,0	±4,24

6.1.2 ESTUDO DO LCR: BIOMARCADORES CLÁSSICOS

Na tabela 2 estão descritas concentrações líquóricas das proteínas beta-amilóide, T-tau e P-tau em pacientes com suspeita diagnóstica de comprometimento cognitivo.

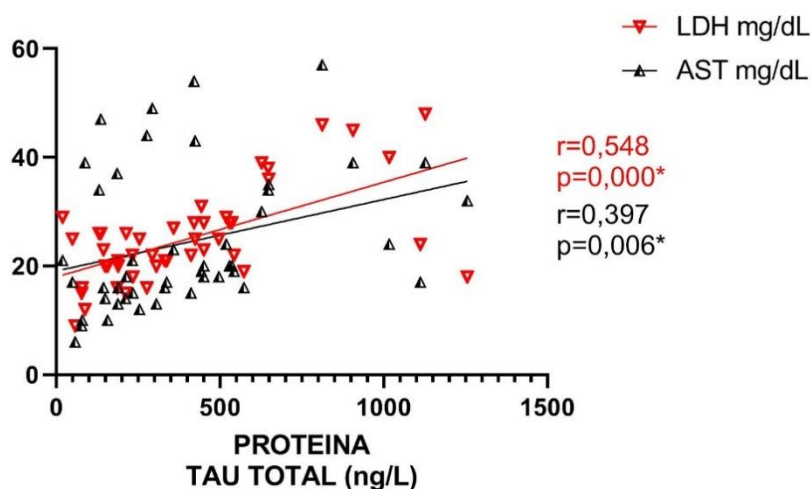
TABELA 2. BETA AMILOIDE, PROTEÍNA TAU E PROTEÍNA TAU FOSFORILADA EM LCR NO GRUPO DE PACIENTES COM COMPROMETIMENTO COGNITIVO LEVE E DA.

	Pacientes Média (ng/L)	Desvio padrão	Grupo de referência Intervalo em grupo saudável
Biomarcadores			
Amiloide beta-42	783,16	±605,12	51 a 70 anos: 562,00 a 1018,00 >= 71 anos: 567,00 a 1027,00
Proteína tau total	402,37	±303,47	51 a 70 anos: 116,00 a 370,00 >= 71 anos: 170,00 a 512,00
Proteína tau fosforilada	63,83	±37,48	45 a 77 anos: 35,84 to 66,26

6.1.3 BIOMARCADORES CLÁSSICOS VS. MARCADORES BIOQUÍMICOS EM LCR

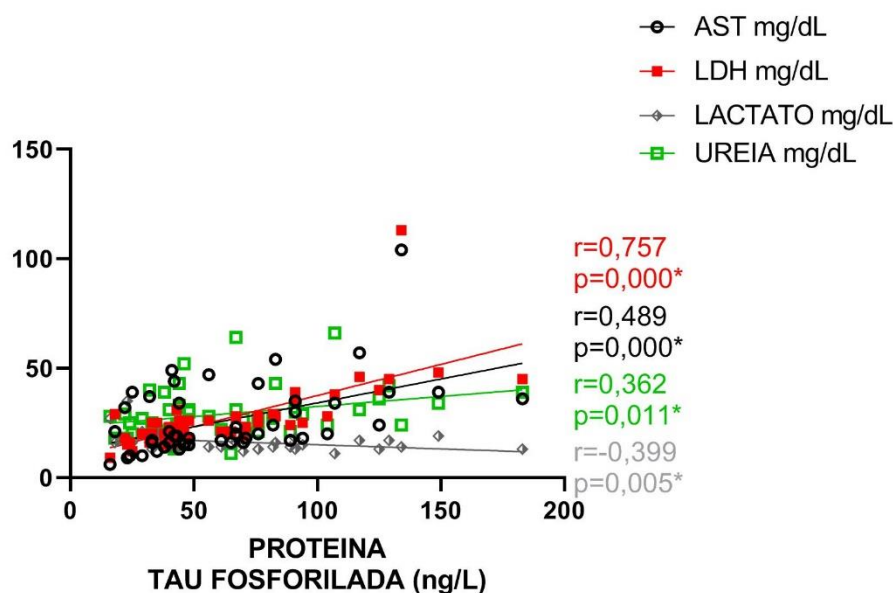
As figuras 7 e 8 apresentam as correlações entre as proteínas t-tau e p-tau com lactato desidrogenase, aspartato aminotransferase, ureia e lactato.

FIGURA 7. CORRELAÇÃO POSITIVA ENTRE OS NÍVEIS EM LCR DA PROTEÍNA TAU TOTAL, LDH E AST NO GRUPO DE PACIENTES COM COMPROMETIMENTO COGNITIVO LEVE E DA.



Spearman's*, $P < 0.05$.

FIGURA 8. CORRELAÇÃO POSITIVA ENTRE OS NÍVEIS SÉRICOS DA PROTEÍNA TAU FOSFORILADA, AST, LDH E UREIA. CORRELAÇÃO NEGATIVA ENTRE OS NÍVEIS SÉRICOS DA PROTEÍNA TAU FOSFORILADA E LACTATO NO GRUPO DE PACIENTES COM TRANSTORNO COGNITIVO LEVE E DA.



Spearman's*, $P < 0.05$.

6.2. DISCUSSÃO

No presente estudo, buscou-se avaliar a correlação entre os biomarcadores de neurodegeneração da DA com o perfil inflamatório no líquido cefalorraquidiano de pacientes com DA e transtorno cognitivo leve. O diagnóstico da DA permanece como desafio para a saúde pública pois a pesquisa de um biomarcador ideal para diagnóstico e acompanhamento continua sendo alvo de muitos estudos.

Os biomarcadores são parâmetros fisiológicos, bioquímicos, anatômicos que podem ser mensurados *in vivo* e são caracterizados por refletir aspectos específicos dos processos fisiopatológicos de uma determinada doença. As evidências atuais sugerem que juntos, o acúmulo de placas de proteína β -amilóide e a deposição de proteína tau nos emaranhados neurofibrilares estão associados a lesão neuronal da DA (JACK et al., 2011). Portanto, a capacidade de estratificar perfis fenotípicos específicos ao somar critérios clínicos e o estudo do LCR torna-se factível.

Os níveis líquóricos das beta-amilóide, T-tau e P-tau apresentados nos pacientes desse estudo seguem o preconizado pela literatura, baixos níveis da beta-amilóide e concentrações mais elevadas das proteínas Tau. Jack e colaboradores, em 2011, e Doecke e colaboradores, em 2018, descrevem os biomarcadores de acúmulo da A β com retenção anormal de marcadores na imagem do PET amiloide, além de níveis baixos de A β 1-42 no LCR, enquanto os biomarcadores de degeneração ou lesão neuronal apresentam concentrações líquóricas elevadas, como as proteínas T-tau e P-tau. Nessa perspectiva os biomarcadores amilóides podem ser anormais de forma precoce, entre 10 e 20 anos antes do limiar clínico da DA. Já os biomarcadores de neurodegeneração tornam-se alterados, frequentemente, pouco antes do aparecimento dos sintomas clínicos (DOECKE *et al.*, 2018; JACK *et al.*, 2011).

Por outro lado, foi apresentado nesse estudo a correlação positiva entre as concentrações líquóricas LDH e ambas as proteínas (T-tau e P-tau). Recentemente o metabolismo da energia cerebral na DA vem recebendo crescente atenção. Estudo em camundongos duplo transgênico para proteína precursora de amilóide / presenilina 1 (APP / PS1) um modelo de DA, demonstrou quantidades reduzidas de neurônios e oligodendrócitos, e aumento dos astrócitos. Nessa perspectiva, o acúmulo de proteína Tau e a formação de placas de A β estão associados a neuroinflamação, estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e déficit de energia (ZHANG *et al.*, 2018).

A enzima glicolítica LDH eleva-se em associação com os danos na membrana plasmática e é frequentemente utilizada como um indicador de morte celular necrótica causada por múltiplos fatores de estresse externos. Investigações revelaram que o estresse oxidativo desempenha um importante papel na fisiopatologia da DA desencadeando a perda de neurônios colinérgicos predominantemente na região anterior do cérebro (YAO; ZHAO; ZU, 2019).

Concentrações líquóricas de lactato nesse estudo, entretanto, apresentaram correlação negativa apenas com a proteína P-Tau. Alterações no metabolismo cerebral da glicose, incluindo glicólise e metabolismo oxidativo, foram evidenciadas em indivíduos com DA familiar antes mesmo da manifestação das placas de A β . No camundongo APP/PS1 ocorre supressão no metabolismo oxidativo da glutamina que pode prejudicar a homeostase da ciclo glutamato-glutamina, inibindo a neurotransmissão e atividade do ciclo do ácido tricarboxílico. Estes achados sugerem que na DA os pacientes podem permanecer em um estado de hipometabolismo

cerebral, justificado pelo declínio no uso da glicose associado a redução metabólica neuronal, dificuldade na captação de glicose, diminuição da atividade da cadeia de transporte de elétrons, disfunção mitocondrial e aumento da produção de oxidantes. Neste ambiente a via glicolítica atua como um mecanismo adaptativo que permite produção de energia, onde células nervosas selecionadas para resistência contra a toxicidade do AB passam a preferir a via glicolítica em detrimento da oxidação mitocondrial. No entanto, mesmo com essa ativação o conteúdo do lactato cerebral ainda é reduzido em ratos tratados com injeções intrahipocámpais de Ab25-35 (modelo de DA) (LU *et al.*, 2015; YIN *et al.*, 2016). Estando assim, em acordo com nossos achados para P-Tau e lactato. Além disso, Liguori e colaboradores, em 2015, em um estudo com 140 indivíduos demonstrou correlação negativa entre os níveis de lactato e P-TAU no LCR semelhante ao nosso estudo. E correlação negativa dos níveis de lactato e T-tau no LCR. Importante apresentar que a medida da concentração de lactato no LCR é utilizada como um marcador de déficit mitocondrial, pois níveis elevados de lactato no LCR podem ocorrer pelo do acúmulo de metabólitos energéticos oriundos da disfunção mitocondrial. Evidências crescentes são sugestivas que a toxicidade da proteína Tau, mediada por emaranhados neurofibrilares pode causar danos no transporte axonal interferindo na função, localização celular e renovação das mitocôndrias (LIGUORI *et al.*, 2015a; LU *et al.*, 2015).

Estudos em modelos animais transgênicos também sugerem que a proteína Tau pode atuar diretamente nas mitocôndrias afetando os complexos da cadeia respiratória. Dessa forma, é possível inferir que o incremento dos níveis de lactato no LCR, pode ser interpretado como um biomarcador da atividade alterada das mitocôndrias nos neurônios da DA. No entanto, apesar dos pacientes com DA demonstrarem os valores médios de lactato no LCR significativamente maiores que nos pacientes saudáveis, esses valores de lactato apresentam correlação negativa com os valores de P-Tau e T-Tau, conforme já descrito (LIGUORI *et al.*, 2015; LU *et al.*, 2015; WYSS-CORAY; ROGERS, 2012; YIN *et al.*, 2016). Os níveis de proteína Tau e a expressão da toxicidade podem exercer um efeito prejudicial sobre todo o metabolismo energético celular. Portanto, é plausível especular que, além do dano mitocondrial, a eficiência e a função do componente glicolítico do sistema energético neuronal estão afetados em formas graves de DA.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente, os únicos biomarcadores do LCR validados para auxiliar no diagnóstico de DA são as proteínas A β (1-42), t-tau e p-tau. Infelizmente, o uso desses biomarcadores é limitado principalmente pelo seu alto custo. Esforços estão em andamento para validação de novos biomarcadores para DA. Até o momento, parece provável que apenas a análise multifacetada tem o poder de assinar o direcionamento diagnóstico da DA. O diagnóstico precoce, rápido e barato se torna peça fundamental em diferenciar a DA de outras formas de demência e avaliar a relevância terapêutica.

Os resultados desse estudo comprovam o papel dos biomarcadores clássicos, como exames complementares, no diagnóstico da DA. Sugerem também que os marcadores inflamatórios (LDH, lactato, AST) estão associados aos biomarcadores de neurodegeneração da DA (p-Tau e t-Tau), estando, portanto, na rota dos candidatos promissores a novos biomarcadores da DA. Embora nossos achados sugiram um papel importante da cascata inflamatória na fisiopatologia da DA, são necessárias mais pesquisas *in vitro* sobre os mecanismos fisiopatológicos implicados e potenciais alvos moleculares para novas terapias.

Neste âmbito, nossos resultados abrem caminho para novas etapas desta pesquisa visando tanto avaliar um maior tamanho amostral quanto realizar análises dos dados coletados utilizando regressão logística para compreender melhor as relações entre as variáveis.

REFERÊNCIAS

- AISEN, Paul S.; CUMMINGS, Jeffrey; JACK, Clifford R.; MORRIS, John C.; SPERLING, Reisa; FRÖLICH, Lutz; JONES, Roy W.; DOWSETT, Sherie A.; MATTHEWS, Brandy R.; RASKIN, Joel; SCHELTENS, Philip; DUBOIS, Bruno. On the path to 2025: Understanding the Alzheimer's disease continuum. **Alzheimer's Research and Therapy**, vol. 9, no. 1, p. 1–10, 2017. <https://doi.org/10.1186/s13195-017-0283-5>.
- ALBERT, Marilyn S.; DEKOSKY, Steven T.; DICKSON, Dennis; DUBOIS, Bruno; FELDMAN, Howard H.; FOX, Nick C.; GAMST, Anthony; HOLTZMAN, David M.; JAGUST, William J.; PETERSEN, Ronald C.; SNYDER, Peter J.; CARRILLO, Maria C.; THIES, Bill; PHELPS, Creighton H. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimer's and Dementia**, vol. 7, no. 3, p. 270–279, 2011. DOI 10.1016/j.jalz.2011.03.008.
- ALEXOPOULOS, Panagiotis; WERLE, Lukas; ROESLER, Jennifer; THIERJUNG, Nathalie; GLEIXNER, Lena Sophie; YAKUSHEV, Igor; LASKARIS, Nikolaos; WAGENPFEIL, Stefan; GOURZIS, Philippos; KURZ, Alexander; PERNECZKY, Robert. Conflicting cerebrospinal fluid biomarkers and progression to dementia due to Alzheimer's disease. **Alzheimer's Research and Therapy**, vol. 8, no. 1, p. 51, 2016. DOI 10.1186/s13195-016-0220-z.
- ALTMANN, Andre; TIAN, Lu; HENDERSON, Victor W.; GREICIUS, Michael D. Sex modifies the *APOE* -related risk of developing Alzheimer disease. **Annals of Neurology**, vol. 75, no. 4, p. 563–573, Apr. 2014. DOI 10.1002/ana.24135.
- ARMSTRONG, Richard A. Risk factors for alzheimer disease. **Folia Neuropathol**, vol. 57, no. 2, p. 87–105, 2019.
- ASSOCIATION ALZHEIMER, Alzheimer. 2016 Alzheimer ' s disease facts and figures. **Alzheimer's & Dementia**, vol. 12, no. 4, p. 459–509, 2016. DOI 10.1016/j.jalz.2016.03.001.
- ATRI, Alireza. T h e A l z h e i m e r ' s D i s e a s e Clinical Spectrum. **Medical Clinics of NA**, vol. 103, no. 2, p. 263–293, 2019. DOI 10.1016/j.mcna.2018.10.009.
- BAYART, Jean Louis; HANSEEUW, Bernard; IVANOIU, Adrian; VAN PESCH, Vincent. Analytical and clinical performances of the automated Lumipulse cerebrospinal fluid A β 42 and T-Tau assays for Alzheimer's disease diagnosis. **Journal of Neurology**, vol. 266, no. 9, p. 2304–2311, 2019. DOI 10.1007/s00415-019-09418-6.
- BEJANIN, Alexandre; SCHONHAUT, Daniel R.; LA JOIE, Renaud; KRAMER, Joel H.; BAKER, Suzanne L.; SOSA, Natasha; AYAKTA, Nagehan; CANTWELL, Averill; JANABI, Mustafa; LAURIOLA, Mariella; O'NEIL, James P.; GORNO-TEMPINI, Maria L.; MILLER, Zachary A.; ROSEN, Howard J.; MILLER, Bruce L.; JAGUST, William J.; RABINOVICI, Gil D. Tau pathology and neurodegeneration contribute to cognitive impairment in Alzheimer's disease. **Brain : a journal of neurology**, vol. 140, no. 12, p. 3286–3300, 1 Dec. 2017. DOI 10.1093/brain/awx243.

BERTENS, Daniela; KNOL, Dirk L.; SCHELTENS, Philip; VISSER, Pieter Jelle. Temporal evolution of biomarkers and cognitive markers in the asymptomatic, MCI, and dementia stage of Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia**, vol. 11, no. 5, p. 511–522, May 2015. DOI 10.1016/j.jalz.2014.05.1754.

BLOUDEK, Lisa M.; SPACKMAN, D. E.; BLANKENBURG, Michael; SULLIVAN, Sean D. Review and Meta-Analysis of Biomarkers and Diagnostic Imaging in Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**. vol. 26, p. 627–645, 2014. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-110458>.

CHÊNE, Geneviève; BEISER, Alexa; AU, Rhoda; PREIS, Sarah R.; WOLF, Philip A.; DUFOUIL, Carole; SESHADRI, Sudha. Gender and incidence of dementia in the Framingham Heart Study from mid-adult life. **Alzheimer's and Dementia**, vol. 11, no. 3, p. 310–320, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2013.10.005>.

CROUS-BOU, Marta; MINGUILLÓN, Carolina; GRAMUNT, Nina; MOLINUEVO, José Luis. Alzheimer's disease prevention: From risk factors to early intervention. **Alzheimer's Research and Therapy**, vol. 9, no. 1, p. 1–9, 2017. <https://doi.org/10.1186/s13195-017-0297-z>.

DOECKE, James D.; REMBACH, Alan; VILLEMAGNE, Victor L.; VARGHESE, Shiji; RAINEY-SMITH, Stephanie; SARROS, Shannon; EVERED, Lisbeth A.; FOWLER, Christopher J.; PERTILE, Kelly K.; RUMBLE, Rebecca L.; TROUNSON, Brett; TADDEI, Kevin; LAWS, Simon M.; MACAULAY, S Lance; BUSH, Ashley I.; ELLIS, Kathryn A.; MARTINS, Ralph; AMES, David; SILBERT, Brendan. Concordance Between Cerebrospinal Fluid Biomarkers with Alzheimer's Disease Pathology Between Three Independent Assay Platforms. **Journal of Alzheimer's disease : JAD**, vol. 61, no. 1, p. 169–183, 28 Nov. 2018. DOI 10.3233/JAD-170128.

EMILIO, Herrera; JR., Paulo Caramelli; ANA, Silvia Barreiros Silveira; RICARDO, Nitrini. Epidemiologic Survey of Dementia in a Community-Dwelling Brazilian Population. **Alzheimer Disease and Associated Disorders**, vol. 16, no. 2, p. 103–108, 2002. DOI 10.1097/01.WAD.0000020202.50697.df.

ERATNE, Dhamidhu; LOI, Samantha M.; FARRAND, Sarah; KELSO, Wendy; VELAKOULIS, Dennis; LOOI, Jeffrey C.L. Alzheimer's disease: clinical update on epidemiology, pathophysiology and diagnosis. **Australasian Psychiatry**, vol. 26, no. 4, p. 347–357, 2018. <https://doi.org/10.1177/1039856218762308>.

FERREIRA, Daniel; PERESTELO-PÉREZ, Lilisbeth; WESTMAN, Eric; WAHLUND, Lars-Olof; SARRÍA, Antonio; SERRANO-AGUILAR, Pedro. Meta-Review of CSF Core Biomarkers in Alzheimer's Disease: The State-of-the-Art after the New Revised Diagnostic Criteria. **Frontiers in Aging Neuroscience**, vol. 6, 24 Mar. 2014. DOI 10.3389/fnagi.2014.00047.

FRÖLICH, Lutz; PETERS, Oliver; LEWCZUK, Piotr; GRUBER, Oliver; TEIPEL, Stefan J.; GERTZ, Hermann J.; JAHN, Holger; JESSEN, Frank; KURZ, Alexander; LUCKHAUS, Christian; HÜLL, Michael; PANTEL, Johannes; REISCHIES, Friedel M.; SCHRÖDER, Johannes; WAGNER, Michael; RIENHOFF, Otto; WOLF, Stefanie; BAUER, Chris; SCHUCHHARDT, Johannes; KORNHUBER, Johannes. Incremental value of biomarker combinations to predict progression of mild cognitive impairment to Alzheimer's dementia. **Alzheimer's research & therapy**, vol. 9, no. 1, p. 84, 10

Oct. 2017. DOI 10.1186/s13195-017-0301-7.

GANDY, Sam; DEKOSKY, Steven T. Toward the Treatment and Prevention of Alzheimer's Disease: Rational Strategies and Recent Progress. **Annual Review of Medicine**, vol. 64, no. 1, p. 367–383, 2013. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-092611-084441>.

GRASSET, Leslie; BRAYNE, Carol; JOLY, Pierre; JACQMIN-GADDA, Hélène; PERES, Karine; FOUBERT-SAMIER, Alexandra; DARTIGUES, Jean François; HELMER, Catherine. Trends in dementia incidence: Evolution over a 10-year period in France. **Alzheimer's and Dementia**, vol. 12, no. 3, p. 272–280, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2015.11.001>.

GREMER, Lothar; SCH OLZEL, Daniel; SCHENK, Carla; REINARTZ, Elke; LABAHN, J org; RAVELLI, Raimond B G; TUSCHE, Markus; LOPEZ-IGLESIAS, Carmen; HOYER, Wolfgang; HEISE, Henrike; WILLBOLD, Dieter; SCHRÖDER, Gunnar F. Fibril structure of amyloid- b (1 – 42) by cryo – electron microscopy. vol. 119, p. 116–119, 2017.

HEBERT, Liesi E.; WEUVE, Jennifer; SCHERR, Paul A.; EVANS, Denis A. Alzheimer disease in the United States (2010-2050) estimated using the 2010 census. **Neurology**, vol. 80, no. 19, p. 1778–1783, 2013. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31828726f5>.

HUMPEL, Christian. Identifying and validating biomarkers for Alzheimer's disease. **Trends in Biotechnology**, vol. 29, no. 1, p. 26–32, 2011. DOI 10.1016/j.tibtech.2010.09.007.

HUMPEL, Christian. Platelets: Their Potential Contribution to the Generation of Beta-amyloid Plaques in Alzheimer's Disease. **Current Neurovascular Research**, vol. 14, no. 3, 25 Aug. 2017. DOI 10.2174/1567202614666170705150535.

JACK, Clifford R.; ALBERT, Marilyn S.; KNOPMAN, David S.; MCKHANN, Guy M.; SPERLING, Reisa A.; CARRILLO, Maria C.; THIES, Bill; PHELPS, Creighton H. Introduction to the recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia**, vol. 7, no. 3, p. 257–262, 2011. DOI 10.1016/j.jalz.2011.03.004.

KAERST, Lisa; KUHLMANN, Andre; WEDEKIND, Dirk; STOECK, Katharina; LANGE, Peter; ZERR, Inga. Using Cerebrospinal Fluid Marker Profiles in Clinical Diagnosis of Dementia with Lewy Bodies, Parkinson's Disease, and Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, vol. 38, no. 1, p. 63–73, 29 Oct. 2013. DOI 10.3233/JAD-130995.

KOYCHEV, Ivan; GUNN, Roger N.; FIROUZIAN, Azadeh; LAWSON, Jennifer; ZAMBONI, Giovanna; RIDHA, Basil; SAHAKIAN, Barbara J.; ROWE, James B.; THOMAS, Alan; ROCHESTER, Lynn; FFYTCH, Dominic; HOWARD, Robert; ZETTERBERG, Henrik; MACKAY, Clare; LOVESTONE, Simon. PET Tau and Amyloid-  Burden in Mild Alzheimer's Disease: Divergent Relationship with Age, Cognition, and Cerebrospinal Fluid Biomarkers. **Journal of Alzheimer's disease**, vol. 60, no. 1, p. 283–293, 29 Aug. 2017. DOI 10.3233/JAD-170129.

LIGUORI, C; STEFANI, A; SANCESARIO, G; SANCESARIO, G M; MARCIANI, M G; PIERANTOZZI, M. CSF lactate levels, τ proteins, cognitive decline: a dynamic relationship in Alzheimer's disease. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, vol. 86, no. 6, p. 655–659, Jun. 2015b. DOI 10.1136/jnnp-2014-308577.

LU, Weitian; HUANG, Juan; SUN, Shanquan; HUANG, Siqin; GAN, Shengwei; XU, Jin; YANG, Mei; XU, Shiye; JIANG, Xuli. Changes in lactate content and monocarboxylate transporter 2 expression in A β 25-35-treated rat model of Alzheimer's disease. **Neurological Sciences**, vol. 36, no. 6, p. 871–876, 2015. <https://doi.org/10.1007/s10072-015-2087-3>.

MARK, Mattson. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. **Nature**, vol. 430, p. 631–639, 2004. <https://doi.org/10.1057/palgrave.development.1100421>.

MCFARLAND, Nikolaus R. Diagnostic Approach to Atypical Parkinsonian Syndromes. **Continuum (Minneapolis, Minn)**, , p. 1117–1142, 2016. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000348>.

MCKHANN, Guy; DRACHMAN, David; FOLSTEIN, Marshall; KATZMAN, Robert; PRICE, Donald; STADLAN, Emanuel 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**, vol. 34, no. 7, p. 939–944, 1984. <https://doi.org/10.1212/wnl.34.7.939>.

MCKHANN, Guy M.; KNOPMAN, David S.; CHERTKOW, Howard; HYMAN, Bradley T.; JACK, Clifford R.; KAWAS, Claudia H.; KLUNK, William E.; KOROSHETZ, Walter J.; MANLY, Jennifer J.; MAYEUX, Richard; MOHS, Richard C.; MORRIS, John C.; ROSSOR, Martin N.; SCHELTENS, Philip; CARRILLO, Maria C.; THIES, Bill; WEINTRAUB, Sandra; PHELPS, Creighton H. 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 and Dementia**, vol. 7, no. 3, p. 263–269, 2011. DOI 10.1016/j.jalz.2011.03.005.

NAJ, Adam C.; SCHELLENBERG, Gerard D. Genomic Variants, Genes, and Pathways of Alzheimer's Disease : An Overview. 2016. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32499>.

NHO, Kwangsik; KUEIDER-PAISLEY, Alexandra; AHMAD, Shahzad; MAHMOUDI ANDEHKORDI, Siamak; ARNOLD, Matthias; RISACHER, Shannon L.; LOUIE, Gregory; BLACH, Colette; BAILLIE, Rebecca; HAN, Xianlin; KASTENMÜLLER, Gabi; TROJANOWSKI, John Q.; SHAW, Leslie M.; WEINER, Michael W.; DORAISWAMY, P. Murali; VAN DUIJN, Cornelia; SAYKIN, Andrew J.; KADDURAH-DAOUK, Rima. Association of Altered Liver Enzymes With Alzheimer Disease Diagnosis, Cognition, Neuroimaging Measures, and Cerebrospinal Fluid Biomarkers. **JAMA network open**, vol. 2, no. 7, p. e197978, 2019. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.7978>.

NICHOLS, Emma; SZOEKE, Cassandra E.I.; VOLLSET, Stein Emil; ABBASI, Nooshin; ABD-ALLAH, Foad; ABDELA, Jemal; AICHOOR, Miloud Taki Eddine; AKINYEMI, Rufus O.; ALAHDAB, Fares; ASGEDOM, Solomon W.; AWASTHI, Ashish; BARKER-COLLO, Suzanne L.; BAUNE, Bernhard T.; BÉJOT, Yannick;

BELACHEW, Abate B.; BENNETT, Derrick A.; BIADGO, Belete; BIJANI, Ali; BIN SAYEED, Muhammad Shahdaat; MURRAY, Christopher J.L. Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **The Lancet Neurology**, vol. 18, no. 1, p. 88–106, 2019. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30403-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30403-4).

PORTELIUS, Erik; BRINKMALM, Gunnar; PANNEE, Josef; ZETTERBERG, Henrik; BLENNOW, Kaj; DAHLÉN, Rahil; BRINKMALM, Ann; GOBOM, Johan. Proteomic studies of cerebrospinal fluid biomarkers of Alzheimer's disease: An update. **Expert Review of Proteomics**, vol. 14, no. 11, p. 1007–1020, 2017. DOI 10.1080/14789450.2017.1384697.

REITZ, Christiane; MAYEUX, Richard. Alzheimer disease: Epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. **Biochemical Pharmacology**, vol. 88, no. 4, p. 640–651, 2014. DOI 10.1016/j.bcp.2013.12.024.

RIVERO-SANTANA, Amado; FERREIRA, Daniel; PERESTELO-PÉREZ, Lilisbeth; WESTMAN, Eric; WAHLUND, Lars-Olof; SARRÍA, Antonio; SERRANO-AGUILAR, Pedro. Cerebrospinal Fluid Biomarkers for the Differential Diagnosis between Alzheimer's Disease and Frontotemporal Lobar Degeneration: Systematic Review, HSROC Analysis, and Confounding Factors. **Journal of Alzheimer's disease**, vol. 55, no. 2, p. 625–644, 2017. DOI 10.3233/JAD-160366.

SCARABINO, Daniela; BROGGIO, Elisabetta; GAMBINA, Giuseppe; CORBO, Rosa Maria. Leukocyte telomere length in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease patients. **Experimental Gerontology**, vol. 98, p. 143–147, 1 Nov. 2017. DOI 10.1016/j.exger.2017.08.025.

SCHELTENS, Philip; BLENNOW, Kaj; BRETELER, Monique M.B.; DE STROOPER, Bart; FRISONI, Giovanni B.; SALLOWAY, Stephen; VAN DER FLIER, Wiesje Maria. Alzheimer's disease. **The Lancet**, vol. 388, no. 10043, p. 505–517, 2016. DOI 10.1016/S0140-6736(15)01124-1.

SILVA, Marcos Vinícius Ferreira; LOURES, Cristina De Mello Gomide; ALVES, Luan Carlos Vieira; DE SOUZA, Leonardo Cruz; BORGES, Karina Braga Gomes; CARVALHO, Maria Das Graças. Alzheimer's disease: Risk factors and potentially protective measures. **Journal of Biomedical Science**, vol. 26, no. 1, p. 1–11, 2019. <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0524-y>.

SNEHAM, Tiwari; ATLURI, Venkata; KAUSHIK, Ajeet; YNDART, Adriana; NAIR, Madhavan. Alzheimer's disease : pathogenesis , diagnostics , and therapeutics. **International Journal of Nanomedicine**, vol. 14, p. 5541–5554, 2019.

TÖNNIES, Eric; TRUSHINA, Eugenia. Oxidative Stress, Synaptic Dysfunction, and Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, vol. 57, no. 4, p. 1105–1121, 19 Apr. 2017. DOI 10.3233/JAD-161088.

TUMMINIA, Andrea; VINCIGUERRA, Federica; PARISI, Miriam; FRITTITTA, Lucia. Type 2 Diabetes Mellitus and Alzheimer's Disease: Role of Insulin Signalling and Therapeutic Implications. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 19, no. 11, p. 3306, 24 Oct. 2018. DOI 10.3390/ijms19113306.

VAN WAALWIJK VAN DOORN, Linda J.C.; GISPERT, Juan D.; KUIPERIJ, H. Bea; CLAASSEN, Jurgen A.H.R.; ARIGHI, Andrea; BALDEIRAS, Inês; BLENNOW, Kaj; BOZZALI, Marco; CASTELO-BRANCO, Miguel; CAVEDO, Enrica; EMEK-SAVAŞ, Derya D.; EREN, Erden; EUSEBI, Paolo; FAROTTI, Lucia; FENOGLIO, Chiara; ORMAECHEA, Juan Fortea; FREUND-LEVI, Yvonne; FRISONI, Giovanni B.; GALIMBERTI, Daniela; VERBEEK, Marcel M. Improved Cerebrospinal Fluid-Based Discrimination between Alzheimer's Disease Patients and Controls after Correction for Ventricular Volumes. **Journal of Alzheimer's Disease**, vol. 56, no. 2, p. 543–555, 2017. <https://doi.org/10.3233/JAD-160668>.

VILATELA, Alonso; MARISOL, L; YESCAS-G, Petra. Genetics of Alzheimer ' s Disease. vol. 43, p. 622–631, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2012.10.017>.

WEINER, Michael W.; VEITCH, Dallas P.; AISEN, Paul S.; BECKETT, Laurel A.; CAIRNS, Nigel J.; CEDARBAUM, Jesse; GREEN, Robert C.; HARVEY, Danielle; JACK, Clifford R.; JAGUST, William; LUTHMAN, Johan; MORRIS, John C.; PETERSEN, Ronald C.; SAYKIN, Andrew J.; SHAW, Leslie; SHEN, Li; SCHWARZ, Adam; TOGA, Arthur W.; TROJANOWSKI, John Q. 2014 Update of the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative: A review of papers published since its inception. **Alzheimer's & Dementia**, vol. 11, no. 6, p. e1–e120, Jun. 2015. DOI 10.1016/j.jalz.2014.11.001.

WYSS-CORAY, Tony; ROGERS, Joseph. Inflammation in Alzheimer disease-A brief review of the basic science and clinical literature. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, vol. 2, no. 1, p. 1–24, 2012. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006346>.

YAO, Kai; ZHAO, Yong Fei; ZU, Heng Bing. Melatonin receptor stimulation by agomelatine prevents A β -induced tau phosphorylation and oxidative damage in PC12 cells. **Drug Design, Development and Therapy**, vol. 13, p. 387–396, 2019. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S182684>.

YIN, Fei; SANCHETI, Harsh; PATIL, Ishan; CADENAS, Enrique. Energy metabolism and inflammation in brain aging and Alzheimer's disease. **Free Radical Biology and Medicine**, vol. 100, p. 108–122, 2016. DOI 10.1016/j.freeradbiomed.2016.04.200.

ZETTERBERG, Henrik; ROHRER, Jonathan D.; SCHOTT, Jonathan M. Cerebrospinal fluid in the dementias. p. 85–97, 2018. DOI 10.1016/B978-0-12-804279-3.00006-X.

ZHANG, Mao; CHENG, Xiaofang; DANG, Ruozhi; ZHANG, Weiwei; ZHANG, Jie; YAO, Zhongxiang. Lactate deficit in an Alzheimer disease mouse model: The relationship with neuronal damage. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, vol. 77, no. 12, p. 1163–1176, 2018. <https://doi.org/10.1093/jnen/nly102>.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre esclarecido

Universidade Estadual da Bahia

Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas

1. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

ESTUDO: Aspectos clínicos, fatores de prognóstico, biomarcadores e o papel do perfil inflamatório/infeccioso no líquido cefalorraquidiano.

Você está sendo convidado (a) a participar do projeto de pesquisa acima citado. Antes de você assinar é necessário que você compreenda as explicações a seguir. Esta declaração esclarece o objetivo, procedimentos, benefícios, riscos, desconfortos e cuidados durante o estudo. Sua colaboração neste estudo será de muita importância para nós, mas se desistir a qualquer momento, isso não causará nenhum prejuízo a você.

DADOS DO PARTICIPANTE OU RESPONSÁVEL LEGAL

Nome: _____

Documento de Identidade: _____ Sexo: M [] F []

Data de Nascimento: ____/____/____

Endereço: _____ Nº _____ Compl.: _____

Bairro: _____ CEP: _____

Cidade: _____ Estado: _____

Telefones para contato: () _____ / _____

E-mail (opcional): _____

- I. **Objetivos do estudo** – O (a) Senhor (a) está sendo convidado (a) a participar de um estudo sobre a doença de Alzheimer, uma doença crônica que afeta o cérebro. Este estudo tem como objetivo buscar indicadores para diagnosticar a doença de Alzheimer e entender sua evolução. Nós procuraremos esses indicadores no seu sangue e no seu líquido (líquido da espinha).
- II. **Quem é convidado a participar do estudo** – Neste estudo estão sendo convidados pessoas de ambos os sexos atendidas no laboratório de Liquorologia da Bahia para realização de punção liquórica.
- III. **Como será feito o estudo** – Para participar deste estudo você terá que aceitar ser submetido a punção liquórica e punção venosa uma única vez e sua participação começará somente após a assinatura deste documento.

Neste estudo participarão 150 pacientes divididos em 04 grupos, a saber:

1-pacientes com provável DA

2-pacientes com transtorno cognitivo leve

3-pacientes com outras formas de demência

4-pacientes não dementes (cognitivamente normais)

- IV. **Benefícios para o participante** - A participação neste projeto não tem objetivo de tratamento e não haverá nenhum custo para você.
- V. **Desconfortos e riscos esperados** - Será realizada a coleta do líquido da espinha indicada pelo seu médico que já faz parte do seu acompanhamento ambulatorial, sendo necessária apenas uma coleta. O procedimento será realizado por equipe especializada em coleta de líquido de acordo com todas as normas internacionais. Durante o procedimento o (a) senhor (a) será orientado a se deitar de lado, em posição fetal (como um bebê na barriga da mãe). Em seguida o médico irá desinfetar a pele e introduzir uma agulha descartável que vai passar pelo espaço

entre duas vértebras da sua coluna até chegar ao reservatório onde se acumula o líquido. A dor é semelhante à de uma coleta de sangue. Serão coletados entre 10 e 20 mL do líquido da sua espinha (1 a 2 colheres de sopa). O (a) Senhor (a) poderá sentir dor de cabeça após a coleta, para evitar que isso aconteça deve permanecer em REPOUSO por algumas horas e beber muito líquido. Aproximadamente 10% das pessoas, mesmo com esse cuidado, poderão sentir dor de cabeça. Essa dor pode ser forte, acontece ao levantar e melhora ao deitar. Se tiver essa dor de cabeça, e somente se tiver essa dor, deverá ficar em repouso absoluto por 48 horas seguidas, deitado (a), de preferência na posição de barriga para baixo, tomando muita água e outras bebidas hidratantes.

Além disso, será realizada a coleta do sangue, 10 mL aproximadamente (1 colher de sopa), será feita com uma agulha esterilizada, limpa, ligada a um tubo contendo anticoagulante e será colocada em uma veia do seu antebraço, puxando o sangue para dentro do tubo por um processo de vácuo. Esse procedimento pode causar um pequeno sangramento, uma mancha roxa ou vermelha (hematoma) na pele (que desaparecerá em pouco tempo), e em casos muito extremos, desmaio. Mas lembramos que essa coleta será realizada por uma equipe treinada que faz parte do laboratório Jaime Cerqueira.

- VI. **Interrupção na participação do estudo** - A participação nesse estudo é voluntária. Se você escolher não participar seus direitos serão preservados e não sofrerá nenhum tipo de punição. Se decidir participar, você poderá se retirar do estudo a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo ou recusar qualquer procedimento, nesse caso, por favor, comunique a equipe do estudo.
- VII. **Garantia de acesso** – A qualquer momento, se você tiver alguma preocupação ou dúvidas sobre a pesquisa, poderá entrar em contato com o responsável pelo estudo. Poderá também contatar o Comitê de Ética em Pesquisa em seres humanos da UNEBs – CEP/UNEB, no telefone (71) 3117-2399 ou através do e-mail cepuneb@uneb.br ou o pesquisador responsável pela pesquisa Prof. Dr. Bruno Antônio Veloso Cerqueira, telefone (71) 9199-5894, ou e-mail bcerqueira@uneb.br para recursos ou reclamações em relação ao presente estudo.
- VIII. **Direito de confidencialidade** - Todas as informações deste estudo são confidenciais. Seu nome ou qualquer dado que possa identificá-lo não será publicado na divulgação dos resultados. Somente pessoas que fazem parte da equipe da pesquisa poderão ter acesso aos seus registros.

Esse acesso será utilizado para realizar, acompanhar a pesquisa e analisar os dados obtidos. As normas brasileiras que o protegem serão respeitadas.

- IX. Você tem a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração neste estudo no momento em que desejar sem necessidade de qualquer explicação. A desistência não causará nenhum prejuízo a sua saúde ou bem-estar físico e não irá interferir no atendimento ou tratamento médico que você possa estar recebendo;
- X. Caso desejar, poderá tomar conhecimento dos resultados ao final desta pesquisa.

Armazenamento do material coletado - As amostras do material que você doou para este estudo serão utilizadas para analisar indicadores de diagnóstico e evolução da doença de Alzheimer. Após o processamento das amostras poderá haver sobra desse material que iremos armazenar para futuras pesquisas. Todo material será identificado apenas com um código (o nome do participante não será utilizado) e não poderá ser vendido nem utilizado para fazer produtos comerciais. O processamento das amostras será feito por especialistas em laboratório de modo a separar partes importantes de sua amostra para os projetos. O armazenamento destas amostras está incluso na participação do estudo. Se você não concordar que suas amostras sejam armazenadas, por favor informe a equipe que você prefere não participar. Se você concordar em participar, a qualquer momento poderá mudar de ideia em relação à autorização do armazenamento das amostras. Caso mude de ideia, telefone ou escreva para o responsável pela pesquisa do estudo para informá-los. A partir de então as amostras não serão disponibilizadas para pesquisa e serão destruídas. É importante que você saiba que para utilizar essas amostras armazenadas no futuro, o pesquisador terá que apresentar um novo projeto de pesquisa para ser analisado e aprovado pelo Comitê de Ética deste Instituto e pelo responsável por esta pesquisa. O material biológico obtido para esta pesquisa será armazenado de acordo com as normas do Conselho Nacional de Saúde que regulam o armazenamento de material biológico humano ou uso de material armazenado em pesquisas, e poderá ser armazenado por até 10 anos (Resolução 441/2011). Asseguramos que quaisquer dados são confidenciais e não serão repassados a terceiros como: seguradoras, empregadores, supervisores hierárquicos, entre outros. Ainda, você poderá escolher se será informado ou não do resultado de exames e de todos os dados que resultarão deste projeto. Os dados individuais não serão publicados de forma a se identificar o participante, em nenhuma hipótese.

- XI. O participante da pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.
 - XII. O pesquisador responsável deverá, da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo. O TCLE será emitido em duas cópias, sendo que uma cópia ficará com o participante da pesquisa e a outra com o pesquisador responsável.
 - XIII. Este convite está de acordo com a Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012.
-

2. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Acredito ter sido suficientemente informado(a) a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim sobre o estudo “Aspectos clínicos, fatores de prognóstico, biomarcadores e o papel do perfil inflamatório/infeccioso no líquido cefalorraquidiano”. Eu discuti com os pesquisadores responsáveis e está claro para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, quais são seus desconfortos, riscos e a garantia de confidencialidade dos meus dados. Entendo que sempre que eu tiver dúvidas elas serão esclarecidas e que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente em fazer parte deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

Concordo que o material colhido possa ser utilizado em outros projetos desde que autorizado pelo Comitê de Ética deste Instituto e pelo responsável por esta pesquisa. Caso minha manifestação seja positiva, poderei retirar essa autorização a qualquer momento sem qualquer prejuízo para mim.

() Sim ou () Não

Resultados da pesquisa:

() Desejo conhecer os resultados desta pesquisa.

() Não desejo conhecer os resultados desta pesquisa.

Nome do participante: _____

(como escrito no documento de identidade)

Assinatura do participante: _____ Data ___/___/___

Testemunha (para casos de participantes analfabetos, semianalfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual):

Testemunha 1: _____

Nome / RG / Telefone

a. Testemunha 2:

Nome / RG / Telefone

DECLARAÇÃO DO PESQUISADOR

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido deste voluntário para a participação neste estudo e forneci uma cópia ao participante deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Nome do profissional que obteve o consentimento: _____

Assinatura: _____ Data ___/___/___

ANEXOS

ANEXO A – Mini-exame do estado mental

MINI EXAME DO ESTADO MENTAL

Orientação Temporal Espacial – questão 2.a até 2.j pontuando 1 para cada resposta correta, máximo de 10 pontos.

Registros – questão 3.1 até 3.d pontuação máxima de 3 pontos.

Atenção e cálculo – questão 4.1 até 4.f pontuação máxima 5 pontos.

Lembrança ou memória de evocação – 5.a até 5.d pontuação máxima 3 pontos.

Linguagem – questão 5 até questão 10, pontuação máxima 9 pontos.


Identificação do cliente

Nome: _____


Data de nascimento/idade: _____ Sexo: _____

Escolaridade: Analfabeto () 0 à 3 anos () 4 à 8 anos () mais de 8 anos ()

Avaliação em: ____/____/____ Avaliador: _____.

Pontuações máximas	Pontuações máximas
<p>Orientação Temporal Espacial</p> <p>1. Qual é o (a) Dia da semana? _____ 1 Dia do mês? _____ 1 Mês? _____ 1 Ano? _____ 1 Hora aproximada? _____ 1</p> <p>2. Onde estamos?</p> <p>Local? _____ 1 Instituição (casa, rua)? _____ 1 Bairro? _____ 1 Cidade? _____ 1 Estado? _____ 1</p>	<p>Linguagem</p> <p>5. Aponte para um lápis e um relógio. Faça o paciente dizer o nome desses objetos conforme você os aponta _____ 2</p> <p>6. Faça o paciente. Repetir “nem aqui, nem ali, nem lá”. _____ 1</p> <hr/> <p>7. Faça o paciente seguir o comando de 3 estágios. “Pegue o papel com a mão direita. Dobre o papel ao meio. Coloque o papel na mesa”. _____ 3</p>
<p>Registros</p> <p>1. Mencione 3 palavras levando 1 segundo para cada uma. Peça ao paciente para repetir as 3 palavras que você mencionou. Estabeleça um ponto para cada resposta correta. -Vaso, carro, tijolo _____ 3</p>	<p>8. Faça o paciente ler e obedecer ao seguinte: FECHE OS OLHOS. _____ 1</p> <p>09. Faça o paciente escrever uma frase de sua própria autoria. (A frase deve conter um sujeito e um objeto e fazer sentido). (Ignore erros de ortografia ao marcar o ponto) _____ 1</p>
<p>3. Atenção e cálculo</p> <p>Sete seriado (100-7=93-7=86-7=79-7=72-7=65). Estabeleça um ponto para cada resposta correta. Interrompa a cada cinco respostas. Ou soletrar a palavra MUNDO de trás para frente. _____ 5</p>	<p>10. Copie o desenho abaixo. Estabeleça um ponto se todos os lados e ângulos forem preservados e se os lados da interseção formarem um quadrilátero. _____ 1</p>
<p>4. Lembranças (memória de evocação)</p> <p>Pergunte o nome das 3 palavras aprendidas na questão 2. Estabeleça um ponto para cada resposta correta. _____ 3</p>	

ANEXO B – Clinical Dementia Rating



GOVERNO DO ESTADO DA BAHIA
 Secretaria da Saúde do Estado da Bahia
 Superintendência de Assistência Farmacêutica, Ciência e Tecnologias em Saúde.
 Diretoria de Assistência Farmacêutica
 Coordenação de Assistência Farmacêutica na Atenção Especializada

ESCALA CDR (CLINICAL DEMENTIA RATING)

Nome do paciente: _____

Data da avaliação: ____/____/____

Escore final categórico: _____

	Saudável CDR 0	Demência questionável CDR 0,5	Demência leve CDR 1	Demência moderada CDR 2	Demência grave CDR 3
MEMÓRIA	Sem perda de memória, ou apenas esquecimento discreto e inconsistente.	Esquecimento leve e consistente; lembrança parcial de eventos; "esquecimento benigno".	Perda de memória moderada, mais acentuada para fatos recentes; o déficit interfere com atividades do dia-a-dia.	Perda de memória grave; apenas material <i> muito </i> aprendido é retido; materiais novos são rapidamente perdidos.	Perda de memória grave; permanecem apenas fragmentos.
ORIENTAÇÃO	Plenamente orientado.	Plenamente orientado.	Dificuldade moderada com relações temporais; orientado no espaço durante o exame, mas pode ter desorientação geográfica em outros locais.	Geralmente desorientado.	Orientação pessoal apenas.
JULGAMENTO E SOLUÇÃO DE PROBLEMAS	Resolve bem problemas do dia-a-dia, juízo crítico é bom em relação ao desempenho passado.	Leve comprometimento da solução de problemas, semelhanças e diferenças.	Dificuldade moderada da solução de problemas, semelhanças e diferenças; julgamento social geralmente mantido.	Solução de problemas, semelhanças e diferenças gravemente comprometidas. Juízo social geralmente comprometido.	Incapaz de resolver problemas ou de ter qualquer juízo crítico.
ASSUNTOS NA COMUNIDADE	Atuação independente na função habitual de trabalho, compras, negócios, finanças e grupos sociais.	Leve dificuldade nessas atividades.	Incapaz de funcionar independentemente nessas atividades, embora ainda possa desempenhar algumas; pode parecer normal à avaliação superficial.	Sem possibilidade de desempenho fora de casa. Parece suficientemente bem para ser levado a atividades fora de casa.	Sem possibilidade de desempenho fora de casa. Parece muito doente para ser levado a atividades fora de casa.

LAR E PASSATEMPOS	Vida em casa, passatempos e interesses intelectuais mantidos.	Vida em casa, passatempos e interesses intelectuais levemente afetados.	Comprometimento leve mas evidente em casa; abandono das tarefas mais difíceis; passatempos e interesses mais complicados são também abandonados.	Só realiza as tarefas mais simples. Interesses muito limitados e pouco mantidos.	Sem qualquer atividade significativa em casa.				
CUIDADOS PESSOAIS	Plenamente capaz.	Plenamente capaz.	Necessita assistência ocasional.	Requer assistência no vestir e na higiene.	Requer muito auxílio nos cuidados pessoais. Geralmente incontinentemente.				

Assinatura e carimbo do médico: _____

Elaborador: Coafe

Versão: 01/2018
Página 2 de 2

ANEXO C – Escala de depressão geriátrica

Escala de Depressão Geriátrica de Yesavage – versão reduzida (GDS-15)

A Escala de Depressão Geriátrica em versão reduzida de Yesavage (GDS-15). Amplamente utilizada e validada como instrumento diagnóstico de depressão em pacientes idosos. É um teste para detecção de sintomas depressivos no idoso, com 15 perguntas negativas/afirmativas onde o resultado de 5 ou mais pontos diagnóstica depressão, sendo que o escore igual ou maior que 11 caracteriza depressão grave.

1	Você está satisfeito com a sua vida?
2	Você deixou de lado muitos de suas atividades e interesses?
3	Você sente que sua vida está vazia?
4	Você sente-se aborrecido com frequência?
5	Está você de bom humor na maioria das vezes?
6	Você teme que algo de ruim lhe aconteça?
7	Você se sente feliz na maioria das vezes?
8	Você se sente frequentemente desamparado?
9	Você prefere permanecer em casa do que sair e fazer coisas novas?
10	Você sente que tem mais problemas de memória que antes?
11	Você pensa que é maravilhoso estar vivo?
12	Você se sente inútil?
13	Você se sente cheio de energia?
14	Você sente que sua situação é sem esperança?
15	Você pensa de que a maioria das pessoas estão melhores do que você?
Contagem máxima de GDS = 15	

ANEXO D – Comprovante de submissão do artigo

JN

Journal of Neurology (JOON) <em@editorialmanager.com>

Sex, 01/01/2021 19:08

Para: Leidson Rodrigo Teixeira Ribeiro

Dear Mr. Ribeiro,

Thank you for submitting your manuscript, Alzheimer's Disease: Biomarkers and the role of the inflammatory profile in the cerebrospinal fluid., to Journal of Neurology.

The submission id is: JOON-D-21-00009

Please refer to this number in any future correspondence.

During the review process, you can keep track of the status of your manuscript.

Your username is: Leidson

If you forgot your password, you can click the 'Send Login Details' link on the EM Login page at <https://www.editorialmanager.com/joon/>

Should you require any further assistance please feel free to e-mail the Editorial Office by clicking on "Contact Us" in the menu bar at the top of the screen.

With kind regards,
Springer Journals Editorial Office
Journal of Neurology

ANEXO E – Artigo Científico**Alzheimer's Disease: Biomarkers and the role of the inflammatory profile in the cerebrospinal fluid.**

Leidson Rodrigo Teixeira Ribeiro 1, Glesley Vito Lima Lemos 1, Luan Cezar Côrtes Silva 2, Conceição Neves Ferraz 3, Aníbal de Freitas Santos Júnior 1, Bruno Antonio Veloso Cerqueira 1.

1 Departamento de Ciências da Vida, Universidade Estadual da Bahia, Rua Silveira Martins, 2555, Salvador, BA, Brasil.

2 Departamento de Neurologia, Hospital São Rafael, Monte Tabor Centro Ítalo-Brasileiro de Promoção Sanitária, Salvador, BA, Brasil.

3 Laboratório de Liquorologia da Bahia, Av. Manoel Dias da Silva, 1644, Salvador, BA, Brasil.

ABSTRACT

Introduction: Alzheimer's disease (AD) is a chronic, progressive disorder affecting brain structure and function. The accumulation of amyloid beta peptides and the formation of neurofibrillary tangles are thought to be the pathways to neuronal injury.

Objective: To investigate the correlation between biomarkers of neurodegeneration and the inflammatory profile in the cerebrospinal fluid (CSF) of patients with AD and mild cognitive impairment (MCI).

Methods: A cross-sectional study involving 51 patients with MCI or AD was performed. Data including biochemical markers, inflammatory panel results, and clinical characteristics related to CSF biomarkers (p-tau, t-tau, and A β 1-42) were analyzed. **Results:** We included 27 men (52.9%) and 24 women (47.1%), with a mean age of 73 years (\pm 10.14). A positive, nonlinear correlation between lactate dehydrogenase (LDH) and both p-tau ($r=0.548$; $p<0.001$) and t-tau ($r=0.757$; $p<0.001$) CSF levels was found. A negative correlation between lactate and p-tau CSF levels ($r=0.399$; $p<0.005$) and a positive correlation between aspartate aminotransferase and p-tau CSF levels ($r=0.489$; $p<0.001$) were also observed.

Discussion: The positive correlation between LDH and tau protein levels points to a potential role for oxidative stress in AD. Additionally, the negative correlation between lactate and p-tau CSF levels may suggest a detrimental effect of tau protein on cell metabolism. **Conclusions:** Inflammatory biomarkers might be promising molecules in the ancillary investigation of AD. Technical simplicity, low cost, and their potential association with tau protein levels should encourage further research into the role of LDH and lactate in AD pathophysiology, follow-up, and as potential therapeutic targets.

Keywords: (Alzheimer's disease, p-tau, t-tau, neuroinflammation, lactate, LDH).

INTRODUCTION

Alois Alzheimer was the first to describe a case of Alzheimer's disease (AD) in 1906, and it is currently known to be the most common type of dementia, amounting to 50-60% of all cases worldwide. The number of AD cases is projected to increase 200% by 2050 when compared to current estimates (AISEN *et al.*, 2017; BAYART *et al.*, 2019; PORTELIUS *et al.*, 2017).

In the 1980s, the two most important molecules in the pathophysiology of AD were identified, namely amyloid beta (A β) and tau proteins (AISEN *et al.*, 2017; PORTELIUS *et al.*, 2017), which are respectively implicated in the extracellular accumulation of amyloid beta into plaques and the formation of intracellular neurofibrillary tangles containing hyperphosphorylated tau, the latter being potentially cytotoxic to neuron structure in experimental models (FERREIRA; PERESTELO-PÉREZ; *et al.*, 2014; HUMPEL, 2011; KOYCHEV *et al.*, 2017; RIVERO-SANTANA *et al.*, 2017; WYSS-CORAY; ROGERS, 2012).

Alzheimer's disease is a progressive, irreversible neurodegenerative disorder that affects episodic memory, orientation, and decision-making. There are 47 million people living with dementia worldwide. In the USA, 5.4 million people are estimated to have AD, and advanced age is the main associated risk factor (ASSOCIATION ALZHEIMER, 2016; KOYCHEV *et al.*, 2017; PORTELIUS *et al.*, 2017; VAN WAALWIJK VAN DOORN *et al.*, 2017).

Classic risk factors, such as increasing age, family history of dementia, and mutations in genes related to amyloid beta and the apolipoprotein E (*APOE*) epsilon 4 (e4) allele, have been clearly established for AD (MCKHANN, Guy M. *et al.*, 2011; VILATELA; MARISOL; YESCAS-G, 2012).

With research advances and the growing recognition that, as in many other diseases, implicated pathophysiological changes begin years before clinical onset, diagnostic tools for AD are of particular interest nowadays (AISEN *et al.*, 2017; JACK *et al.*, 2011). Regarding cerebrospinal fluid (CSF) protein composition in AD, there is a decrease in amyloid beta peptide 1-42 ($A\beta$ 1-42) levels, whereas both total tau (t-tau) and phosphorylated tau (p-tau) levels rise, and this is considered a pathological signature of AD, with both diagnostic and prognostic value (ALEXOPOULOS *et al.*, 2016; BLOUDEK *et al.*, 2014; FERREIRA; PERESTELO-PÉREZ; *et al.*, 2014; VAN WAALWIJK VAN DOORN *et al.*, 2017). Abnormal $A\beta$ 1-42 levels may be detected in cognitively healthy individuals 10 to 20 years before the onset of clinical AD (VAN WAALWIJK VAN DOORN *et al.*, 2017).

The current understanding of AD pathophysiology is based on a temporal order of brain changes. Amyloid deposition begins early on, but does not directly cause symptoms. Neuronal and synaptic injury (neurodegeneration) then follows and later it is followed by brain atrophy. Prodromal AD is clinically characterized by mild cognitive impairment (MCI), which is accompanied by biochemical changes in the brain reflected by CSF biomarkers, predictive of progression from MCI to AD (FRÖLICH *et al.*, 2017).

Liguori and colleagues, in addition to Scarabino and other authors, posit that inflammation plays a major role in the pathogenesis of AD. Experimental research over the last few years has increased knowledge of additional molecular mechanisms involved in AD, including inflammation related to oxidative stress and mitochondrial dysfunction (LIGUORI *et al.*, 2015b; SCARABINO *et al.*, 2017).

New diagnostic methods such as the detection of biomarkers are at the forefront of technological developments, being able to detect neuropathological changes *in vivo*. CSF biomarkers have recently been included in the diagnostic criteria for AD, with an accuracy of over 85%. However, these biomarkers are influenced by confounders such as pre-analysis, sample volume, and even senescence itself (GRASSET *et al.*, 2016; VAN WAALWIJK VAN DOORN *et al.*, 2017)

The aim of the present study was to investigate the correlation between biomarkers of neurodegeneration and classic markers of inflammation and oxidative stress in the CSF of patients with AD and MCI.

METHODS

Population and study design

Fifty-one patients were included in this retrospective study. All of them were submitted to a lumbar puncture at a specialized clinic between June 2018 and November 2019. The 2011 diagnostic criteria proposed by the National Institute on Aging and the Alzheimer's Association (NIA-AA) were used by attending neurologists to diagnose evaluated patients with either AD or MCI. This study was reviewed and approved by the Bahia State University (UNEB) Research Ethics Committee under the protocol no. 22913919.4.0000.0057.

Sample collection and preparation

CSF samples were collected via routine diagnostic lumbar puncture (LP) at the L3-4 or L4-5 interspace into 6-mL and 9-mL polypropylene tubes (BD, USA) as per standard sterile technique. Samples were processed and then frozen to -20 °C after analysis. Microscopic analysis for CSF cytology, cell count, and differential was carried out within two hours of sampling. Integra 400 and E411 analyzers (Roche, Germany) and appropriate laboratory kits were used to perform all biochemical analyses, including lactate dehydrogenase (LDH), urea, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), albumin, total protein, lactate, and glucose. Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) (Euroimmum, Germany) were used to determine amyloid beta 1-42 (A β 1-42), total tau (t-tau), and phosphorylated tau (p-tau) levels.

Statistical analysis

Correlation analysis was based on Pearson's and Spearman's coefficients for parametric and nonparametric variables, respectively. A p value < 0.05 was used to determine statistical significance. SPSS Statistics (version 21) was used for database creation and all statistical analyses.

RESULTS

Our population consisted of 27 men (52.9%) and 24 women (47.1%), with a mean age of 73 years (\pm 10.14).

CLINICAL CHARACTERISTICS AND CSF ANALYSIS

Sociodemographic characteristics and CSF analysis, including biochemical and cytological features, are detailed in Table 1.

Table 1. Sociodemographic characteristics and CSF analysis, including biochemical and cytological features, of patients with MCI and AD.

Feature	Mean (n=51)	Standard deviation
Age (years)	73.0	\pm 10.14
Sex (n)		
Male	27/51	-
Female	24/51	-
Cell count (cells/uL)	1.0 (51/51)	-
White blood cells (lymphocytes)	0.0 (51/51)	-
Red blood cells		
Biochemistry		
Protein (mg/dL)	25.5	\pm 16.85
Glucose (mg/dL)	70.50	\pm 23.33
Chloride (mg/dL)	719.0	\pm 18.07
Urea (mg/dL)	27.5	\pm 11.30
AST (U/L)	20.0	\pm 17.11
LDH (U/L)	24.5	\pm 15.48
Lactate (mg/dL)	16.0	\pm 4.24

CSF ANALYSIS: CLASSIC BIOMARKERS

Amyloid beta, t-tau, and p-tau CSF levels in patients with MCI and AD are described in Table 2.

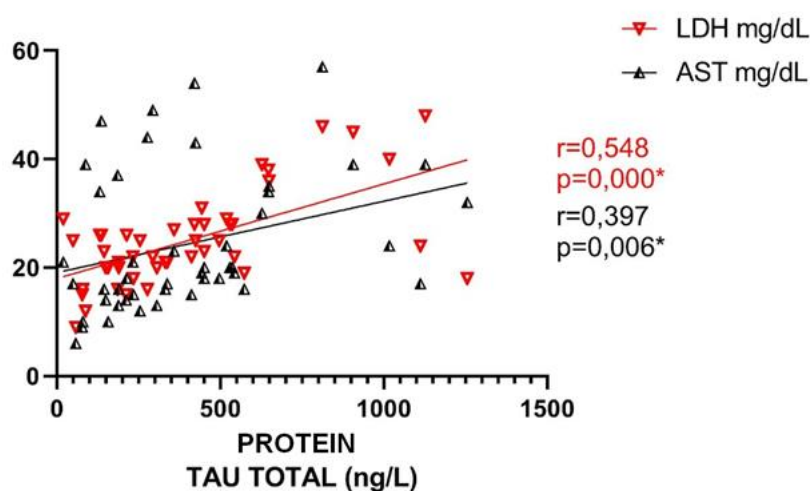
Table 2. Amyloid beta, total tau, and phosphorylated tau CSF levels in patients with MCI and AD

Biomarkers	Patients		Reference group
	Mean (ng/L)	Standard deviation	Age-related reference range (ng/L)
Amyloid beta	783.16	±605.12	51 to 70 years: 562.00 to 1018.00 > 71 years: 567.00 to 1027.00
Total tau	402.37	±303.47	51 to 70 years: 116.00 to 370.00 > 71 years: 170.00 to 512.00
Phosphorylated tau	63.83	±37.48	45 to 77 years: 35.84 to 66.26

CLASSIC BIOMARKERS VS. BIOMARKERS OF NEURODEGENERATION

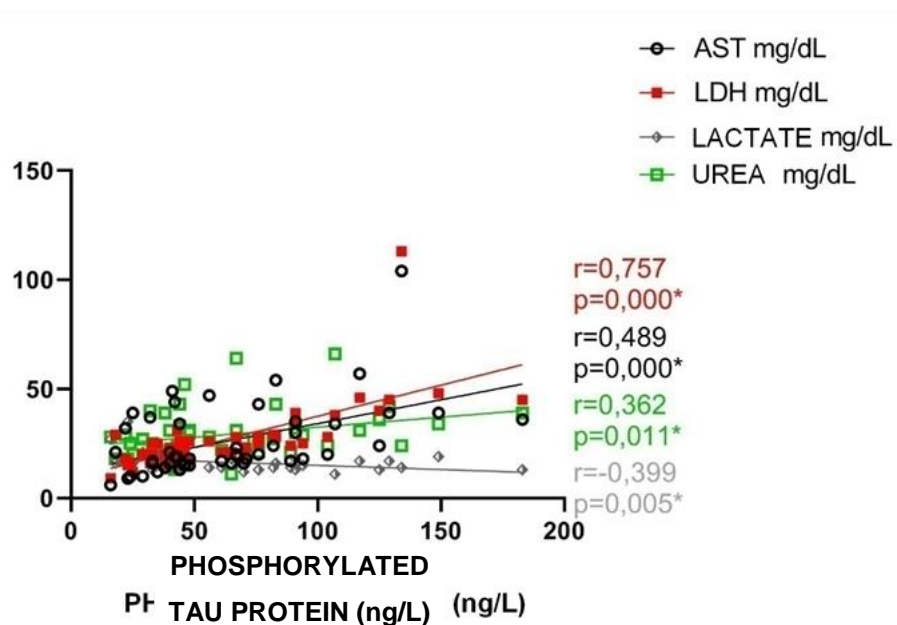
Figures 1 and 2 show the correlations between tau protein CSF levels (t-tau and p-tau) and the lactate dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase (AST), urea, and lactate.

Figure 1. Scatter plot and Spearman's correlation coefficient (r) of t-tau and both LDH and AST CSF levels in patients with MCI and AD, showing a positive correlation.



*Spearman's; $p < 0.05$.

Figure 2. Scatter plot and Spearman's correlation coefficient (r) of p-tau and LDH, AST, lactate, and urea CSF levels in patients with MCI and AD, showing positive correlations and a negative correlation for lactate.



Spearman's; $p < 0.05$.

DISCUSSION

Biomarkers are physiological, biochemical, and anatomical indicators that can be measured in vivo and reflect specific aspects of disease pathophysiology. Current evidence suggests the accumulation of amyloid beta plaques and the aggregation of tau protein into neurofibrillary tangles are together associated with neuronal injury seen in AD (JACK *et al.*, 2011). To stratify phenotypic profiles thus becomes feasible by combining clinical criteria and CSF analysis.

The amyloid beta, t-tau, and p-tau CSF levels seen in our patients are in line with what has been reported in the literature, namely low amyloid beta levels and elevated t-tau and p-tau concentrations. As stated by Jack and colleagues in 2011 as well as Doecke *et al.* in 2018, abnormal tracer retention in amyloid-PET scans and low A β 1-42 CSF levels are the biomarkers of A β accumulation, whereas high t-tau and p-tau CSF concentrations are biomarkers of neuronal injury or degeneration. In this light, amyloid biomarkers can reveal abnormalities early on, 10 to 20 years before the onset of clinical AD. On the other hand, abnormal biomarkers of neurodegeneration are usually found just before clinical onset (DOECKE *et al.*, 2018; JACK *et al.*, 2011).

A positive correlation between LDH and both p-tau ($r: 0.548; p < 0.001$) and t-tau ($r: 0.757; p < 0.001$) CSF levels was found, the latter being a strong correlation. Brain energy metabolism in AD has lately been receiving growing attention. An increased number of astrocytes and a reduced population of neurons and oligodendrocytes were observed in a study of the double-transgenic amyloid precursor protein/presenilin 1 (APP/PS1) mouse model of AD; consequently, the accumulation of tau protein and the formation of A β plaques are associated with neuroinflammation, oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and energy deficiency (ZHANG *et al.*, 2018).

Levels of glycolytic enzyme LDH rise as a response to plasma membrane injury and so they are often used as an indicator of necrotic cell death caused by multiple external stress factors. Oxidative stress has been shown to play an important role in AD pathophysiology by triggering the loss of cholinergic neurons, especially in the forebrain (YAO; ZHAO; ZU, 2019).

In this study, however, CSF lactate levels were found to be negatively correlated with p-tau ($r: 0.399; p < 0.005$). Changes in cerebral glucose metabolism, including glycolysis and oxidative metabolism, have been demonstrated in patients with familial AD. Oxidative metabolism of glutamine has been shown to occur in APP/PS1 mice, which might disturb the glutamate-glutamine cycle, thus inhibiting neurotransmission and the tricarboxylic acid cycle. These findings suggest patients with AD may remain in a state of cerebral hypometabolism, demonstrated by reduced neuronal glucose utilization, decreased glucose uptake, impaired electron transport chain, mitochondrial dysfunction, and increased oxidant production. In this scenario, the glycolytic pathway acts as an adaptive mechanism that allows for energy production, whereby nerve cells selectively resistant to A β toxicity turn to the glycolytic pathway preferentially over mitochondrial oxidative metabolism. In spite of such adaptation, however, lactate levels in the brain were still found to be lower in mice treated with intrahippocampal injections of A β 25-35 (an AD model) (LU *et al.*, 2015; YIN *et al.*, 2016), which thus corroborates our finding regarding p-tau and lactate levels. In addition, Liguori and colleagues demonstrated a negative correlation between lactate and p-tau CSF levels in a 2015 study with 140 individuals. CSF lactate concentrations are used as a marker of mitochondrial failure as they can increase as a result of the buildup of energetic metabolites arising from mitochondrial dysfunction.

Growing evidence suggests tau protein toxicity, mediated by neurofibrillary tangles, can impair axonal transport, thus affecting cellular localization, function, and turnover of mitochondria (LIGUORI *et al.*, 2015a; LU *et al.*, 2015).

Studies involving transgenic animal models also suggest tau protein can act directly upon mitochondria, disturbing respiratory chain complexes. The increase in CSF lactate levels may therefore be interpreted as a biomarker of abnormal mitochondrial activity in AD. Although patients with AD have significantly higher CSF lactate levels than healthy individuals, these levels are nonetheless negatively correlated with p-tau and t-tau levels, as previously discussed (LIGUORI *et al.*, 2015a; LU *et al.*, 2015; WYSS-CORAY; ROGERS, 2012; YIN *et al.*, 2016). Tau protein can exert toxicity on cellular energy metabolism in its entirety, and so it is fair to conjecture that both efficiency and function of the glycolytic component of the neuronal bioenergetic system are compromised beyond mitochondrial injury in severe AD.

In addition, we found a positive correlation between AST and p-tau CSF levels ($r: 0.489$; $p < 0,001$). AST is a key enzyme involved in hepatic gluconeogenesis and in the production of neurotransmitters essential to synaptic function. It catalyzes a reversible reaction between aspartate and alpha-ketoglutarate, resulting in the formation of oxaloacetate and glutamate. Elevated AST levels can therefore influence glutamate levels, an excitatory central nervous system neurotransmitter that plays an important role in memory. Increased serum AST to ALT ratios and their association with higher p-tau and t-tau CSF levels were reported in patients with AD in a 2019 study (NHO *et al.*, 2019).

CONCLUSIONS

Only a multifaceted analysis is able to reliably guide the diagnostic workup of AD. The only currently validated CSF biomarkers to aid in the diagnosis of AD are A β 1-42, t-tau, and p-tau despite their high cost. In this study, we portray LDH, lactate, and AST CSF levels as promising biomarkers linked with neurodegeneration pathways in AD. Although our findings suggest an important role for the inflammatory cascade in AD pathophysiology, further *in vitro* research into implicated pathophysiological mechanisms and potential molecular targets for novel therapies is needed.

REFERENCES

- AISEN, P. S. *et al.* On the path to 2025: Understanding the Alzheimer's disease continuum. **Alzheimer's Research and Therapy**, v. 9, n. 1, p. 1–10, 2017.
- ALBERT, M. S. *et al.* The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimer's and Dementia**, v. 7, n. 3, p. 270–279, 2011.
- ALEXOPOULOS, P. *et al.* Conflicting cerebrospinal fluid biomarkers and progression to dementia due to Alzheimer's disease. **Alzheimer's Research and Therapy**, v. 8, n. 1, p. 51, 2016.
- ALTMANN, A. *et al.* Sex modifies the *APOE* -related risk of developing Alzheimer disease. **Annals of Neurology**, v. 75, n. 4, p. 563–573, abr. 2014.
- ARMSTRONG, R. A. Risk factors for alzheimer disease. **Folia Neuropathol**, v. 57, n. 2, p. 87–105, 2019.
- ASSOCIATION ALZHEIMER, A. 2016 Alzheimer ' s disease facts and figures. **Alzheimer's & Dementia**, v. 12, n. 4, p. 459–509, 2016.
- ATRI, A. The Alzheimer ' s Disease Clinical Spectrum. **Medical Clinics of NA**, v. 103, n. 2, p. 263–293, 2019.
- BAYART, J. L. *et al.* Analytical and clinical performances of the automated Lumipulse cerebrospinal fluid A β 42 and T-Tau assays for Alzheimer's disease diagnosis. **Journal of Neurology**, v. 266, n. 9, p. 2304–2311, 2019.
- BEJANIN, A. *et al.* Tau pathology and neurodegeneration contribute to cognitive impairment in Alzheimer's disease. **Brain : a journal of neurology**, v. 140, n. 12, p. 3286–3300, 1 dez. 2017.
- BERTENS, D. *et al.* Temporal evolution of biomarkers and cognitive markers in the asymptomatic, MCI, and dementia stage of Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia**, v. 11, n. 5, p. 511–522, maio 2015.
- BLOUDEK, L. M. *et al.* Review and Meta-Analysis of Biomarkers and Diagnostic Imaging in Alzheimer ' s Disease. v. 26, p. 627–645, 2014.
- CHÊNE, G. *et al.* Gender and incidence of dementia in the Framingham Heart Study from mid-adult life. **Alzheimer's and Dementia**, v. 11, n. 3, p. 310–320, 2015.
- CROUS-BOU, M. *et al.* Alzheimer's disease prevention: From risk factors to early intervention. **Alzheimer's Research and Therapy**, v. 9, n. 1, p. 1–9, 2017.
- DOECKE, J. D. *et al.* Concordance Between Cerebrospinal Fluid Biomarkers with Alzheimer's Disease Pathology Between Three Independent Assay Platforms. **Journal of Alzheimer's disease : JAD**, v. 61, n. 1, p. 169–183, 28 nov. 2018.
- EMILIO, H. *et al.* Epidemiologic Survey of Dementia in a Community-Dwelling Brazilian Population. **Alzheimer Disease and Associated Disorders**, v. 16, n. 2, p. 103–108, 2002.

ERATNE, D. *et al.* Alzheimer's disease: clinical update on epidemiology, pathophysiology and diagnosis. **Australasian Psychiatry**, v. 26, n. 4, p. 347–357, 2018.

FERREIRA, D.; PERESTELO-PÉREZ, L.; *et al.* Meta-review of CSF core biomarkers in Alzheimer's disease: the state-of-the-art after the new revised diagnostic criteria. v. 6, n. March, p. 1–24, 2014.

FERREIRA, D.; PERESTELO-PÉREZ, L.; *et al.* Meta-Review of CSF Core Biomarkers in Alzheimer's Disease: The State-of-the-Art after the New Revised Diagnostic Criteria. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 6, 24 mar. 2014.

FRÖLICH, L. *et al.* Incremental value of biomarker combinations to predict progression of mild cognitive impairment to Alzheimer's dementia. **Alzheimer's research & therapy**, v. 9, n. 1, p. 84, 10 out. 2017.

GANDY, S.; DEKOSKY, S. T. Toward the Treatment and Prevention of Alzheimer's Disease: Rational Strategies and Recent Progress. **Annual Review of Medicine**, v. 64, n. 1, p. 367–383, 2013.

GRASSET, L. *et al.* Trends in dementia incidence: Evolution over a 10-year period in France. **Alzheimer's and Dementia**, v. 12, n. 3, p. 272–280, 2016.

GREMER, L. *et al.* Fibril structure of amyloid- β (1 – 42) by cryo – electron microscopy. v. 119, n. October, p. 116–119, 2017.

HEBERT, L. E. *et al.* Alzheimer disease in the United States (2010-2050) estimated using the 2010 census. **Neurology**, v. 80, n. 19, p. 1778–1783, 2013.

HUMPEL, C. Identifying and validating biomarkers for Alzheimer's disease. **Trends in Biotechnology**, v. 29, n. 1, p. 26–32, 2011.

_____. Platelets: Their Potential Contribution to the Generation of Beta-amyloid Plaques in Alzheimer's Disease. **Current Neurovascular Research**, v. 14, n. 3, 25 ago. 2017.

JACK, C. R. *et al.* Introduction to the recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia**, v. 7, n. 3, p. 257–262, 2011.

KAERST, L. *et al.* Using Cerebrospinal Fluid Marker Profiles in Clinical Diagnosis of Dementia with Lewy Bodies, Parkinson's Disease, and Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 38, n. 1, p. 63–73, 29 out. 2013.

KOYCHEV, I. *et al.* PET Tau and Amyloid- β Burden in Mild Alzheimer's Disease: Divergent Relationship with Age, Cognition, and Cerebrospinal Fluid Biomarkers. **Journal of Alzheimer's disease : JAD**, v. 60, n. 1, p. 283–293, 29 ago. 2017.

LIGUORI, C. *et al.* CSF lactate levels, τ proteins, cognitive decline: A dynamic relationship in Alzheimer's disease. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, v. 86, n. 6, p. 655–659, 2015.

LIGUORI, C. *et al.* CSF lactate levels, τ proteins, cognitive decline: a dynamic relationship in Alzheimer's disease. **Journal of Neurology, Neurosurgery &**

Psychiatry, v. 86, n. 6, p. 655–659, jun. 2015.

LU, W. *et al.* Changes in lactate content and monocarboxylate transporter 2 expression in A β 25-35-treated rat model of Alzheimer's disease. **Neurological Sciences**, v. 36, n. 6, p. 871–876, 2015.

MARK, M. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. **Nature**, v. 430, p. 631–639, 2004.

MCFARLAND, N. R. Diagnostic Approach to Atypical Parkinsonian Syndromes. **Continuum (Minneapolis, Minn)**, p. 1117–1142, 2016.

MCKHANN, G. *et al.* 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**, v. 34, n. 7, p. 939–944, 1984.

MCKHANN, G. M. *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 and Dementia**, v. 7, n. 3, p. 263–269, 2011.

NAJ, A. C.; SCHELLENBERG, G. D. Genomic Variants, Genes, and Pathways of Alzheimer's Disease: An Overview. 2016.

NHO, K. *et al.* Association of Altered Liver Enzymes With Alzheimer Disease Diagnosis, Cognition, Neuroimaging Measures, and Cerebrospinal Fluid Biomarkers. **JAMA network open**, v. 2, n. 7, p. e197978, 2019.

NICHOLS, E. *et al.* Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **The Lancet Neurology**, v. 18, n. 1, p. 88–106, 2019.

PORTELIUS, E. *et al.* Proteomic studies of cerebrospinal fluid biomarkers of Alzheimer's disease: An update. **Expert Review of Proteomics**, v. 14, n. 11, p. 1007–1020, 2017.

REITZ, C.; MAYEUX, R. Alzheimer disease: Epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. **Biochemical Pharmacology**, v. 88, n. 4, p. 640–651, 2014.

RIVERO-SANTANA, A. *et al.* Cerebrospinal Fluid Biomarkers for the Differential Diagnosis between Alzheimer's Disease and Frontotemporal Lobar Degeneration: Systematic Review, HSROC Analysis, and Confounding Factors. **Journal of Alzheimer's disease: JAD**, v. 55, n. 2, p. 625–644, 2017.

SCARABINO, D. *et al.* Leukocyte telomere length in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease patients. **Experimental Gerontology**, v. 98, p. 143–147, 1 nov. 2017.

SCHELTENS, P. *et al.* Alzheimer's disease. **The Lancet**, v. 388, n. 10043, p. 505–517, 2016.

SILVA, M. V. F. *et al.* Alzheimer's disease: Risk factors and potentially protective measures. **Journal of Biomedical Science**, v. 26, n. 1, p. 1–11, 2019.

- SNEHAM, T. *et al.* Alzheimer ' s disease : pathogenesis , diagnostics , and therapeutics. **International Journal of Nanomedicine**, v. 14, p. 5541–5554, 2019.
- TÖNNIES, E.; TRUSHINA, E. Oxidative Stress, Synaptic Dysfunction, and Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 57, n. 4, p. 1105–1121, 19 abr. 2017.
- TUMMINIA, A. *et al.* Type 2 Diabetes Mellitus and Alzheimer's Disease: Role of Insulin Signalling and Therapeutic Implications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 11, p. 3306, 24 out. 2018.
- VILATELA, A.; MARISOL, L.; YESCAS-G, P. Genetics of Alzheimer ' s Disease. v. 43, p. 622–631, 2012.
- WAALWIJK VAN DOORN, L. J. C. VAN *et al.* Improved Cerebrospinal Fluid-Based Discrimination between Alzheimer's Disease Patients and Controls after Correction for Ventricular Volumes. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 56, n. 2, p. 543–555, 2017.
- WEINER, M. W. *et al.* 2014 Update of the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative: A review of papers published since its inception. **Alzheimer's & Dementia**, v. 11, n. 6, p. e1–e120, jun. 2015.
- WYSS-CORAY, T.; ROGERS, J. Inflammation in Alzheimer disease-A brief review of the basic science and clinical literature. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 2, n. 1, p. 1–24, 2012.
- YAO, K.; ZHAO, Y. F.; ZU, H. B. Melatonin receptor stimulation by agomelatine prevents A β -induced tau phosphorylation and oxidative damage in PC12 cells. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 13, p. 387–396, 2019.
- YIN, F. *et al.* Energy metabolism and inflammation in brain aging and Alzheimer's disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 100, p. 108–122, 2016.
- ZETTERBERG, H.; ROHRER, J. D.; SCHOTT, J. M. Cerebrospinal fluid in the dementias. *In*: [s.l: s.n.]. p. 85–97.
- ZHANG, M. *et al.* Lactate deficit in an Alzheimer disease mouse model: The relationship with neuronal damage. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, v. 77, n. 12, p. 1163–1176, 2018.