

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
UNIDADE ACADEMICA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

JOSMAR LUIZ PERUCCHI

**ACURÁCIA DO PEPTÍDEO A β 1-42 NO DIAGNÓSTICO DA
DOENÇA DE ALZHEIMER: REVISÃO SISTEMÁTICA E
METANÁLISE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Maria Inês da Rosa

**CRICIÚMA
2014**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

P471a Perucchi, Josmar Luiz.

Acurácia do Peptídeo A β 1-42 no diagnóstico da doença de Alzheimer : revisão sistemática e metanálise / Josmar Luiz Perucchi ; orientadora : Maria Inês da Rosa. – Criciúma, SC : Ed. do Autor, 2014.
66 p. : il. ; 21 cm.

Tese (Doutorado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2014.

1. Pesquisa médica. 2. Doença de Alzheimer - Diagnóstico - Pesquisa. 3. Peptídeo β -Amilóide - Pesquisa. I. Título.

CDD 22. ed. 610.7



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC

Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão

Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)

Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 1.919 de 03.06.2005

ATA DA 211ª DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata da Defesa Pública de Dissertação do Mestrado de Josmar Luiz Perucchi. Aos vinte e oito dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e quatorze às 8h00, na Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, reuniram-se os membros da Banca Examinadora, composta pelos senhores professores: **Dr. EMÍLIO LUIZ STRECK** (Membro Relator - UNESC), **Dra. JOSIANE BUDNI** (Membro - UNESC) e **Dra. IONE SCHNEIDER** (Membro Externo – UFSC) e designados pelo Colegiado de Coordenação, a fim de argüirem a dissertação de Mestrado de **Josmar Luiz Perucchi** ao título: **“Acurácia do peptídeo Aβ 1-42 no diagnóstico da doença Alzheimer: Revisão sistemática e metanálise”**. Aberta a sessão pelo Presidente da mesma, coube ao candidato, de forma regimental, expor o tema de sua dissertação, findo o que, dentro do tempo regulamentar, foi questionado pelos membros da Banca Examinadora e, em seguida, procedeu às explicações que se faziam necessárias. Após esse procedimento, a Banca Examinadora reuniu-se individualmente, para a avaliação final do candidato. Retornando à sessão, o Presidente, lendo o Termo de Apresentação de Dissertação, declarou, **Josmar Luiz Perucchi** aprovado com conceito A.

ALTERAÇÕES SUGERIDAS PELA BANCA EXAMINADORA:

Concentram-se nas partes das dissertações

Prof. Dr. CLAUDIO TEODORO DE SOUZA (Presidente do Colegiado de Coordenação)

Prof. Dra. MARIA INÊS DA ROSA (Orientadora)

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. EMÍLIO LUIZ STRECK (Membro Relator- UNESC)

Prof. Dra. JOSIANE BUDNI (Membro – UNESC)

Prof. Dra. IONE SCHNEIDER (Membro Externo- UFSC)

CANDIDATO: _____

Josmar Luiz Perucchi

Criciúma, SC, 28 de fevereiro de 2014.

FOLHA INFORMATIVA

Esta dissertação foi elaborada seguindo o estilo Vancouver e será apresentada no formato tradicional.

Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Epidemiologia vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, por minha vida e minha família e por ter me dado a chance de ter uma vida repleta de realizações.

A minha orientadora, Prof^a Dr^a. Maria Inês da Rosa, pela acolhida e por acreditar em mim, dando a oportunidade de participar de seu grupo de pesquisa e ter o privilégio de ser seu orientando.

Agradeço também a todos os integrantes do Laboratório de Epidemiologia, em especial a Mestranda Ana Paula Ronzani Panatto que sempre auxiliou-me em minhas dúvidas e ajudou a organizar o trabalho.

Agradeço a toda minha família, a todos os amigos que de alguma forma ou de outra me ajudaram a vencer mais essa caminhada.

E por fim um agradecimento especial a minha esposa Katiana Scarpari Perucchi e meu filho Davi Scarpari Perucchi.

Meu muito obrigado a todos!!!

RESUMO

A Doença de Alzheimer (DA), descrita em 1906 pelo neuropatologista alemão Alois Alzheimer caracterizando a doença como uma afecção neurodegenerativa progressiva e irreversível, com aparecimento insidioso, ou seja, muito lento, e que leva a perda da memória e diversos distúrbios cognitivos. O biomarcador ideal para diagnóstico da DA não deve ser capaz apenas de detectar uma característica fundamental da neuropatologia da DA, mas também deve detectar DA no início de seu curso e distingui-la de outras formas de demência. Foi realizada uma revisão sistemática e metanálise para estimar a acurácia do A β 1-42 no líquido cefalorraquidiano para o diagnóstico de DA. As bases de dados pesquisadas foram: Cochrane Library, MEDLINE, LILACS, Grey literature e EMBASE. Os artigos pesquisados foram publicados a partir de janeiro de 1990 a agosto de 2013. Os bancos de dados foram pesquisados utilizando-se os seguintes termos: "Doença de Alzheimer", "DA", " β -amilóide", "A β 1-42". Foram incluídos estudos caso-controle, transversais, prospectivos e retrospectivos, que avaliaram o nível de A β 1-42 na doença de Alzheimer. A análise estatística foi realizada utilizando os softwares RevMan 5.2, Meta Disc e Stata 11.0. Um total de 804 citações foi identificado pela estratégia de busca, e 41 estudos foram incluídos na revisão sistemática. A metanálise mostrou uma sensibilidade de 84,3% (95% IC: 85,6% - 81%) e especificidade de 79,4% (95% IC: 77,6% - 81,1%). A DOR foi de 28,9 (95% IC: 21,2 - 39,5). Há uma redução de cerca de 50% no nível do peptídeo A β 1-42 no LCR de pacientes com DA vs controles. A razão para os baixos níveis de A β não é clara, mas foi colocada a hipótese de ser o resultado de sequestro de A β 1-42 no tecido cerebral. Nosso estudo demonstrou que A β 1-42 pode discriminar a doença de Alzheimer com boa sensibilidade e especificidade.

Palavras-chave: A β 1-42; doença de Alzheimer; metanálise; revisão sistemática.

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD), described in 1906 by German neurologist Alois Alzheimer characterizing the disease as a progressive and irreversible neurodegenerative disorder with insidious onset, i.e., very slow, and that leads to memory loss and various cognitive disorders. The ideal biomarker for diagnosis of AD should not only be able to detect a fundamental feature of the neuropathology of Alzheimer's, but it should also detect AD in the early in its course and distinguish it from other forms of dementia. We performed a systematic review and a meta-analysis to estimate the accuracy of cerebrospinal fluid (CSF) A β 1–42 for Alzheimer disease diagnosis. A comprehensive search of the Cochrane Library, MEDLINE, LILACS, Grey literature and EMBASE was performed for papers published from January 1990 to August 2013. The following Medical Subject Headings (MeSH) terms were searched: “Alzheimer disease” or “AD” and “amyloid- β ” or “A β 1–42”. Was included case-control and cross-sectional studies, prospective or retrospective, that evaluated the A β 1–42 level in Alzheimer disease. The statistical analysis was performed using REVMAN 5.2, Meta Disc and Stata 11.0. 804 citations were identified by the search strategy, and 41 studies were included. The meta-analysis showed. a sensitivity of 84.3% (95% CI: 85.6% to 81%) and a specificity of 79.4% (95% CI: 77.6% to 81.1%). The DOR was 28.9 (95% CI: 21.2 to 39.5). There is a reduction of about 50% in the A β 1-42 peptide levels in CSF of patients with AD vs controls. The reason for the low levels of A β is not clear, but it was hypothesized to be the result of sequestration A β 1-42 in brain tissue. Our study demonstrated that A β 1–42 can discriminate AD from controls with good sensitivity and specificity.

Key words: A β 1–42; Alzheimer disease; meta-analyses; systematic review.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama de fluxo do processo de seleção dos estudos	41
Figura 2 - Resultado da avaliação de risco de viés por estudo de acordo com a Avaliação da Qualidade de Estudos de Acurácia Diagnóstica - 2 (QUADAS-2).....	46
Figura 3 - Gráfico de Floresta da Odds Ratio Diagnóstica do A β 1-42 .	48
Figura 4 - Curva SROC do A β 1-42.....	49
Figura 5 - Diferença média ponderada entre Doença de Alzheimer e Controle.....	49
Figura 6 - Gráfico de Funil para estimativa do viés de publicação nos 41 estudos incluídos	50

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Características dos estudos incluídos na revisão sistemática e extração de dados da literatura.	42
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

- A β** – Peptídeo β -amilóide
A β 1-42 – Peptídeo β -amilóide fração 1-42
ACh- Acetilcolina (do inglês, *acetylcholine*)
AChE – Acetilcolinesterase (do inglês, *acetylcholinesterase*)
APP - Proteína Precursora do β amilóide (do inglês, *Amyloid Protein Precursor*)
AUC - Área Sob a Curva (do inglês, *Área Under Curve*)
DA - Doença de Alzheimer
DOR – Razão de Chance Diagnóstica (do inglês, *Diagnostic Odds Ratio*).
DV – Demência Vascular
ENF- Emaranhados neurofibrilares
EMBASE - Banco de Dados Excerpta Médica (do inglês, *Excerpta Medical Database*)
FN - Falso Negativo
FP - Falso Positivo
IC - Intervalo de Confiança
LCR - Líquido Cefalorraquidiano
LILACS - Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
MEDLINE - Sistema Online de Busca e Análise de Literatura Médica (do inglês, *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online*)
NINCDS/ADRDA - Instituto Nacional de Distúrbios Neurológicos e Comunicativo e Acidente Cerebral/Associação de Doença de Alzheimer e Distúrbios Relacionadas (do inglês *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke/Alzheimer's Disease and Related Disorders Association*).
NMDA - N-metil D-aspartato
PS - Placas Senis
P-TAU - Tau fosforilado (do inglês, *phosphorylated Tau*)
QUADAS-2 - Avaliação da Qualidade de Estudos de Acurácia Diagnóstica-2 (do inglês, *Quality Assessment of Diagnostic Accuracy-2*)
RevMan 5.2 - *Review Manager* versão 5.2
RS – Revisão Sistemática

RV - Razão de Verossimilhança

TCL- Transtorno Cognitivo Leve

T-TAU - Proteína Tau Total (do inglês, *Total Tau*)

SROC - Curva Sumarizada da Característica Operativa do Receptor (do inglês, *Summary Receiver Operating Characteristic*)

SNC – Sistema Nervoso Central

VP - Verdadeiro Positivo

VN - Verdadeiro Negativo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
1.1 DOENÇA DE ALZHEIMER	25
1.1.1 Histórico e Importância	25
1.1.2 Diagnóstico Diferencial	25
1.1.3 Epidemiologia	26
1.1.4 Fisiopatologia	27
1.1.5 Diagnóstico	28
1.1.6 Bases do Tratamento	29
1.2 BIOMARCADORES	30
1.2.1 Importância	30
1.2.2 Definição	30
1.2.3 Biomarcador Ideal	30
1.2.4 Tipos de Biomarcadores	30
1.3 PEPTIDEO B-AMILÓIDE	31
1.3.1 Fisiopatologia do β -amilóide	31
1.4 REVISÃO SISTEMÁTICA	32
1.5 JUSTIFICATIVA	33
2 OBJETIVOS	34
2.1 OBJETIVO GERAL	34
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
3 MATERIAIS E MÉTODOS	35
3.1 ESTRATÉGIA DE BUSCA	35
3.1.1 Estratégia de busca no MEDLINE (PubMed)	35
3.1.2 Estratégia de busca na Cochrane Library e LILACS	36
3.1.3 Triagem de resumos de elegibilidade	36
3.2 SELEÇÃO DOS ESTUDOS	36
3.2.1 Pacientes	36
3.2.2 Teste Diagnóstico	37
3.2.3 Padrão Ouro	37
3.3 EXTRAÇÃO DE DADOS	37
3.4 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA	38
3.5 SINTESE DE DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA	38
4 RESULTADOS	40
4.1 PESQUISA BIBLIOGRÁFICA E IDENTIFICAÇÃO DOS ESTUDOS	40
4.2 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE	46
4.3 A ANÁLISE DE SENSIBILIDADE	46

4.4 DESEMPENHO DIAGNÓSTICO DE CONCENTRAÇÕES LIQUÓRICAS DE AB1-42	47
4.5 AVALIAÇÃO DO VIÉS DE PUBLICAÇÃO	50
5 DISCUSSÃO	51
6 CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO

1.1 DOENÇA DE ALZHEIMER

1.1.1 Histórico e Importância

A Doença de Alzheimer (DA), inicialmente conhecida como Mal de Alzheimer, foi originalmente descrita em 1906 pelo neuropatologista alemão Alois Alzheimer caracterizando a doença inicialmente como uma afecção neurodegenerativa progressiva e irreversível, com aparecimento insidioso, ou seja, muito lento, e que leva a perda da memória e diversos distúrbios cognitivos ao paciente com a doença (Dubinski, 2000).

O primeiro aspecto clínico, e que motiva os familiares a procurarem ajuda médica, é a deficiência ou perda na memória recente. As lembranças remotas são preservadas até certo estágio da doença (Sereniki, 2008).

Esta é uma consequência natural, devido não só ao aumento dependente da idade e do número de casos incidentes de DA, mas também ao desenvolvimento de novas ferramentas de diagnóstico que permitem a sua identificação precoce em idosos com sintomas muito leves de disfunção cognitiva, ou mesmo em indivíduos assintomáticos.

O diagnóstico precoce da DA engloba o diagnóstico em fases pré-demência. Idealmente, o objetivo principal, seria a identificação de indivíduos em risco de demência, sem manifestações clínicas detectáveis desta síndrome, paralelo às tentativas para determinar o risco de a ocorrência futura de grandes eventos de doença, à luz da suscetibilidade subjacente mensurável e/ou marcadores patológicos em estágios iniciais da trajetória clínica da doença (Forlenza, 2013).

1.1.2 Diagnóstico Diferencial

Várias doenças potencialmente tratáveis do Sistema Nervoso Central (SNC) podem gerar síndrome demencial. Então por essa razão, em 1994 a Academia Americana de Neurologia recomendou a análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) no diagnóstico diferencial dos casos de demência em que ocorresse suspeita de algumas doenças como: câncer metastático, infecção do SNC, sorologia positiva para sífilis, hidrocefalia, imunossupressão, vasculite do SNC e em todos os pacientes abaixo de 55 anos de idade. (Knopman et al., 2001) posteriormente confirmou estas diretrizes.

A análise do LCR e soro podem fornecer informações úteis nos casos de afecções ainda consideradas intratáveis nos dias de hoje. Um diagnóstico precoce e definitivo pode fornecer uma janela de tempo aceitável para iniciar o tratamento durante um período em que o paciente tenha comprometimento relativamente leve e tenha mais possibilidades de se beneficiar da terapêutica. À medida que é testado um tratamento mais definitivo, torna-se obrigatório o diagnóstico muito precoce da DA. A análise simultânea de dois ou mais fatores no LCR pode melhorar significativamente a precisão do diagnóstico da DA (Wiltfang, 2009).

1.1.3 Epidemiologia

A DA é considerada a forma mais comum de demência no mundo, particularmente no idoso, uma das mais importantes causas de incapacitação e morte (Wiltfang et al., 2001). Estima-se que a prevalência global aumentará consideravelmente durante as próximas décadas (Ferri et al., 2005).

Muito embora existam raras formas familiares de DA e que normalmente iniciam os primeiros sintomas em idade menos avançada, a maioria absoluta dos pacientes não tem clara esta história familiar então se utiliza o termo 'DA esporádica' para diferenciar da forma familiar da doença (utilizado principalmente na língua inglesa: *sporadic AD*) (McKhann et al., 1984).

A DA é de acometimento tardio, exemplificando, 5% a 10% dos pacientes acima de 65 anos apresentam a doença e aumenta para 20% a 40% daqueles acima de 85 anos. A DA de acometimento precoce, de incidência ao redor de 40 anos mostra tendência genética/familiar importante, como colocado acima (Dubinski, 2000).

Atualmente, uma em cada nove pessoas com idades entre 65 anos ou mais tem DA e mais de uma em cada três pessoas com idades entre 85 e mais velhos são afetados pela doença (Thies e Bleiler, 2013). Com o aumento da idade da população, estima-se que 14-16000000 americanos serão diagnosticados com a doença em 2050, a menos que novos tratamentos para prevenir ou retardar o aparecimento da DA sejam identificados. As mulheres são mais afetadas pela DA. Em contraste, alguns estudos sugerem que os homens estão em maior risco de desenvolver transtorno cognitivo leve (TCL) (Hebert et al., 2003, Hebert et al., 2010).

A idade avançada é o fator de risco mais forte para a DA de tal forma que o risco dobra a cada 5 anos após a idade de 65 anos. Devido ao

rápido envelhecimento da população, a prevalência de DA está enfrentando um crescimento exponencial (Thies e Bleiler, 2013).

Evidências crescentes indicam que a doença vascular além de elevar o risco de demência vascular (DV), também aumenta o risco de DA (de la Torre, 2004). As visões tradicionais sobre a etiologia da DA e DV foram divergentes. DA desenvolve como resultado da deposição de amiloide cerebral, que conduz a uma cascata patológica da neurodegeneração à perda cognitiva (Selkoe, 1991; Hardy e Selkoe, 2002). Em contrário, DV é atribuída a hipoperfusão cerebral e isquemia que estão associados com diminuição da atividade sináptica e síntese de proteínas, a excitotoxicidade do glutamato, e apoptose neuronal (Gorelick et al., 2011). Apesar destas perspectivas tradicionais, grandes estudos prospectivos de base populacional têm demonstrado que fatores de risco vascular na meia-idade, como a hipertensão arterial sistólica e hiperlipidemia, levaram a aumento significativo do risco de DA na velhice (Kivipelto et al., 2001).

1.1.4 Fisiopatologia

Muito embora o mecanismo fisiopatológico preciso subjacente à doença, não seja totalmente esclarecido, no início da DA, o processo patogênico é normalmente despercebido e especula-se que preceda os primeiros sintomas por 10 ou mais anos (Hansson et al., 2006).

Apesar do imenso esforço da comunidade científica nas duas últimas décadas para desvendar os mecanismos patológicos responsáveis pela DA, suas bases moleculares permanecem em grande parte desconhecidas. Os principais achados neuropatológicos na DA caracterizados por Wilfang (2009) são: perda neuronal com atrofia cerebral, distúrbios da neurotransmissão, bem como reação inflamatória local da glia.

As placas senis (PS) são lesões extracelulares formadas de débris e restos celulares com um núcleo central proteico sólido constituído pelo peptídeo $A\beta$, esse peptídeo é originado a partir da clivagem proteolítica de uma proteína precursora maior, a proteína precursora de amiloide (APP) (Wilfang, 2009). Outro marcador são os emaranhados neurofibrilares (ENF) que são lesões intraneuronais composta por agregados de proteína TAU hiperfosforilado (P-TAU).

As bases histológica e fisiopatológica da enfermidade foram relatadas por Barnes et al., (2005), e fundamentam-se na depleção da acetilcolina (ACh), pela redução da colina-acetiltransferase e dos receptores nicotínicos da ACh. O local de redução deste neurotransmissor, segundo

o mesmo autor, seria na fenda sináptica dos neurônios, localizados especialmente nos lobos temporal, parietal, núcleo basal de Meynert e hipocampo. Outros neurotransmissores como a serotonina, a noradrenalina e a dopamina também tem sido relatados tanto na gênese quanto na apresentação clínica da doença.

Com a evolução da doença, o processo degenerativo atinge outras áreas como o neocórtex de associação, comprometendo áreas cerebrais responsáveis por outros processos cognitivos (Forlenza, 2005).

Caracterizando o exame macroscópico do cérebro do paciente com DA se verifica uma atrofia difusa do córtex cerebral e aumento secundário do sistema ventricular. Na microscopia eletrônica também se observam placas neuríticas extracelular contendo peptídeo A β , no citoplasma neuronal emaranhado neurofibrilares, que se coram pela prata, também nas paredes dos vasos sanguíneos arteriais há o acúmulo de peptídeo A β (Xia et al., 1997).

1.1.5 Diagnóstico

O diagnóstico de DA é especialmente difícil na fase inicial da doença, a sintomatologia inicial é frequentemente inespecífica e imprecisa e pode assim estar presente em uma grande variedade de outros distúrbios. Estudos anteriores demonstraram que o diagnóstico clínico da DA pode chegar a uma precisão de 85-90%, isso se realizada em centros de referência. Sendo este diagnóstico baseado em critérios de exclusão, e o diagnóstico definitivo aceito somente após a autópsia (McKhann et al., 1984).

Conforme o consenso descrito por McKhann et al. (1984) utilizado ainda atualmente como padrão ouro (*gold standard*) para o diagnóstico clínico na DA, tipicamente necessita uma (1) história clínica do paciente (ou, idealmente através de um informante confiável), resultado dos (2) testes do estado mental, um (3) exame físico geral e (4) neurológico, uma série de (5) exames laboratoriais, um (6) estudo de neuroimagem para então descartar outras causas de demência. É reconhecido certo grau de incerteza no diagnóstico clínico da doença que é realizado em termos de 'DA Provável' e 'DA Possível', lembrado que o diagnóstico definitivo é realizado na autópsia e baseado em mudanças neuropatológicas no cérebro caracterizado por: (I) presença de placa senil, (II) emaranhados neurofibrilares e (III) perda neuronal.

1.1.6 Bases do Tratamento

A introdução dos fármacos para o tratamento de DA, tais como os inibidores da acetilcolinesterase e antagonistas de receptores N-metil D-aspartato (NMDA), representou um potencial de benefício terapêutico considerável, ante uma doença até então considerada irreversível (Knopman, 2001; Bullock, 2002).

Uma barreira ao desenvolvimento de tratamentos mais eficazes tem sido atribuída a ausência de biomarcadores adequados para o diagnóstico precoce da doença na sua fase inicial, antes da formação das placas amilóides e a ocorrência de danos neuronais irreversíveis. Uma vez que os agregados A β têm sido sugeridas na fisiopatologia da DA, o aparecimento da doença pode ser correlacionado a estes agregados (Gao et al., 2010). Apesar desta correlação os marcadores A β não são usados na rotina clínica para identificação da DA (Andreasen et al., 2001).

Como comentado anteriormente o processo de doença, provavelmente, começa décadas antes do aparecimento clínico da doença (20-30 anos na fase pré-clínica segundo Blennow, 2006). Modificadores da doença, tais como terapias com inibidores de α e β -secretase ou regimes de vacinação, são mais susceptíveis de serem eficazes se iniciado durante as fases iniciais da DA quando o neurodegeneração não é muito grave. Portanto, existe uma necessidade urgente de métodos para detectar com precisão a doença antes dos indivíduos afetados tornarem-se demenciados (Blennow, 2006; Perrin et al., 2009).

Os Inibidores da Acetilcolinesterase (I-ChE) são as principais drogas hoje licenciada para o tratamento específico da DA. Seu uso baseia-se no pressuposto déficit colinérgico que ocorre na doença, e visa o aumento da disponibilidade sináptica de acetilcolina, através da inibição das suas principais enzimas catalíticas, a acetil e a butirilcolinesterase. Têm efeito sintomático discreto sobre a cognição, algumas vezes beneficiando também certas alterações não cognitivas da demência (Forlenza, 2005).

Outro fármaco usado para tratamento sintomático de DA é a memantina. A justificativa para o uso da mesma reside nos seus efeitos sobre a neurotransmissão glutamatérgica que, assim como a colinérgica, encontra-se alterada nessa doença. O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório cerebral, particularmente em regiões associadas às funções cognitivas e à memória, tais como o córtex temporal e o hipocampo (Forlenza, 2005).

1.2 BIOMARCADORES

1.2.1 Importância

Devido o espaço intercelular do cérebro estar diretamente em contato com o LCR, alterações bioquímicas no cérebro pode ser refletido na análise do LCR (Andreasen et al., 1999).

Marcadores diagnósticos no LCR serão especialmente importantes quando os farmacos com efeitos potenciais sobre a progressão da DA (por exemplo, inibidores de secretases) atingirem a fase clínica (Andreasen et al., 2003).

1.2.2 Definição

Biomarcadores podem ser definidos como parâmetros, determinados por medida e quantidade, o que nos servem de indicadores de saúde e doença. Identifica primariamente a existência ou ausência de uma doença ou confirma o risco de desenvolvimento da mesma. Biomarcadores podem ser classificados, por exemplo, de acordo com sua relação com a doença: podem ser primário (específico) ou secundário a doença, ou eles podem simplesmente ser um fenômeno natural (Frey et al., 2005).

1.2.3 Biomarcador Ideal

Segundo o grupo de trabalho sobre marcadores moleculares e bioquímicos da doença de Alzheimer, o biomarcador ideal para diagnóstico da DA não deve ser capaz apenas de detectar uma característica fundamental da neuropatologia de Alzheimer, mas também deve detectar DA no início de seu curso e distinguí-la de outras formas de demência.

Corroborando com o principio acima Colemam (1987) e Davidsson e Blennow (1998) citam que um marcador bioquímico ideal para DA deve refletir os processos patogênicos centrais, ou seja, a degeneração dos neurônios e sinapses, e o aumento do número de PS e ENF.

1.2.4 Tipos de Biomarcadores

Desde 1995, dois marcadores bioquímicos no LCR têm surgido: a proteína tau total (T-tau) e o peptideo A β 1-42. Aumento nos níveis de

T-tau e diminuição nos níveis de A β 1-42 têm sido relatados em vários estudos, incluindo estudo multicentrico (Hulstaert et al., 1999) e em estudos que avaliam estes biomarcadores na rotina clínica (Andreassen, 1999; Andreassen 2001).

Andreassen (2003) de forma mais didática subdividiu-os em três biomarcadores presentes no LCR. Inclusive os relacionados aos processos patogênicos centrais da DA. Sendo a proteína T-tau (como um marcador para a degeneração neuronal), descreveu a proteína tau fosforilado (P-tau) (como um marcador para a hiperfosforilação de tau e possivelmente, para a formação dos emaranhados neurofibrilares), e o peptídeo A β 1-42 (como um marcador para o metabolismo A β e possivelmente, para a formação de PS).

Diversos grupos de estudo têm encontrado níveis elevados de Tau (Motter et al., 1995; Galasko et al., 1998; Blennow et al., 2001) e redução nos níveis de A β 1-42 (Motter et al., 1995; Tamaoka et al., 1997; Galasko et al., 1998; Andreassen et al., 1999) no LCR de pacientes com DA comparados com controles pareados por idade.

1.3 PEPTÍDEO B-AMILÓIDE

1.3.1 Fisiopatologia do β -amilóide

Há controvérsias sobre o papel fisiológico da proteína precursora do A β (APP). A APP é processada enzimaticamente pelas secretases α , β e γ , para liberar várias formas de peptídeos A β (Wiltfang, 2002).

Ainda não estão claros os mecanismos que levam à diminuição das concentrações de A β 1-42 no LCR de pacientes com DA. Alguns investigadores sugerem o acúmulo do peptídeo nas placas. A composição das placas de A β são resultado da clivagem enzimática da APP. Clivagem esta que gera principalmente peptídeos (Kang et al., 1987).

A APP é uma proteína transmembrana codificada na espécie humana por um gene (localizado no cromossomo 21), e seu splicing alternativo resulta em pelo menos oito isoformas. No cérebro expressa-se principalmente a isoforma conhecida como APP 695 (ou seja, a que contém 695 resíduos de aminoácidos) (Panegyres, 1997).

As PS (compostas por peptídeo A β) acumulando-se no espaço extracelular (entre os neurônios), assim como os ENF no citoplasma celular do neurônio, leva a degeneração neuronal, com a perda da função sináptica.

O diagnóstico definitivo da doença é feito com o exame anatomopatológico do tecido cerebral o que na prática clínica torna-se inviável. Então, atualmente para realizar o diagnóstico Utiliza-se a combinação da avaliação clínica e dos métodos radiológicos modernos o que permite um diagnóstico preciso em 80% a 90% dos casos (Lim et al., 1999).

Segundo Andreasen et al. (1999) a sensibilidade do nível do peptídeo A β no LCR como marcador diagnóstico para DA é alto. A variação biológica interindividual no nível de peptídeo A β é baixa. Baixo nível de peptídeo A β no LCR é também encontrado em estágios precoces da DA. Achados sugerem que a análise do peptídeo A β pode ser importante no diagnóstico clínico de DA, especialmente no início do curso da doença, quando o tratamento com fármacos tem um grande efeito potencial, mas o diagnóstico clínico se mostra especialmente muito difícil.

Os valores de sensibilidade e de especificidade de A β 1-42 que isoladamente distinguem os pacientes com DA dos controles idosos foram de 78% e 81%, respectivamente (Hulstaert et al., 1999). Galasko et al. (1998) relataram valores semelhantes de 78% e 83% para sensibilidade e especificidade respectivamente.

1.4 REVISÃO SISTEMÁTICA

A revisão sistemática (RS) envolve a aplicação de estratégias científicas para sua elaboração através de métodos específicos sistemáticos para identificar, selecionar e avaliar pesquisas relevantes bem como coletar e analisar dados de estudos incluídos na revisão, visando principalmente a limitar vieses por meio de resposta a uma pergunta específica que suscite controvérsia (Egger et al., 2001). Além disso, estes achados representam importante contribuição científica, pois o resultado de estudos combinados possui grande poder estatístico (Mulrow et al., 1994; Cook et al., 1997).

Testes diagnósticos são utilizados rotineiramente na medicina para rastreamento, diagnóstico e monitorização da progressão de uma doença. Informações diagnósticas são obtidas de diversas maneiras, incluindo história clínica, exame físico, análises bioquímicas, imagens e avaliações histológicas (Sackett, 1969; Sackett, 1978; Sackett, 2002).

Os protocolos de condutas (*guidelines*) estão preferencialmente baseados em estudos de revisões sistemáticas (Cook et al., 1997), haja vista integrarem, de forma eficiente e racional, informações e dados que

auxiliam em tomadas de decisões na área da saúde (Mulrow et al., 1994; Cook et al., 1997).

Estudos de RS com enfoque diagnóstico podem contribuir para avaliar o impacto de determinados testes diagnósticos e são essenciais para ajudar a escolher testes com ótima acurácia e que proporcionem apropriada interpretação dos resultados (Egger et al., 2001).

1.5 JUSTIFICATIVA

Em função do envelhecimento populacional e do aumento da expectativa de vida, as demências irão se tornar um sério problema para os sistemas de atendimento à saúde. Em relação à DA, apesar do número cada vez maior de pacientes, poucos progressos foram feitos em direção a um melhor padrão para o diagnóstico em vida. Embora a sensibilidade do diagnóstico clínico seja relativamente alta (93%), a especificidade pode ser mais baixa (55%), conforme relatado por um estudo clínico-patológico multicêntrico realizado por Mayeux (1998).

Este estudo foi conduzido visando contribuir para o diagnóstico de DA em vida.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a acurácia do peptídeo A β 1-42 no LCR, no apoio ao diagnóstico da DA.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a diferença das médias dos níveis de A β 1-42 no LCR entre pacientes com DA e controles;
- Avaliar a sensibilidade e especificidade do peptídeo A β 1-42 no apoio ao diagnóstico de DA.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ESTRATÉGIA DE BUSCA

Foram pesquisados os seguintes bancos de dados eletrônicos: Biblioteca Cochrane, MEDLINE, LILACS, EMBASE, Resumo de Congressos e literatura cinza (Google Scholar e da British Library) para artigos publicados entre janeiro de 1990 a maio de 2013. Utilizou-se os seguintes termos, para realizar a estratégia de busca: "Doença de Alzheimer" ou "DA" e " β -amilóide" ou " $A\beta$ 1-42". A busca foi limitada a estudos em humanos e não houve restrições de língua. As listas de referências de todos os estudos primários disponíveis foram identificadas por citações relevantes adicionais.

3.1.1 Estratégia de busca no MEDLINE (PubMed)

1. "sensitivity and specificity" [all fields]
2. "sensitivity and specificity/standards" [all fields]
3. "specificity" [all fields]
4. "screening" [all fields]
5. "false positive" [all fields]
6. "false negative" [all fields]
7. #1 OR #2 OR #3 OR #4 OR #5 OR #6
8. "accuracy" [all fields]
9. "predictive value" [all fields]
10. "predictive value of tests" [all fields]
11. "reference value" [all fields]
12. "reference values" [all fields]
13. "reference standards" [all fields]
14. #8 OR #9 OR #10 OR #11 OR #12 OR #13
15. "roc" [all fields]
16. "roc analysis" [all fields]
17. "roc and" [all fields]
18. "roc area" [all fields]
19. "roc auc" [all fields]
20. "roc characteristics" [all fields]
21. "roc curve" [all fields]
22. "roc curve method" [all fields]
23. "roc curves" [all fields]
24. "roc estimated" [all fields]
25. "roc evaluation" [all fields]

26. “likelihood ratio” [all fields]
27. #15 OR #16 OR #17 OR #18 OR #19 OR #20 OR #21 OR #22 OR #23 OR #24 OR #25 OR #26
28. #7 AND #14 AND #27
29. AD [mh]
30. Alzheimer [tw] AND dementia [tw]
31. Alzheimer*[tw] AND diseasetw]
32. #29 OR #30 OR #31
33. #28 AND #32
34. Abeta 42 [tw]
35. beta-amyloid (1-42) [tw]
36. Amyloid β [tw] AND Peptides [tw]
37. neuro proteomics [tw]
38. #33 OR #34 OR #35 OR #36
39. #33 AND #38

3.1.2 Estratégia de busca na Cochrane Library e LILACS

1. Alzheimer disease (and)
2. Alzheimer dementia (and)
3. Beta-amyloid (and)

3.1.3 Triagem de resumos de elegibilidade

Os resumos e os títulos identificados a partir da estratégia de busca foram selecionados por três revisores (MIR, JLP e LRM) de forma independente. As discordâncias sobre a inclusão ou exclusão de estudos foram resolvidas por consenso e, quando isso não era possível, eles foram arbitrariamente resolvidos por um quarto revisor (BRS).

3.2 SELEÇÃO DOS ESTUDOS

Foram incluídos estudos de coorte, caso-controle, transversais, prospectivo ou retrospectivo, que avaliaram os níveis de proteína A β terminando no aminoácido 42 (A β 1-42) como um biomarcador para DA no LCR.

3.2.1 Pacientes

Foram analisados estudos que incluíram inicialmente pacientes com diagnóstico clínico de DA de acordo com critérios clínicos estritamente

aplicados ao diagnóstico e em que concentrações líquóricas de A β 1-42 haviam sido determinadas. Os pacientes com outras causas de deficiência cognitiva, incluindo hematoma subdural, tumor cerebral, infecção do sistema nervoso central, a esquizofrenia, episódio depressivo maior e abuso de álcool, foram excluídos.

3.2.2 Teste Diagnóstico

O teste diagnóstico consistiu na análise de concentrações de A β 1-42 no LCR em DA.

3.2.3 Padrão Ouro

O padrão ouro foi o diagnóstico da DA com base nos critérios do Manual de Diagnóstico e Estatística de Transtornos Mentais, quarta edição (DSM -IV- TR). e do grupo de trabalho do National Institute of Neurological Disorders and Stroke–Alzheimer Disease and Related Disorders (NINCDS–ADRDA) (McKhann et al., 1984).

3.3 EXTRAÇÃO DE DADOS

Dois investigadores (MIR, JLP) extraíram independentemente os dados dos estudos primários. Enquanto que a avaliação de artigos em língua não inglesa foi realizada de forma independente por outro revisor (LRM), seguindo sua tradução quando necessário. Qualquer desacordo foi resolvido por consenso tanto para estudos em língua inglesa e não Inglesa. Foram excluídos os pacientes com diagnóstico de transtorno cognitivo leve.

Foram extraídos os dados sobre o estudo, pacientes e características do teste usando um formulário padronizado. Dois revisores (BRS, JLP) independentemente extraíram dados sobre a prevalência da DA. Calculou-se a sensibilidade, especificidade, razão de verossimilhança positiva e negativa e Odds Ratio Diagnóstica (DOR) a partir da tabela de contingência extraída de cada estudo preliminar. Os estudos que não tinham os dados necessários para criar as tabelas 2x2 foram excluídos. Qualquer desacordo foi resolvido por consenso para estudos publicados em qualquer língua. A inclusão ou exclusão final foi feita com check-list para critérios de seleção. Discordâncias sobre a inclusão ou exclusão de estudo na metanálise foram inicialmente resolvidos por consenso e, quando isso não era possível, eles foram arbitrariamente resolvidos por um revisor (LRM).

3.4 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA

Os estudos de acurácia diagnóstica foram avaliados de acordo com critérios da Avaliação da Qualidade de Estudos de Acurácia Diagnóstica - 2 (do inglês - *Quality Assessment of Diagnostic Accuracy - 2 - QUADAS-2*). Esta técnica deve ser aplicada, para avaliar o desenho do estudo e os resultados. É composta por quatro domínios: seleção dos pacientes, o teste diagnóstico, padrão ouro e o fluxo de pacientes através do estudo e tempo do(s) teste(s) diagnóstico(s) e padrão ouro ("fluxo e tempo") (Whiting et al., 2011).

3.5 SÍNTESE DE DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para cada estudo, tabelas de contingência 2x2 foram construídas em que todos os casos foram classificados como DA e não-DA. Calculou-se a taxa de verdadeiros positivos (VP), falsos positivos (FP), falsos negativos (FN), verdadeiros negativos (VN) e a partir desses dados a sensibilidade, especificidade, razão de verossimilhança (RV) e *Odds Ratio* Diagnóstica (DOR) (do inglês, *Diagnostic Odds Ratio*) foram analisadas. Quando a tabela de contingência 2x2 tinha uma célula com um valor 0 (zero), os cálculos foram corrigidos utilizando-se nesta célula o valor de 0,5. Quando um estudo continha duas células com o valor de 0 (zero), este estudo foi excluído da análise. A análise bivariada foi utilizada para calcular as estimativas combinadas de sensibilidade, especificidade e RV, com intervalos de confiança de 95% (IC). O modelo bivariado mantém a natureza de duas dimensões dos dados de diagnóstico através da análise logit transformando sensibilidade e especificidade de cada estudo num modelo único e considera ambos dentro de estudo e a variabilidade entre estudos, em contraste com o método de Littenberg e Moses, que parte de um modelo de efeito fixo. Para detectar o ponto de corte, a relação entre sensibilidade e especificidade foi avaliada utilizando o coeficiente de correlação de Spearman. As estimativas combinadas foram calculadas apenas para estudos mostrando homogeneidade clínica e estatística suficiente. Os Testes I^2 ou Q (comumente usados na metanálise) não são recomendados para avaliar a homogeneidade estatística em análises de diagnóstico, porque eles não consideram a associação entre sensibilidade e especificidade. A DOR pode se relacionar com diferentes combinações de sensibilidade e especificidade. A DOR descreve as probabilidades de os resultados dos testes positivos em participantes com doença em comparação com as chances de resultados

positivos em pessoas sem a doença. A DOR ilustrada na fórmula abaixo será utilizada para relatar as diferentes combinações de sensibilidade e especificidade. A DOR é uma medida para discriminar o poder do teste diagnóstico: a razão de odds de teste positivo entre doentes, e o odds do teste positivo entre os não doentes.

$$\text{DOR} = \frac{\text{sensibilidade} / (1 - \text{sensibilidade})}{(1 - \text{especificidade}) / \text{especificidade}}$$

A heterogeneidade das sensibilidades e especificidades dos diferentes estudos foi analisada através do teste de Cochran (Q_T) pela distribuição do χ^2 com N-1 graus de liberdade. No caso de correlação, uma curva calculada a partir da curva Sumarizada da Característica Operativa do Receptor (do inglês - *Summary Receiver Operating Characteristic* - SROC) combinada será gerada considerando os dados de todos os limiares, usando assim o método de Littenberg e Moses (Altman, 1991).

A curva SROC foi gerada usando dados de todos os limites, usando o método de Littenberg e Moses. A área sob a curva (AUC) pode resumir a capacidade intrínseca de um teste para discriminar um doente a partir de um sujeito não doente. Testes precisos geralmente têm AUC próximos a 1 e os testes pobres costumam ter AUC próximos a 0,5. Análises de sensibilidade foram realizadas para avaliar estudos excluídos com um alto risco de viés de verificação de acordo com o QUADAS 2.

O possível viés de publicação foi investigado usando-se gráfico de funil e regressão de Egger (Egger et al., 1997; Egger e Smith, 1998). O viés de publicação é a tendência de os estudos com resultados positivos serem mais frequentemente publicados do que os estudos com resultados negativos. Cada ponto do gráfico representa um estudo e tamanho amostral. A forma de funil simétrico sugere ausência de viés de publicação. A aparência assimétrica sugere que houve viés de publicação (Egger et al., 1997; Egger e Smith, 1998).

A metanálise foi realizada utilizando o software Review Manager® (RevMan) versão 5.2, o software Meta-Disc® versão 1.4 e o software Stata® versão 11.0 (Zamora et al., 2006; Stata, 2009; Collaboration, 2013).

4 RESULTADOS

4.1 PESQUISA BIBLIOGRÁFICA E IDENTIFICAÇÃO DOS ESTUDOS

A pesquisa identificou um total de 804 citações, das quais 419 eram potencialmente relevantes após a avaliação inicial. Destes estudos, 378 artigos completos foram excluídos. Quarenta e um estudos primários, envolvendo 5.086 pacientes (2.932 AD e 2.154 controles), preencheram os critérios de inclusão e foram analisados na Tabela 1. O processo de seleção de estudo está resumido na Figura 1. (Galasko et al., 1998; Kanai et al., 1998; Andreasen et al., 1999; Tapiola et al., 2000; Andreasen et al., 2001; Kandimalla et al., 2001; Kapaki et al., 2001; Rösler et al., 2001; Riemenschneider et al., 2002; Andreasen et al., 2003; Ganzer et al., 2003; Kapaki et al., 2003; Maddalena et al., 2003; Lewczuk et al., 2004; Schoonenboom et al., 2004; Ivanoiu e Sindic, 2005; Noguchi et al., 2005; Olsson et al., 2005; Schoonenboom et al., 2005; Bibl et al., 2006; de Jong et al., 2006; Ibach et al., 2006; Vanderstichele et al., 2006; Bibl et al., 2007; Kapaki et al., 2007; Höglund et al., 2008; Kapaki et al., 2008; Smach et al., 2008; Koopman et al., 2009; Roher et al., 2009; Shaw et al., 2009; Welge et al., 2009; de Meyer et al., 2010; Gao et al., 2010; Hertze et al., 2010; Kester et al., 2010; Landau et al., 2010; Morinaga et al., 2010; Mulder et al., 2010; Schmidt et al., 2010; Kandimalla et al., 2011; Thaweeepoksomboon et al., 2011).

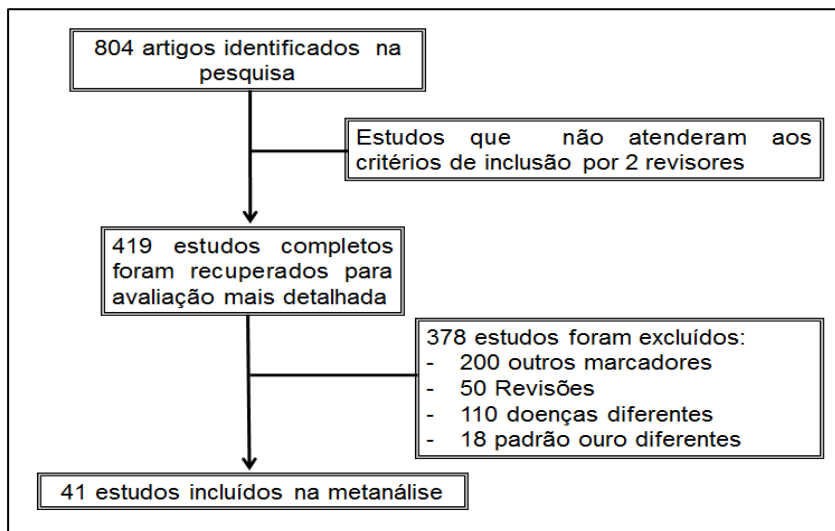


Figura 1 - Diagrama de fluxo do processo de seleção dos estudos

Fonte: Elaborado pelo autor (2014).

Quadro 1 - Características dos estudos incluídos na revisão sistemática e extração de dados da literatura

Estudo/Ano	Pais	DA	Idade	Cut off (pg/ml)	VP	FP	FN	VN	Sensibilidade	Especificidade
Andreasson et al., 1999	Suécia	53	-	1130	49	2	4	19	0,92 (0,82 - 0,98)	0,90 (0,70 – 0,99)
Andreassen et al.,2001	Suécia	105	75.9(±6.8)	523	99	11	6	89	0,94 (0,88 - 0,98)	0,89(0,81- 0,94)
Andreassen et al., 2003	Suécia	44	73.7	600	34	4	10	28	0,77 (0,62 – 0,88)	0,87(0,71- 0,96)
Bibl et al., 2006	Alemanha	18	69.7(±10.6)	559	18	1	0	13	1,00 (0,81 - 1,00)	0,93(0,66- 0,1)
Bibl et al., 2007	Alemanha	71		555	60	4	11	16	0,84 (0,74 – 0,92)	0,80 (0,56- 0,94)
de Jong et al., 2006	Holanda	61	68(±8.8)	603	57	2	4	28	0,93 (0,84 0 0,98)	0,93 (0,78- 0,99)
de Meyer et al., 2010	Bélgica	100	76(±4)	188	91	43	7	71	0,93 (0,86 0 0,97)	0,62 (0,53 – 0,71)
Galasko et al., 1998	EUA	82	71.7(±8.4)	1031	74	12	8	48	0,90 (0,82 - 0,96)	0,80 (0,68 – 0,89)
Ganzer et al., 2003	Alemanha	105	72(49-87)	293,5	96	29	9	39	0,91 (0,84 – 0,96)	0,57 (0,45 – 0,69)
Gao et al., 2010	Suécia	26	71.84 (±7.3)	150	21	1	5	9	0,81 (0,61 – 0,93)	0,90 (0,55 – 0,1)

Continua

Quadro 1 - Características dos estudos incluídos na revisão sistemática e extração de dados da literatura
Continuação

Estudo/Ano	País	DA	Idade	Cut off (pg/ml)	VP	FP	FN	VN	Sensibilidade	Especificidade
Hertze et al., 2010	Bélgica	94	77(±7.1)	523	51	4	43	34	0,54 (0,44 – 0,65)	0,89(0,75-0,97)
Höglund et al., 2008	Suécia	22	72(59-80)	-	14	0	8	19	0,64 (0,41-0,83)	1,00 (0,82-1,00)
Ibach et al., 2006	Alemanha	76	-	530	53	12	23	27	0,70 (0,58 – 0,80)	0,69 (0,52 – 0,83)
Ivanouiu & Sindic, 2005	Bélgica	75	70.6(±9.8)	-	50	2	25	36	0,68 (0,55 – 0,77)	0,95 (0,82 – 0,99)
Kanai et al., 1998	Japão	93	70(40-92)	256	88	10	5	44	0,95 (0,88 – 0,98)	0,81 (0,69 – 0,90)
Kandimalla et al., 2011	India	44	61.84(±8.9)	662.65	38	6	4	40	0,90 (0,77 – 0,97)	0,87 (0,74 – 0,95)
Kapaki et al., 2001	Grécia	38	68(±10)	375	33	5	11	36	0,75 (0,60 – 0,87)	0,88 (0,74 – 0,96)
Kapaki et al., 2003	Grécia	49	67.6(±9.3)	490	40	10	9	39	0,82 (0,68 – 0,91)	0,80 (0,66 – 0,90)
Kapaki et al., 2007	Grécia	67	66(±10)	445	48	8	19	64	0,72 (0,59 – 0,82)	0,89 (0,79 – 0,95)
Kapaki et al., 2008	Grécia	76	66(±10)	445	41	10	35	83	0,54 (0,42 – 0,65)	0,89 (0,81 – 0,95)
Kester et al., 2010	Holanda	47	67.74(±9)	550	37	6	10	12	0,79 (0,64 – 0,89)	0,67 (0,41 – 0,87)

Continua

Quadro 1 - Características dos estudos incluídos na revisão sistemática e extração de dados da literatura
Continuação

Estudo/Ano	País	DA	Idade	Cut off (pg/ml)	VP	FP	FN	VN	Sensibilidade	Especificidade
Koopman et al., 2009	Bélgica	95	76(71-86)	36	70	19	15	31	0,82 (0,73 – 0,90)	0,62 (0,47 – 0,75)
Landau et al., 2010	EUA	193	78.2(±7.5)	-	159	69	34	16 0	0,82 (0,76 – 0,87)	0,70 (0,63 – 0,76)
Lewcsuk et al., 2004	Alemanha	22	68(62-77)	550	19	6	3	29	0,86 (0,65 – 0,97)	0,83 (0,66 – 0,93)
Maddalena et al., 2003	Suíça	51	62.3(±11.2)	490	40	3	11	28	0,78 (0,65 – 0,89)	0,90 (0,74 – 0,98)
Morinaga et al., 2010	Japão	111	71.84(±7.3)	490	96	7	5	43	0,95 (0,89 – 0,98)	0,86 (0,73 – 0,84)
Mulder et al., 2010	Holanda	240	66.7(±9.2)	550	210	22	38	10 9	0,85 (0,80 – 0,89)	0,83 (0,76 – 0,89)
Noguchi et al., 2005	Japão	69	70.5	289	58	5	11	38	0,84 (0,73- 0,92)	0,88 (0,75- 0,96)
Olsson et al., 2005	Suécia	78	78(74-82)	515	71	10	7	43	0,91 (0,82 – 0,96)	0,81 (0,68 – 0,91)
Riemenschneider et al., 2002	Alemanha	74	68.9(±9.8)	664	66	2	8	38	0,89 (0,80 – 0,95)	0,95 (0,83 – 0,99)
Roher et al., 2009	EUA	47	79.1(±9.91)	-	36	16	9	27	0,80(0,65 – 0,90)	0,63 (0,47 – 0,77)

Continua

Quadro 1 - Características dos estudos incluídos na revisão sistemática e extração de dados da literatura
Conclusão

Estudo/Ano	País	DA	Idade	Cut off (pg/ml)	VP	FP	FN	VN	Sensibilidade	Especificidade
Rösler et al., 2001	Austria	27	68.7(±2.2)	-	46	1	1	20	0,98 (0,89 – 0,1)	0,95 (0,7 – 0,1)
Schoonenboom et al., 2004	Holanda	47	59(52-68)	-	46	1	1	20	0,98(0,89-0,1)	0,95 (0,76 – 0,1)
Schoonenboom et al., 2005	Holanda	39	-	473	35	2	4	28	0,90 (0,76 – 0,97)	0,93 (0,78 - 0,1)
Schimidt et al., 2010	Alemanha	76	-	600	64	11	12	45	0,84 (0,74 – 0,92)	0,80 (0,68 – 0,90)
Shaw et al., 2009	EUA	100	75(±8)	192	97	27	3	87	0,97 (0,91-0,99)	0,76 (0,67 – 0,84)
Smach et al., 2008	Tunisia	87	73	505	68	7	9	22	0,88 (0,79-0,94)	0,76 (0,56 – 0,90)
Tapiola et al., 2000	Finlândia	80	71(±8)	340	63	5	17	34	0,79 (0,68-0,87)	0,87 (0,73 – 0,96)
Thaweepoksomboon, et al., 2011	Tailândia	12	67.79(12.3)	487	12	8	2	8	0,86 (0,57 – 0,98)	0,50 (0,25 – 0,75)
Vanderstichele et al., 2006	Itália	94	67.5(60.3-67)	594	87	10	7	50	0,93 (0,85 – 0,97)	0,83 (0,71 – 0,92)
Welge et al., 2009	Alemanha	44	69.8(±8.49)	-	38	31	6	56	0,86 (0,73 – 0,95)	0,64(0,53 – 0,74)
TOTAL		2932			2473	4443	459	1710	0.84 (0.85-0. 81)	0.79 (0.77 -0. 81)

Fonte: Elaborado pelo autor (2014).

4.2 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE

O risco de viés para seleção do paciente, teste em estudo e padrão de referência, e fluxo e tempo, bem como a aplicabilidade relacionados com os três primeiros domínios são mostrados na Figura 2. Os itens QUADAS foram avaliados, e 31 estudos receberam uma avaliação positiva em todos os domínios. Outros mostraram pelo menos um item “não claro” na lista. Nossa confiabilidade entre avaliadores para avaliar a qualidade metodológica com QUADAS foi de 94% ($\kappa = 0,86$), indicando boa concordância.

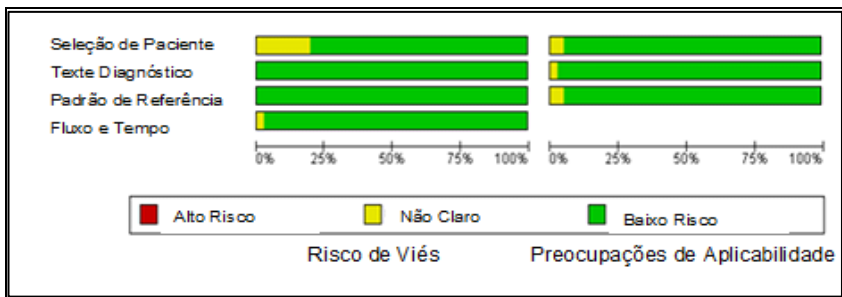


Figura 2 - Resultado da avaliação de risco de viés por estudo de acordo com a Avaliação da Qualidade de Estudos de Acurácia Diagnóstica - 2 (QUADAS-2).

Fonte: Elaborado pelo autor (2014).

4.3 A ANÁLISE DE SENSIBILIDADE

Entre os 41 estudos incluídos na metanálise, alguns foram identificados como discrepantes, e uma reanálise foi realizada sem eles. No entanto, não houve diferença significativa na sensibilidade ou especificidade, assim, decidiu-se não excluir esses artigos da metanálise.

4.4 DESEMPENHO DIAGNÓSTICO DE CONCENTRAÇÕES LIQUÓRICAS DE A β 1-42

A Figura 3 mostra o gráfico de floresta da DOR e correspondente IC 95%. A DOR mostrou uma significância de 28,9 (95% IC, 21,2% a 39,5%). A Metanálise mostrou uma sensibilidade global de 84,3 % (95% IC, 85,6% a 81%) e uma especificidade de 79,4% (95% IC, 77,6% a 81,1%) (Tabela 1). A curva SROC assimétricas foi utilizada devido à heterogeneidade entre os estudos (Figura 4). A RV+ e RV- foram 4,5 (95% IC, 3,7 a 5,4) e 0,18 (95 % IC, 0,14 a 0,22), respectivamente.

No subgrupo de 11 estudos que relataram a média e desvio padrão dos níveis de A β 1-42 no LCR de pacientes com DA, o valor médio foi de 467,2 pg/ml para pacientes com DA (\pm 189,1), enquanto no grupo controle foram 925,1 pg/ml (\pm 414,4). Houve diferença estatisticamente significativa entre o nível A β 1-42 no LCR de pacientes com DA em comparação com a dos controles ($p < 0,001$). A diferença média ponderada foi de 450,06 pg/ml, (95 % IC, 611,06 a 289,06) (Figura 5).

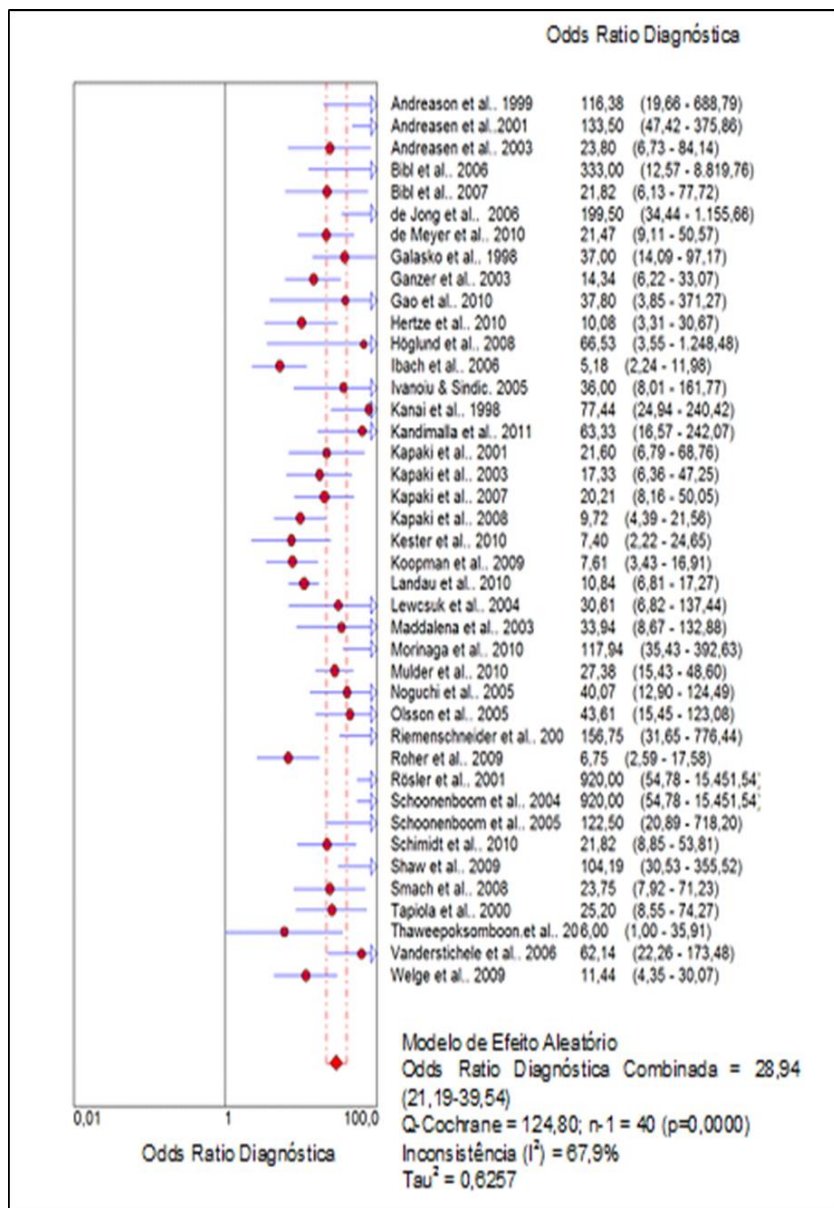


Figura 3 - Gráfico de Floresta da Odds Ratio Diagnóstica do Aβ1-42

Fonte: Elaborado pelo autor (2014).

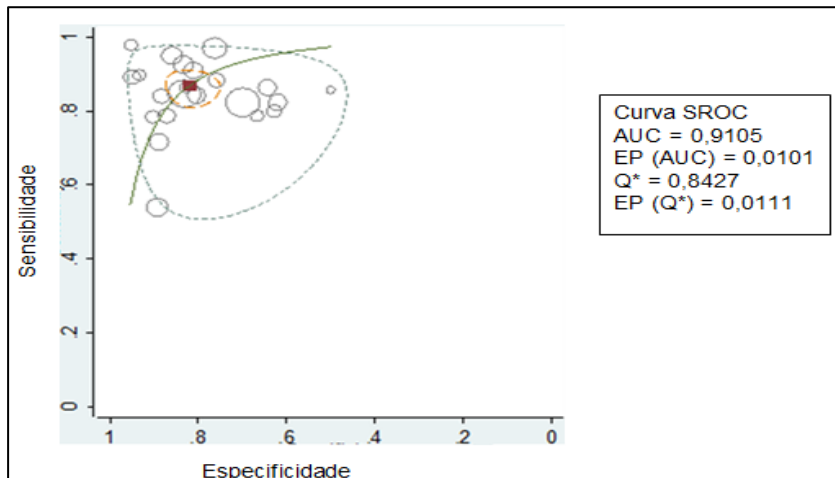


Figura 4 - Curva SROC do A β 1-42

Fonte: Elaborado pelo autor (2014).

Subgrupo dos Estudos	Doença de Alzheimer		Controle			Diferença da Média	
	Média	DP	Total	Média	DP	Total	Peso, Aleatório IC 95%
Andreason et al., 1999	523	180	105	897	242	100	9.3% -374.00 [-432.61, -315.39]
Andreassen et al., 2001	709	304	53	1,678	436	21	8.2% -969.00 [-1172.65, -765.35]
de Jong et al., 2006	414	128	61	869	207	30	9.2% -455.00 [-535.74, -374.26]
Galasko et al., 1998	833	379	82	1,485	473	60	8.8% -652.00 [-797.10, -506.90]
Hertze et al., 2010	480	247	94	1,019	435	38	8.8% -539.00 [-686.04, -391.96]
Kanai et al., 1998	355.22	74.29	44	929	156.27	46	9.4% -573.78 [-623.99, -523.57]
Kandimalla et al., 2011	495	164	93	1,090	405	54	9.0% -595.00 [-708.05, -481.95]
Riemenschneider, 2002	523	180	74	897	242	40	9.2% -374.00 [-459.48, -288.52]
Shaw et al., 2009	144	41	100	206	55	114	9.5% -62.00 [-74.90, -49.10]
Tapiola et al., 2000	303	171	80	516	162	39	9.3% -213.00 [-276.16, -149.84]
Welge et al., 2009	360	150	44	590	270	87	9.3% -230.00 [-301.99, -158.01]
Total (95% CI)			830			629	100.0% -450.06 [-611.06, -289.06]

Heterogeneidade, Tau²: 71359,54; Q²:788,60; n-1: 10 (p ≤ 0,00001); I²:99%
 Efeito Global do Teste Z: 5,48 (p ≤ 0,00001)

Figura 5 - Diferença média ponderada entre Doença de Alzheimer e Controle

Fonte: Elaborado pelo autor (2014).

4.5 AVALIAÇÃO DO VIÉS DE PUBLICAÇÃO

O gráfico de funil e o teste de Egger foram realizados para avaliar o viés publicação na literatura. A forma do gráfico de funil mostrou evidência de assimetria ($p=0,003$) (Figura 6).

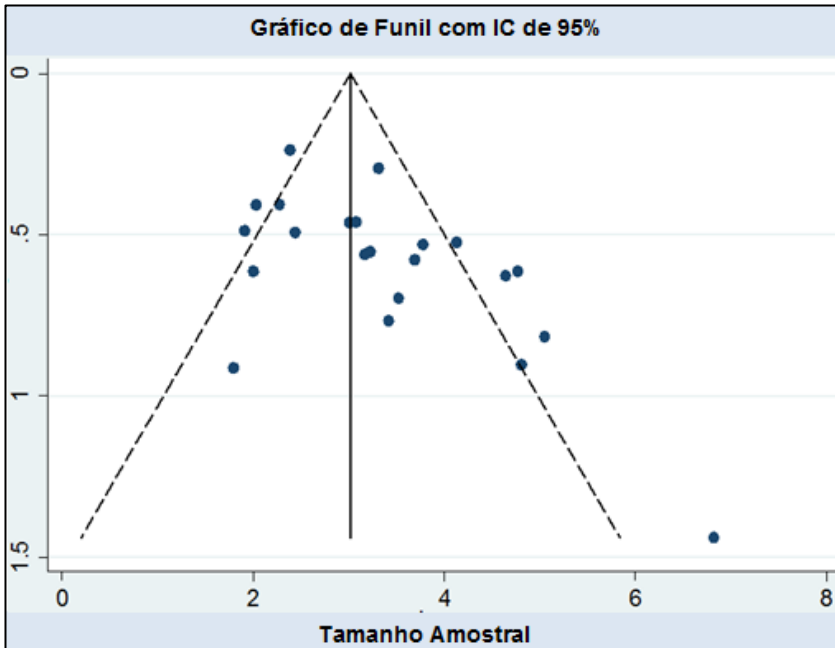


Figura 6 - Gráfico de Funil para estimativa do viés de publicação nos 41 estudos incluídos.

Fonte: Elaborado pelo autor (2014).

5 DISCUSSÃO

Nesta RS, examinamos a literatura sobre A β 1-42 no LCR. No presente estudo, descobrimos que o A β 1-42 poderia discriminar DA de controles com alta acuraria diagnóstica, com sensibilidade de 84,3% (95 % IC, 85,6 % a 81,0%), especificidade de 79,4% (95 % IC, 77,6% a 81,1 %) e DOR de 28,9 (95 % IC, 21,2 a 39,5).

Uma limitação do estudo foi o uso de vários pontos de cortes entre os estudos, além disso, a maioria dos estudos não foram separados DA inicial ou avançada. A conversão para DA em indivíduos com Transtorno Cognitivo leve (TCL) mostrou variação significativa entre os diferentes estudos do liquor. Um estudo longitudinal do LCR em controles normais não encontrou nenhuma mudança nos níveis A β 1-42 após um (1) ano de acompanhamento (do inglês, *follow-up study*) (Vemuri et al., 2010).

Nos estudos avaliados, com uma única exceção, houve a demonstração na redução da concentração do peptídeo A β 1-42 no LCR em pacientes com DA em relação aos controles.

Em 2004, uma metanálise concluiu que a razão A β 1-42/tau teve sensibilidade de 71% e especificidade de 83 % para a DA (Hampel et al., 2004). O rápido declínio cognitivo foi associado com níveis mais elevados de tau e níveis mais baixos de A β 1-42 no LCR (Wallin et al., 2010).

A principal proteína do núcleo depositado no início da formação das PS é a A β 1-42. O LCR de pacientes com DA mostra diminuição dos níveis de A β 1-42. Há redução de cerca de 50% no nível do peptídeo A β 1-42 no LCR de pacientes com DA vs controles (Andreassen et., 1999). A razão para os baixos níveis de proteína amilóide não é clara, mas foi colocada a hipótese de ser o resultado de sequestro de A β 1-42 no tecido cerebral.

Um dos poucos estudos encontrados no qual haveria aumento do peptídeo A β 1-42 no LCR foi Jensen et al., (1999) ao comparar com controles saudáveis.

Vários estudos recentes têm demonstrado que o baixo nível de A β no LCR são um bom indicador da presença de amilóide cortical (Grimmer, 2009; Perrin et al., 2009; Jagust et al., 2009; Tapiola, 2009). A combinação sensibilidade e especificidade para A β 42 em DA versus controles de 13 estudos envolvendo 600 pacientes e 450 controles foram 86 % e 90 %, respectivamente (Blennow et al., 2001).

Höglund et al. (2008) confirma que estão emergindo novas evidências que o peptídeo A β 1-42 comporta-se como uma molécula tóxica

envolvida precocemente na patogênese da DA e estes compostos tem sido demonstrados no LCR. A sensibilidade e especificidade para o A β 1-42 em seu estudo foi 60 e 84%, respectivamente, com 100% especificidade no grupo controle, com o mesmo ponto de corte publicado anteriormente.

O diagnóstico da DA é baseado na adesão a critérios clínicos, como os do *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke/Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS/ADRDA) and Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV)* (McKhann et al., 1984). Um conjunto mais recente de critérios diagnósticos propõe incorporar imagens no diagnóstico DA (Dubois et., 2007). Os biomarcadores estão sendo estudados para melhorar o diagnóstico da DA.

O A β é secretado no espaço extracelular dos neurônios. Este espaço extracelular encontra-se em contato com o LCR. Com isto a análise do A β no LCR reflete a alteração do peptídeo a nível de SNC. Os fatores mais importantes que definem a utilidade de marcadores de modo geral são sensibilidade, especificidade e facilidade de uso (Frey et al., 2005).

De acordo com a hipótese A β a acumulação de A β 1-42, e outros peptídeos mais curtos, é uma das principais causas de neurodegeneração em DA (Hardy e Selkoe, 2002). Cada biomarcador parece indicar um processo específico na DA. Diminuição da A β 1-42 no LCR é um indicador da carga amilóide cerebral (Riverol e López, 2011).

Lembrando que a deposição deste peptídeo é um fator iniciador comum no cérebro de pacientes com DA e considerado a razão da redução do A β 1-42 no LCR nestes pacientes (Fagan, 2009; Grimmer et al., 2009; Jagust 2009; Tapiola, 2009; Tolboom 2009).

Os requisitos para que um determinado teste seja aceito como parâmetro de diagnóstico para a DA foram propostos por Mayeux (1998). De maneira ideal, tal teste deve ser: (I) capaz de detectar uma característica fundamental da patologia da DA, (II) validado em casos neuropatologicamente confirmados, (III) preciso (IV) confiável, (V) não invasivo, (VI) simples de realizar e (VII) barato. Além disso, a sensibilidade deve ser de aproximadamente 85% ou mais, e a especificidade deve ser igual ou superior a 75% – 85% (Mayeux, 1998).

As principais características neuropatológicas da DA são a presença de ENF e placas de A β extracelular, conhecidas como PS (Braak e Braak, 1991). Isto causa disfunção sináptica, perda de células neuronais e subsequente atrofia cerebral (Ballard et al., 2011).

Assim, os biomarcadores do LCR devem principalmente ser usados como marcadores de diagnóstico que detectam o estado de doença

subjacente, e outros métodos, tais como testes cognitivos (MINI-MENTAL), medidas de atrofia cerebral ou fluxo sanguíneo regional do cérebro, são necessários de modo a refletir o estágio da doença (Hardy e Selkoe, 2002).

De Meyer (2010) sugere intrinsecamente um papel diferente para os biomarcadores, com o A β 1-42 do LCR como um marcador inicial e Tau como um marcador fase posterior relacionada com sintomas de demência e progressão da doença. Isso também poderia implicar que o peptídeo A β 1-42 é o iniciador da patologia e que as mudanças no total tau e/ou concentrações líquóricas P-Tau são um efeito secundário.

Ibach et al. (2006) em seus resultados e em outros estudos anteriores suporta a proposição de uma sobreposição substancial entre a bioquímica dos marcadores na DA e não-DA. Esta sobreposição pode ser explicada pela ampla semelhança clínica e neuropatológica entre as demências, bem como características neuropatológicas comuns altamente prevalentes tanto entre idosos demente e dementes não idosos. Esta sobreposição de características implica em uma multimorbidade cerebral, vez que a presença de entidades demências puras aumenta com a idade.

Hertze et al., (2010) sugere que os biomarcadores no LCR podem estratificar em pacientes com TCL, os com muito baixo ou alto risco, para o futuro desenvolvimento da DA.

Na verdade, poucos estudos longitudinais têm avaliado se o biomarcador do LCR ou a combinação dos biomarcadores melhorarem a predição para DA ou o declínio cognitivo.

6 CONCLUSÃO

Assim, este estudo mostrou que A β 1-42 pode discriminar DA de controles com uma sensibilidade de 84,3% e especificidade de 79,4%. Mais pesquisas são necessárias para avaliar as alterações dos marcadores no LCR ao longo do tempo e para prever a progressão para DA.

Em conclusão, em conjunto, estes dados podem fornecer suporte adicional para uma revisão dos critérios atualmente utilizados para diagnóstico para DA. Ou pelo menos diagnosticá-la em fase inicial, o que é outro grande desafio.

REFERÊNCIAS

Altman DG. Practical statistics for medical research. London: Chapman and Hall; 1991. p 612.

Andreasen N, Hesse C, Davidsson P, Minthon L, Wallin A, Winblad B, Vanderstichele H, Vanmechelen E, Blennow K. Cerebrospinal fluid beta-amyloid (1-42) in Alzheimer disease: differences between early- and late-onset Alzheimer disease and stability during the course of disease. *Arch Neurol*. 1999; 56(6):673-80.

Andreasen N, Minthon L, Davidsson P, Vanmechelen E, Vanderstichele H, Winblad B, Blennow K. Evaluation of CSF-tau and CSF-Abeta42 as diagnostic markers for Alzheimer disease in clinical practice. *Arch Neurol*. 2001; 58(3):373-9.

Andreasen N, Vanmechelen E, Vanderstichele H, Davidsson P, Blennow K. Cerebrospinal fluid levels of total-tau, phospho-tau and A beta 42 predicts development of Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Acta Neurol Scand Suppl*. 2003; 179:47-51.

Alzheimer's Disease International. World Alzheimer Report 2013. The Global Impact of Dementia. London: Alzheimer's Disease International, 2013; 1-90.

Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones E. Alzheimer's disease. *Lancet*. 2011; 377(9770):1019-31.

Barnes LL, Wilson RS, Bienias JL, Schneider JA, Evans DA, Bennett DA. Sex differences in the clinical manifestations of Alzheimer disease pathology. *Arch Gen Psychiatry*. 2005; 62(6):685-91.

Bibl M, Mollenhauer B, Esselmann H, Lewczuk P, Trenkwalder C, Brechlin P, Rüther E, Kornhuber J, Otto M, Wiltfang J. CSF diagnosis of Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies. *J Neural Transm*. 2006; 113(11):1771-8.

Bibl M, Mollenhauer B, Lewczuk P, Esselmann H, Wolf S, Trenkwalder C, Otto M, Stiens G, Rüther E, Kornhuber J, Wiltfang J. Validation of amyloid-beta peptides in CSF diagnosis of neurodegenerative dementias. *Mol Psychiatry*. 2007; 12 (7):671-80.

Blennow K, Vanmechelen E, Hampel H. CSF total tau, Abeta42 and phosphorylated tau protein as biomarkers for Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol.* 2001; 24(1-3):87-97.

Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *Lancet.* 2006; 368(9533): 387-403.

Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol.* 1991; 82(4):239-59.

Bullock R. New drugs for Alzheimer's disease and other dementias. *Br J Psychiatry.* 2002; 180:135-9.

Davidsson P, Blennow K. Neurochemical dissection of synaptic pathology in Alzheimer's disease. *Int Psychogeriatr.* 1998; 10(1):11-23.

Collaboration TC. The nordic cochrane centre (copenhagen). Review manager (revman). Version 5.0.2 edn 2013.

Coleman PD, Flood DG. Neuron numbers and dendrite extent in normal aging and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging,* 1987; 8: 521-45.

Cook DJ, Mulrow CD, Haynes RB. Systematic reviews: synthesis of best evidence for clinical decisions. *Ann Intern Med.* 1997; 126(5):376-80.

de Jong D, Jansen RW, Kremer BP, Verbeek MM. Cerebrospinal fluid amyloid beta42/phosphorylated tau ratio discriminates between Alzheimer's disease and vascular dementia. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2006; 61(7):755-8.

de la Torre J. C. Is Alzheimer's disease a neurodegenerative or a vascular disorder? Data, dogma, and dialectics. *Lancet Neurol,* 2004; 3 (3):184–190.

de Meyer G, Shapiro F, Vanderstichele H, Vanmechelen E, Engelborghs S, De Deyn PP, Coart E, Hansson O, Minthon L, Zetterberg H, Blennow K, Shaw L, Trojanowski JQ; Diagnosis-independent Alzheimer disease biomarker signature in cognitively normal elderly people. *Arch Neurol.* 2010; 67(8):949-56.

Dubinski. Practice parameter: Risk of Driving and Alzheimer's disease (an evidence-based case review). Report of the quality Standards subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2000; 54:2205-12

Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Dekosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J, Delacourte A, Galasko D, Gauthier S, Jicha G, Meguro K, O'Brien J, Pasquier F, Robert P, Rossor M, Salloway S, Stern Y, Visser PJ, Scheltens P. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol*. 2007; 6(8):734-46.

Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ*. 1997; 5(7109):629-34.

Egger M, Smith GD, Altman DG, editors. *Systematic reviews in health care: meta-analysis in context*. 2nd ed. Londres: BMJ Books; 2001; 506.

Egger M, Smith GD. Bias in location and selection of studies. *BMJ*. 1998; 316: 61-6.

Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganguli M, Hall K, Hasegawa K, Hendrie H, Huang Y, Jorm A, Mathers C, Menezes PR, Rimmer E, Sczufca M; Alzheimer's Disease International. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet*. 2005; 366(9503):2112-7.

Forlenza OV. Pharmacological Treatment of Alzheimer's Disease. *Rev Psiq Clín*. 2005; 32(3):137-48.

Forlenza OV, Diniz BS, Teixeira AL, Florindo S, Gattaz W. Mild cognitive impairment (part 2): biological markers for diagnosis and prediction of dementia in Alzheimer's disease. *Rev. Bras. Psiquiatr*. 2013; 35(3):284-94.

Frey HJ, Mattila KM, Korolainen MA, Pirttilä T. Problems associated with biological markers of Alzheimer's disease. *Neurochem Res*. 2005; 30(12):1501-10.

Galasko D, Chang L, Motter R, Clark CM, Kaye J, Knopman D, Thomas R, Kholodenko D, Schenk D, Lieberburg I, Miller B, Green R,

Basherad R, Kertiles L, Boss MA, Seubert P. High cerebrospinal fluid tau and low amyloid beta42 levels in the clinical diagnosis of Alzheimer disease and relation to apolipoprotein E genotype. *Arch Neurol.* 1998; 55(7):937-45.

Ganzer S, Arlt S, Schoder V, Buhmann C, Mandelkow EM, Finckh U, Beisiegel U, Naber D, Müller-Thomsen T. CSF-tau, CSF-Abeta1-42, ApoE-genotype and clinical parameters in the diagnosis of Alzheimer's disease: combination of CSF-tau and MMSE yields highest sensitivity and specificity. *J Neural Transm.* 2003; 110: 1149-60.

Gao CM, Yam AY, Wang X, Magdangal E, Salisbury C, Peretz D, Zuckermann RN, Connolly MD, Hansson O, Minthon L, Zetterberg H, Blennow K, Fedynyshyn JP, Allauzen S. A β 40 oligomers identified as a potential biomarker for the diagnosis of Alzheimer's disease. *PLoS One.* 2010; 5(12):15725.

Gorelick P. B., Scuteri A., Black S. E., Decarli C., Greenberg S. M., Iadecola C., et al. (2011). Vascular contributions to cognitive impairment and dementia: a statement for healthcare professionals from the american heart association/american stroke association. *Stroke* 201; 42:2672–2713.

Grimmer T, Riemenschneider M, Förstl H, Henriksen G, Klunk WE, Mathis CA, Shiga T, Wester HJ, Kurz A, Drzezga A. Beta amyloid in Alzheimer's disease: increased deposition in brain is reflected in reduced concentration in cerebrospinal fluid. *Biol Psychiatry.* 2009; 65(11):927-34.

Hampel H, Mitchell A, Blennow K, Frank RA, Brettschneider S, Weller L, Möller HJ. Core biological marker candidates of Alzheimer's disease - perspectives for diagnosis, prediction of outcome and reflection of biological activity. *J Neural Transm.* 2004; 111(3):247-72.

Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Londos E, Blennow K, Minthon L. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. *Lancet Neurol.* 2006; 5:228-34.

Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science.* 297(5580):353-6. Review. Erratum in: *Science* 2002; 297(5590):2209.

Hebert LE, Weuve J, Scherr PA, Evans DA. Alzheimer disease in the United States (2010–2050) estimated using the 2010 census. *Neurology*. 2013; 7(80):1778–83.

Hebert LE, Scherr PA, Bienias JL, Bennett DA, Evans DA. Alzheimer disease in the US population: prevalence estimates using the 2000 census. *Arch Neurol*. 2003; 60:1119–22.

Hertze J, Minthon L, Zetterberg H, Vanmechelen E, Blennow K, Hansson O. Evaluation of CSF biomarkers as predictors of Alzheimer's disease: a clinical follow-up study of 4.7 years. *J Alzheimers Dis*. 2010; 21(4):1119-28.

Höglund K, Hansson O, Buchhave P, Zetterberg H, Lewczuk P, Londos E, Blennow K, Minthon L, Wiltfang J. Prediction of Alzheimer's disease using a cerebrospinal fluid pattern of C-terminally truncated beta-amyloid peptides. *Neurodegener Dis*. 2008; 5(5):268-76.

Hulstaert F, Blennow K, Ivanoiu A, Schoonderwaldt HC, Riemenschneider M, De Deyn PP, Bancher C, Cras P, Wiltfang J, Mehta PD, Iqbal K, Pottel H, Vanmechelen E, Vanderstichele H. Improved discrimination of AD patients using beta-amyloid(1-42) and tau levels in CSF. *Neurology*. 1999; 52(8):1555-62.

Ibach B, Binder H, Dragon M, Poljansky S, Haen E, Schmitz E, Koch H, Putzhammer A, Klunemann H, Wieland W, Hajak G. Cerebrospinal fluid tau and beta-amyloid in Alzheimer patients, disease controls and an age-matched random sample. *Neurobiol Aging*. 2006; 27(9):1202-11.

Ivanoiu A, Sindic CJ. Cerebrospinal fluid TAU protein and amyloid beta42 in mild cognitive impairment: prediction of progression to Alzheimer's disease and correlation with the neuropsychological examination. *Neurocase*. 2005; 11:32-9.

Jagust WJ, Landau SM, Shaw LM, Trojanowski JQ, Koeppe RA, Reiman EM, Foster NL, Petersen RC, Weiner MW, Price JC, Mathis CA; Alzheimer's. Relationships between biomarkers in aging and dementia. *Neurology*. 2009; 73(15):1193-9.

Jensen M, Schröder J, Blomberg M, Engvall B, Pantel J, Ida N, Basun H, Wahlund LO, Werle E, Jauss M, Beyreuther K, Lannfelt L, Hartmann T. Cerebrospinal fluid A beta42 is increased early in sporadic Alzheimer's disease and declines with disease progression. *Ann Neurol*. 1999; 45(4):504-11.

Kanai M, Matsubara E, Isoe K, Urakami K, Nakashima K, Arai H, Sasaki H, Abe K, Iwatsubo T, Kosaka T, Watanabe M, Tomidokoro Y, Shizuka M, Mizushima K, Nakamura T, Igeta Y, Ikeda Y, Amari M, Kawarabayashi T, Ishiguro K, Harigaya Y, Wakabayashi K, Okamoto K, Hirai S, Shoji M. Longitudinal study of cerebrospinal fluid levels of tau, A beta1-40, and A beta1-42(43) in Alzheimer's disease: a study in Japan. *Ann Neurol*. 1998; 44(1):17-26.

Kandimalla RJ, Prabhakar S, Binukumar BK, Wani WY, Gupta N, Sharma DR, Sunkaria A, Grover VK, Bhardwaj N, Jain K, Gill KD. Apo-Eε4 allele in conjunction with Aβ42 and tau in CSF: biomarker for Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*. 2011; 8(2): 187-96.

Kandimalla RJ, Prabhakar S, Binukumar BK, Wani WY, Gupta N, Sharma DR, Sunkaria A, Grover VK, Bhardwaj N, Jain K, Gill KD. Highly increased CSF tau protein and decreased beta-amyloid (1-42) in sporadic CJD: a discrimination from Alzheimer's disease? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2001; 71: 401-3.

Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A, Salbaum JM, Masters CL, Grzeschik KH, Multhaup G, Beyreuther K, Müller-Hill B. The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature*. 1987; 325(6106):733-6.

Kapaki E, Kilidireas K, Paraskevas GP, Michalopoulou M, Patsouris E. Highly increased CSF tau protein and decreased beta-amyloid (1-42) in sporadic CJD: a discrimination from Alzheimer's disease? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2001; 71(3):401-3.

Kapaki E, Paraskevas GP, Papageorgiou SG, Bonakis A, Kalfakis N, Zalonis I, Vassilopoulos D. Diagnostic value of CSF biomarker profile in frontotemporal lobar degeneration. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2008; 22(1):47-53.

Kapaki E, Paraskevas GP, Zalonis I, Zournas C. CSF tau protein and beta-amyloid (1-42) in Alzheimer's disease diagnosis: discrimination from normal ageing and other dementias in the Greek population. *Eur J Neurol.* 2003; 10(2):119-28.

Kapaki EN, Paraskevas GP, Tzerakis NG, Sfagos C, Seretis A, Kararizou E, Vassilopoulos D. Cerebrospinal fluid tau, phospho-tau181 and beta-amyloid1-42 in idiopathic normal pressure hydrocephalus: a discrimination from Alzheimer's disease. *Eur J Neurol.* 2007:168-73.

Kester MI, Boelaarts L, Bouwman FH, Vogels RL, Groot ER, van Elk EJ, Blankenstein MA, van der Flier WM, Scheltens P. Diagnostic impact of CSF biomarkers in a local hospital memory clinic. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2010; 29(6):491-7.

Kivipelto M., Helkala E. L., Laakso M. P., Hanninen T., Hallikainen M., Alhainen K., et al. (2001). Midlife vascular risk factors and Alzheimer's disease in later life: longitudinal, population based study. *BMJ.* 2001; 322:1447-51.

Knopman DS, DeKosky ST, Cummings JL, Chui H, Corey-Bloom J, Relkin N, Small GW, Miller B, Stevens JC. Practice parameter: diagnosis of dementia (na evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology.* 2001; 56(9):1143-53.

Koopman K, Le Bastard N, Martin JJ, Nagels G, De Deyn PP, Engelborghs S. Improved Discrimination of autopsy-confirmed Alzheimer's disease (AD) from non-AD dementias using CSF P-tau(181P). *Neurochem Int.* 2009; 55(4):214-8.

Landau SM, Harvey D, Madison CM, Reiman EM, Foster NL, Aisen PS, Petersen RC, Shaw LM, Trojanowski JQ, Jack CR Jr, Weiner MW, Jagust WJ. Comparing predictors of conversion and decline in mild cognitive impairment. *Neurology.* 2010; 75(3):230-8.

Lewczuk P, Esselmann H, Otto M, Maler JM, Henkel AW, Henkel MK, Eikenberg O, Antz C, Krause WR, Reulbach U, Kornhuber J, Wiltfang J. Neurochemical diagnosis of Alzheimer's dementia by CSF Aβ₄₂, Aβ₄₂/Aβ₄₀ ratio and total tau. *Neurobiol Aging.* 2004; 25(3):273-81.

- Lim A, Tsuang D, Kukull W, Nochlin D, Leverenz J, McCormick W, Bowen J, Teri L, Thompson J, Peskind ER, Raskind M, Larson EB. Clinico-neuropathological correlation of Alzheimer's disease in a community-based case series. *J Am Geriatr Soc.* 1999; 47(5):564-9.
- Maddalena A, Papassotiropoulos A, Müller-Tillmanns B, Jung HH, Hegi T, Nitsch RM, Hock C. Biochemical diagnosis of Alzheimer disease by measuring the cerebrospinal fluid ratio of phosphorylated tau protein to beta-amyloid peptide42. *Arch Neurol.* 2003; 60(9):1202-6.
- Mayeux R. Evaluation and use of diagnostic tests in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 1998; 19(2):139-43.
- McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology.* 1984; 34(7):939-44.
- Morinaga A, Ono K, Ikeda T, Ikeda Y, Shima K, Noguchi-Shinohara M, Samuraki M, Yanase D, Yoshita M, Iwasa K, Mastunari I, Yamada M. A comparison of the diagnostic sensitivity of MRI, CBF-SPECT, FDG-PET and cerebrospinal fluid biomarkers for detecting Alzheimer's disease in a memory clinic. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2010; 30(4):285-92.
- Motter R, Vigo-Pelfrey C, Kholodenko D, Barbour R, Johnson-Wood K, Galasko D, Chang L, Miller B, Clark C, Green R, et al. Reduction of beta-amyloid peptide42 in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 1995; 38(4):643-8.
- Mulder C, Verwey NA, van der Flier WM, Bouwman FH, Kok A, van Elk EJ, Scheltens P, Blankenstein MA. Amyloid-beta(1-42), total tau, and phosphorylated tau as cerebrospinal fluid biomarkers for the diagnosis of Alzheimer disease. *Clin Chem.* 2010; 56(2):248-53.
- Mulrow CD, Cook DJ, Davidoff F. Systematic reviews: critical links in the great chain of evidence. *Ann Intern Med.* 1997; 126(5):389-91.

Noguchi M, Yoshita M, Matsumoto Y, Ono K, Iwasa K, Yamada M. Decreased beta-amyloid peptide42 in cerebrospinal fluid of patients with progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. *J Neurol Sci.* 2005; 237(1-2):61-5.

Olsson A, Vanderstichele H, Andreasen N, De Meyer G, Wallin A, Holmberg B, Rosengren L, Vanmechelen E, Blennow K. Simultaneous measurement of beta-amyloid(1-42), total tau, and phosphorylated tau (Thr181) in cerebrospinal fluid by the xMAP technology. *Clin Chem.* 2005; 51(2):336-45.

Panegyres PK. The amyloid precursor protein gene: a neuropeptide gene with diverse functions in the central nervous system. *Neuropeptides.* 1997; 31(6):523-35.

Perrin RJ, Fagan AM, Holtzman DM. Multimodal techniques for diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease. *Nature.* 2009; 461(7266):916-22.

Riemenschneider M, Wagenpfeil S, Diehl J, Lautenschlager N, Theml T, Heldmann B, Drzezga A, Jahn T, Förstl H, Kurz A. Tau and Abeta42 protein in CSF of patients with frontotemporal degeneration. *Neurology.* 2002; 58(11):1622-8.

Riverol M, López OL. Biomarkers in Alzheimer's disease. *Front Neurol.* 2011; 14:2-46.

Roher AE, Maarouf CL, Sue LI, Hu Y, Wilson J, Beach TG. Proteomics-derived cerebrospinal fluid markers of autopsy-confirmed Alzheimer's disease. *Biomarkers.* 2009; 14(7):493-501.

Rösler N, Wichart I, Jellinger KA. Clinical significance of neurobiochemical profiles in the lumbar cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease patients. *J Neural Transm.* 2001; 108(2):231-46.

Sackett DL. Clinical diagnosis and the clinical laboratory. *Clin Invest Med.* 1978; 1(1):37-43.

Sackett DL. Clinical epidemiology. *Am J Epidemiol.* 1969; 89(2):125-8.

Sackett DL. Clinical epidemiology. what, who, and whither. *J Clin Epidemiol.* 2002; 55(12):1161-6.

Schmidt D, Zimmermann R, Lewczuk P, Schaller G, Degirmenci U, Kreil S, Wiltfang J, Kuwert T, Kornhuber J, Weih M. Confirmation rate of blinded (99m)Tc-SPECT compared to neurochemical dementia biomarkers in CSF in patients with Alzheimer disease. *J Neural Transm*. 2010; 117(9):1111-4.

Schoonenboom NS, Mulder C, Vanderstichele H, Pijnenburg YA, Van Kamp GJ, Scheltens P, Mehta PD, Blankenstein MA. Differences and similarities between two frequently used assays for amyloid beta 42 in cerebrospinal fluid. *Clin Chem*. 2005; 51(6):1057-60.

Schoonenboom NS, Pijnenburg YA, Mulder C, Rosso SM, Van Elk EJ, Van Kamp GJ, Van Swieten JC, Scheltens P. Amyloid beta(1-42) and phosphorylated tau in CSF as markers for early-onset Alzheimer disease. *Neurology*. 2004; 62(9):1580-4.

Selkoe D. J. (1991). The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron* 1991; 6:487-98.

Sereniki A, Vital MABF. A doença de Alzheimer: aspectos fisiopatológicos e farmacológicos. *Rev. Psiquiatr. Rio Gd. Sul*. 2008; 30(1): 1-17.

Shaw LM, Vanderstichele H, Knapik-Czajka M, Clark CM, Aisen PS, Petersen RC, Blennow K, Soares H, Simon A, Lewczuk P, Dean R, Siemers E, Potter W, Lee VM, Trojanowski JQ. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Cerebrospinal fluid biomarker signature in Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects. *Ann Neurol*. 2009; 65(4):403-13.

Smach MA, Charfeddine B, Lammouchi T, Dridi H, Ben Othman L, Bennamou S, Limem K. [Interest of CSF beta-amyloid1-42 and t-tau protein level determinations for the diagnosis of Alzheimer's disease. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2008; 66(5):531-5.

Stata corporation. Stata Statistical Software version 11: College Station, TX/ Stata Corporation, 2009.

Tamaoka A, Sawamura N, Fukushima T, Shoji S, Matsubara E, Shoji M, Hirai S, Furiya Y, Endoh R, Mori H. Amyloid beta protein 42(43) in

cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *J Neurol Sci.* 1997; 148(1):41-5.

Tapiola T, Pirttilä T, Mehta PD, Alafuzoff I, Lehtovirta M, Soininen H. Relationship between apoE genotype and CSF beta-amyloid (1-42) and tau in patients with probable and definite Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2000; 21(5):735-40.

Thaweepoksomboon J, Senanarong V, Pongvarin N, Chakorn T, Siwasariyanon N, Washirutmangkur L, Udompunthuruk S. Assessment of cerebrospinal fluid (CSF) beta-amyloid (1-42), phosphorylated tau (ptau-181) and total Tau protein in patients with Alzheimer's disease (AD) and other dementia at Siriraj Hospital, Thailand. *J Med Assoc Thai.* 2011; 94(1):S77-83.

Thies W, Bleiler L. Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement.* 2013; 9:208-45.

Vanderstichele H, De Vreese K, Blennow K, Andreasen N, Sindic C, Ivanoiu A, Hampel H, Bürger K, Parnetti L, Lanari A, Padovani A, DiLuca M, Bläser M, Olsson AO, Pottel H, Hulstaert F, Vanmechelen E. Analytical performance and clinical utility of the INNOTEST PHOSPHO-TAU181P assay for discrimination between Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies. *Clin Chem Lab Med.* 2006; 44(12):1472-80.

Vemuri P, Wiste HJ, Weigand SD, Knopman DS, Trojanowski JQ, Shaw LM, Bernstein MA, Aisen PS, Weiner M, Petersen RC, Jack CR Jr; Alzheimer's. Serial MRI and CSF biomarkers in normal aging, MCI, and AD. *Neurology.* 2010; 75(2):143-51.

Wallin AK, Blennow K, Zetterberg H, Londos E, Minthon L, Hansson O. CSF biomarkers predict a more malignant outcome in Alzheimer disease. *Neurology.* 2010; 74(19):1531-7.

Welge V, Fiege O, Lewczuk P, Mollenhauer B, Esselmann H, Klafki HW, Wolf S, Trenkwalder C, Otto M, Kornhuber J, Wiltfang J, Bibl M. Combined CSF tau, p-tau181 and amyloid-beta 38/40/42 for diagnosing Alzheimer's disease. *J Neural Transm.* 2009; 116(2):203-12.

Whiting PF, Rutjes AW, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, Reitsma JB, Leeflang MM, Sterne JA, Bossuyt PM; QUADAS-2 Group. QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *Ann Intern Med.* 2011; 155(8):529-36.

Wiltfang J, Lewczuk P, Riederer P, Grünblatt E, Hock C, Scheltens P et al. Trabalho de consenso de força-tarefa da WFSBP sobre marcadores biológicos das demências: contribuição da análise do LCR e do sangue para o diagnóstico precoce e diferencial das demências. *Rev. Psiquiatr. Clín. São Paulo*, 2009; 36(1):1-16.

Wiltfang J, Esselmann H, Bibl M, Smirnov A, Otto M, Paul S, Schmidt B, Klafki HW, Maler M, Dyrks T, Bienert M, Beyermann M, Rüther E, Kornhuber J. Highly conserved and disease-specific patterns of carboxyterminally truncated Abeta peptides 1-37/38/39 in addition to 1-40/42 in Alzheimer's disease and in patients with chronic neuroinflammation. *J Neurochem.* 2002; 81(3):481-96.

Wiltfang J, Esselmann H, Maler JM, Bleich S, Hüther G, Kornhuber J. Molecular biology of Alzheimer's dementia and its clinical relevance to early diagnosis and new therapeutic strategies. *Gerontology.* 2001; 47(2):65-71.

Xia W, Zhang J, Perez R, Koo EH, Selkoe DJ. Interaction between amyloid precursor protein and presenilins in mammalian cells: implications for the pathogenesis of Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997; 94(15):8208-13.

Zamora J, Abaira V, Muriel A, Khan K, Coomarasamy A. Meta-DiSc: a software for meta-analysis of test accuracy data. *BMC Med Res Methodol.* 2006; 6:31.