

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER

ROSA, Sarah Brena Aparecida, ROCHA, Márcia Santos da
sarahbrena113@gmail.com

Centro de Pós-graduação, Pesquisa e Extensão Oswaldo Cruz

RESUMO: *O objetivo é o de apresentar o papel do analista clínico no diagnóstico da Doença do Alzheimer (DA), descrevendo as metodologias aplicadas no laboratório. Quanto ao método: tratou-se de uma revisão bibliográfica. Os artigos científicos para revisão foram encontrados em diferentes bancos de dados, tais como do Pubmed, Scielo, Direct Science, Google acadêmico, e periódicos da Capes. Nos resultados e discussão foram encontrados vários estudos sobre a patologia do DA relacionando as diversas metodologias aplicadas em laboratório clínico. 1) A hipótese do peptídeo A β mieloide foi considerado para explicar a relação patológica e farmacológica na descrição do tratamento; 2) O diagnóstico laboratorial abortou exames clínicos que mostram aumento do peptídeo A β mieloide 42 e APOE no sangue periférico e líquido por métodos de ELISA e PCR-RFLP. Levando em consideração todos os aspectos do DA, concluímos que o papel do analista clínico é imprescindível no diagnóstico e monitoramento patológico laboratorial para a escolha do tratamento adequado.*

Palavras-chave: *Alzheimer. A β mieloide,. APOE, Sensibilidade. Especificidade.*

ABSTRACT: *To present the role of the clinical analyst in the diagnosis of Alzheimer's Disease (AD) describing the methodologies applied in the laboratory. Scientific articles for review were found in different databases of Pubmed, Scielo, Direct Science, and periodicals of Capes. Several studies on the pathology of AD were found, relating the different methodologies applied in clinical laboratory. 1) The hypothesis of the myeloid A β peptide was considered to explain the pathological and pharmacological relationship in the treatment description; 2) The laboratory diagnosis aborted clinical exams that showed augmentation of myeloid A β peptide 42 and APOE in peripheral blood and CSF by ELISA and PCR-RFLP methods. Considering all aspects of AD, we conclude that the role of the clinical analyst is essential in the diagnosis and monitoring of pathological laboratory for the choice of appropriate treatment.*

Keywords: *Alzheimer A β mieloide APOE. Sensitivity. Specificity.*

INTRODUÇÃO

O Alzheimer (DA) é uma patologia crônica neurodegenerativa, caracterizada por disfunções cognitivas e dano neural (FALCO *et al.*, 2016). Em diversos países, têm sido relatados casos entre faixa etária de 55 a 70 anos, de ambos os sexos, apresentando perda de memória cognitiva (CAVEDO *et al.*, 2017). No Brasil, os dados são semelhantes, 60% dos pacientes diagnosticados apresentam a demência como principal. Contudo, um estudo mostra que, entre 855 pacientes com DA, 102 são casos precoces observados em pacientes de 46 anos no Brasil (SUEMOTO *et al.*, 2017)

Uma das principais hipóteses patológicas estudadas no DA é a formação de placas extracelulares estruturadas pelo peptídeo amielóide β ($A\beta$), presentes no hipocampo, estrutura localizada no lóbulo temporal central (SELKOE e HARDY, 2016). Deste modo, a memória apresenta-se comprometida pelo processo de neurodegeneração, inflamação que ocorre nos neurônios residentes do hipocampo, afetados pela acumulação dos peptídeos $A\beta$ amiloides (BAGLIETTO-VARGAS *et al.*, 2017).

Os peptídeos $A\beta$ mieloides ($A\beta$ -42) são detectados no líquido cefalorraquidiano (LCR), enquanto que a proteína APOE por genotipagem do sangue periférico. Diversos marcadores têm sido testados para desenvolver um teste com 100% de sensibilidade no diagnóstico do DA (THAI *et al.*, 2015).

O diagnóstico é essencial na forma precoce, quanto durante o tratamento como forma de avaliar a evolução ou regressão de doença. Este trabalho teve como objetivo apresentar o papel do analista clínico no diagnóstico do Alzheimer, descrevendo as metodologias aplicadas no laboratório e listar as formas de tratamento.

Foram avaliados um total de 80 artigos encontrados em diferentes bancos de dados, como: *Pubmed*, *Scielo*, *Science Direct*, *Google Acadêmico*, *Capes*, preferencialmente no período de 2010 a 2018. Os termos utilizados para pesquisa constituíram: Alzheimer, $A\beta$ mieloide, diagnóstico, AChE- $A\beta$, flavonoides, tratamento, Alzheimer ELISA.

Após a leitura, incluíram-se somente 55 artigos que mostraram relevância para a pesquisa, em espanhol, inglês e português. Os artigos analisados descreviam a epidemiologia, patologia do DA, o processo neurodegenerativo (inflamatório), e o diagnóstico laboratorial como fator primordial na prática clínica. Para finalizar, buscou-se citar um dos tratamentos utilizados em diferentes vias.

O POLIMORFISMO DA APOLIPROTEÍNA (APOE) E O AUMENTO DAS PLACAS AMIELÓIDES

O DA é uma patologia hereditária, associada à mutações genéticas na expressão ou metabolismo da proteína precursora amielóide (APP), como base do diagnóstico familiar (MIRZA *et al.*, 2017).

O DA é considerado uma doença hereditária, que envolve o polimorfismo no alelo E4 da apolipoproteína E (APOE), responsável pela redução de formação de placa cerebral amiloide (PARASKEVAIDI *et al.*, 2017). Como consequência, o excesso das placas mieloides desencadeadas pelo acúmulo do peptídeo $A\beta$ mieloide provoca alterações no receptor dos neurônios, formando os depósitos mieloides (FERNÁNDEZ-PÉREZ *et al.*, 2017).

O peptídeo $A\beta$ mieloide é proveniente da proteína precursora amiloide (APP maior), que é clivada em duas endoprotease (β e γ secretase) que se ligam na membrana plasmática, atuando como sítios de ligação. Então, a β secretase em específico, cliva o APP, produzindo o fragmento sAPP β , que é transportado para a fora da célula (SELKOE, 1989).

NEUROTOXICIDADE, INFLAMAÇÃO E SEQUELAS

A neurotoxicidade desenvolve-se por uma ação controversa estrutural no sistema nervoso central ou periférico, que provoca sérios danos neuronais. No DA, o prejuízo é permanente, levando a deterioração da acetilcolina (ACh). De tal modo que os baixos níveis de acetilcolina desencadeiam um descontrole no sistema colinérgico, que em contrapartida eleva a enzima acetilcolinesterase (AChE), principal atuante na clivagem da ACh. (ARAÚJO; SANTOS; GONSALVE, 2016).

Como consequência, AChE passa a interferir no processo de amiloidogênese (formação de A β mieloide), interagindo com o peptídeo A β mieloide, constituindo os depósitos extracelulares de emaranhados neurofibrilares (NFs) (FALCO *et al.*, 2017; MARTÍNEZ-FLORES; PEÑA-ORTEGA, 2017; MAKOTO; LADECOLA, 2015). Conseqüentemente, um processo inflamatório é desencadeado pelos neurônios em combate ao excesso das NFs extracelulares, pela ação do óxido nítrico (NO) e espécies reativas (ROS) que elevam-se, provocando a neurotoxicidade no hipocampo, comprometendo diretamente a memória (PEREIRA *et al.*, 2015; PAPOLLA *et al.*, 1998).

O NO é derivado de iNOS pelo efeito citotóxico, na oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), dano ao DNA ou inibição mitocondrial (WILKINS, *et al.* 2017). Quaisquer desses indutores de dano celular causa a interação por NO, recorrente de ROS pela interação com o ânion superóxido produzindo peroxidonitrito estimulador do processo inflamatório (BECKHAUSER; OLIVEIRA-FRANCIS; PASQUALE, 2016).

Relatos científicos descrevem o óxido nítrico em testes de cultura celular (PC 12 *in vitro*) apresentando aumento na atividade da NADPH-oxidase, enzima que gera o aumento dos radicais de superóxido de oxigênio, formador da via da produção de NO (JIANFENG HAN, *et al.* 2017). Com a síntese aumentada de NO ocorrente em células neuronais, doenças como o Alzheimer desenvolvem-se em humanos, na maioria dos casos em idosos (ISCHIROPOULOS; AL-MEHDI, 1995).

Os pacientes idosos geralmente apresentam perda de memória, distúrbio de linguagem, distúrbio motor e confusão mental. Pelo diagnóstico de imagem confirmatório, verifica-se que as regiões mais afetadas são: hipocampo, córtex e tálamo (MUELLER *et al.*, 2017; GARDENAL, 2011).

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico do DA é realizado unindo a clínica médica aos exames específicos, envolvendo testes imunológicos, genéticos e imagem (FLIER, VAN DER, *et al.*, 2017; GRILL, 2017). Primeiramente, o paciente descreve seus sintomas, que serão relacionados a uma série de aspectos que podem influenciar na progressão da doença, como atividades sociais e culturais. Entre os sintomas citados, a perda de memória recente é mais frequente, ocasionando depressão, fadiga, ansiedade, insônia e desorientação (PARMERA, NITRINI, 2015).

Após a suspeita clínica, o paciente passa por um pequeno procedimento cirúrgico chamado de punção lombar, para a coleta do líquido cefalorraquidiano (LCR). Este material é levado ao laboratório para análise biológica. O exame de sangue pode ser realizado pelo laboratório, porém, somente para avaliação genética. Ambos os exames utilizam metodologias diferentes, apropriadas na qualidade em nível de sensibilidade e especificidade (LEEUEW *et al.*, 2017).

Um dos métodos muito utilizados é o Elisa, técnica por espectrofotometria que avalia a progressão ou regressão da doença, pela quantificação de moléculas do peptídeo A β amiloide 42 (ADAMS *et al.*, 2017). O método tem, como objetivo, encontrar anticorpos que se liguem na placa sensibilizada com o antígeno (parte ou proteína a ser estudada). Deste modo, forma-se uma ligação antígeno-anticorpo que será detectada pela adição do segundo anticorpo aplicado a uma enzima (conjugado), resultando em uma reação que apresentará coloração de acordo com o substrato (LINDA *et al.*, 2017).

A técnica do ELISA detecta o peptídeo A β mieloide 42 no sangue periférico e no LCR, entretanto, a quantidade encontrada no sangue é muito baixa semelhante aos pacientes saudáveis, do contrário no LCR é abundante, padrão em pacientes com DA (MAGUI, 2014;

TING YANG *et al.*, 2017; WOJSIAT *et al.* (2017). Logo, o peptídeo A β mieloide 42 apresenta -se como excelente biomarcador no desenvolvimento de ensaios clínicos imunoenzimáticos (ELISA). (YOUNG *et al.* 2017; NIEMANTSVERDRIET *et al.* 2017).

Posteriormente, Almdahl *et al.* (2017), estudaram 89 amostras de pacientes acima de 50 anos que apresentavam demência pelo método de Elisa no período de 2007 á 2013 em Akershus, Noruega. Este estudo tinha como objetivo avaliar os peptídeos A β amiloide 42 e 43 que, pois ambos eram considerados excelentes biomarcadores, apontando 100% de sensibilidade e 89% de especificidade. Todavia, dois peptídeos A β amiloide não apresentaram diferenças significativas, citados como eficientes no diagnóstico do Alzheimer.

O método também apresentou ser positivo com o diagnóstico precoce na avaliação de 100 pacientes no período de 2010 á 2014 em Swedish, Alemanha. O estudo comparou imunoenaios de A β -42 e A β 1-42/A β -40, mostrando que o segundo teste apresentava 96% de sensibilidade e 91% de especificidade em relação ao primeiro, 82% de sensibilidade e 81% de especificidade (PANNEE, et al. 2016).

Outros estudos recentes, no período entre 2013 à 2016 na Koréia, dos 194 pacientes estudados no centro neurológico, 76 apresentavam o critério demência, indicando a frequência do o peptídeos A β amiloide 42 em amostras de LCR. Os grupos estudados pelo método de ELISA foram A β 42, tTau/ A β 42 e pTau/A β 42, indicando aqueles que associados a proteína tau manifestaram-se com 95% sensibilidade e especificidade (PARK, et al. 2017). Ainda, no Brasil no período de 2017, o método ELISA proporcionou 95% de sensibilidade e especificidade na avaliação do LCR de 12 pacientes em Porto Alegre, no estado do Rio grande Sul, reafirmado a eficácia do teste (RIZZI *et al.* 2018). Todavia, ainda faltam estudos no Brasil que comparem a combinação da proteína tTau e A β 42, para comparar as diferentes etnias (ADAMCZUH, 2015).

Outra proteína avaliada em laboratório é a APOE, encontrada no sangue periférico, e está relacionada ao genótipo APOE. Um estudo recente, revelou 95% sensibilidade e especificidade para o método de genotipagem no diagnóstico diferencial da APOE (RASMUSSEN *et al.*, 2015).

A técnica de genotipagem têm, como objetivo, o diagnóstico precoce em relação à predisposição genética do paciente portador do polimorfismo no alelo E4 do gene APOE no cromossomo 19q13, utilizado sangue periférico (SCHOEMAKER, *et al.*, 2017; DESIKAN, 2017; YING LIANG, *et al.*, 2016). O DNA é extraído através da técnica de PCR- RFLP (polimorfismo de comprimento das condições fragmentos de DNA em reação de cadeia polimerase) associada a uma enzima de restrição e visualizado em gel de agarose corado com brometo de etidium (BAGYINSZKY *et al.*, 2014).

Análises realizadas na população chinesa, com 1158 amostras de sangue (399 coletadas do Hospital Zhongshan, 390 Hospital Médico Fujian, 369 Hospital Huadong) no ano de 2015, revelaram que o teste PCR-RFLP para o alelo E4 garantia 100% de sensibilidade e especificidade, proporcionando um diagnóstico precoce e preciso (LI ZHONG *et al.* 2016). Neste mesmo período, um estudo na Pérsia realizou testes com 100 amostras de sangue, revelando 95% de sensibilidade e especificidade para o polimorfismo do alelo E4 (LASHKARI *et al.*, 2016).

A hipótese sugere que a proteína APOE continua sendo um biomarcador eficaz, quando encontrada em grande quantidade no plasma sanguíneo, pois faz referência ao polimorfismo do alelo E4, ocasionando disfunção fisiológica e declínio cognitivo. Então, neste teste é possível verificar a susceptibilidade genética, além de acompanhar a progressão da doença durante o tratamento (FAN *et al.* 2016).

O USO DOS INIBIDORES DA INTERAÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE E A β MIELÓIDE

O uso dos inibidores de acetilcolinesterase são usados no tratamento do DA, para diminuir a quantidade da enzima, amenizando o efeito neurotóxico. Tal uso é explicado pela eficácia proporcionada pelo efeito neuroprotetor gerado pela inibição da acetilcolinesterase (AChEs), que impossibilita a interação da acetilcolina que, por sua vez, apresentam-se em quantidades baixas, na interação com o peptídeo A β (MORAIS *et al.*, 2013).

A acetilcolina (Ach) é um neurotransmissor presente no sistema nervoso central (SNC), sistema nervoso periférico (SNP) e junções musculares. A acetilcolina age especialmente em receptores colinérgicos presentes na membrana pré- e pós-sinápticas (VENTURA *et al.*, 2010; YUESONG GONG *et al.*, 2010). A acetilcolinesterase age quando ocorre sua hidrólise acetato e colina pela enzima acetilcolinesterase (AChE) na fenda sináptica. Há somente dois grupos de enzimas colinesterásicas: enzimas de alta afinidade para Ach ligadas à membrana neuronal (AchE) e as enzimas com alta afinidade para butirilcolina (BchE) estão ligadas a células glia ou neurônios (MESULAM; GEULA, 1994. WRIGHT *et al.*, 1993;).

Assim, a AChE no DA liga ao peptídeo A β amielóide, levando à conformação não amiloidogênica se tornar amiloidogênica (fibras amielóides), formando complexos AChE-A β . O complexo é propício à alterar as características bioquímicas da enzima AChE, provocando neurotoxicidade das fibras amielóides (YOUNG-JI *et al.*, 2017).

Diversos medicamentos têm sido usados para inibir esta interação frequente no DA, como, rivastigmina (TZUA-HUA CHEN, 2017; CASTILHO *et al.*, 2017). A rivastigmina geralmente é usada em pacientes com DA de grau leve, moderado e grave. O medicamento apresenta-se na forma de cápsulas (6 a 12 mg diária). Recentemente foi desenvolvido também para administração via intradérmica (1 ml), permanecendo 24 para total absorção (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016; NIETO, DEARDOFF, GROSSBERG, 2016; BIRKS, GRIMLEY, 2015).

Estudos realizados com nanopartículas de quercetina, composto da família flavonóide extraído de plantas do cerrado, mostra que ao ser combinado com rivastigmina aumenta a absorção gástrica e ameniza os efeitos colaterais (PALLE, NEERATE, 2017). Outro descoberto foi efeito neuroprotetor em modelos animais, apontando a quercetina como promissora no aprimoramento da produção da rivastigmina (SPAGNUOLO, MOCCIA, RUSSO, 2017; MOHEBALI, *et al.* 2016).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A doença do Alzheimer (DA) é uma patologia neurodegenerativa frequente em pacientes acima de 50 anos, cuja primeira manifestação é a demência (perda cognitiva e da memória). A hipótese amiloidogênica associa a deposição do peptídeo A β amielóide como principal agente causador da formação das placas senis, que são neurotóxicas para o sistema nervoso central, resultado na degradação dos neurônios.

Diante do aumento dos casos clínicos de pacientes com DA, este trabalho procurou descrever as metodologias imunoenzimáticas (ELISA) e genéticas (PCR_RFLP) como complemento do diagnóstico clínico, utilizados pelo analista clínico no ambiente laboratorial. De acordo com a literatura revisada, conclui-se que ambos os métodos são eficazes para o diagnóstico, apresentando sensibilidade e especificidade adequada em amostras do líquido cefalorraquidiano.

Além disso, procurou-se ampliar o estudo sobre o método de ELISA exemplificando o aprimoramento dos testes pela combinação do peptídeo A β 42 e a proteína tau, sugerindo-os

como potentes indicadores na fabricação kits para ensaios clínicos, facilitando no diagnóstico, monitoramento patológico e tratamento.

Outra abordagem promissora descreveu o uso dos inibidores da acetilcolinesterase, enzima quebra a acetilcolina, e posteriormente associa-se ao peptídeo A β amielóide, originando os complexos AChE-A β , que são neurotóxicos para as fibras das placas senis, um exemplo é rivastigmina, disponibilizada em cápsulas e em ampolas pelo sistema único de saúde (SUS).

No entanto, pesquisas mais aprofundadas sobre a atributo dos testes de ensaios clínicos e experimentos do funcionamento das vias do uso dos novos compostos combinados a rivastigmina são essenciais para subsidiar a qualidade pré e pós diagnóstica para cada paciente.

REFERÊNCIAS

ADAMS, D. J.; NEMKOV, T. G.; MAYERA, J. P.; OLD, W. M.; STOWELL, M. H. B. Identification of the primary peptidecontaminant that inhibits fibrillation and toxicity in synthetic amyloid- β 42. **Plos one**, 2017. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0182804> Acesso em: 09 set 2017.

ADAMCZUK, K.; SCHAEVERBEKE, J.; VANDERSTICHELE, H. M. J.; JOHAN, L./ NELISSEN, N.; VAN LAERE, K.; DUPONT, P.; HILVEN, K.; POESEN, K.; VANDENBERGHE, R. Diagnostic value of cerebrospinal fluid A β ratios in preclinical Alzheimer's disease. **Alzheimers Res. Ther.**, v.7, n.75, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4683859/> Acesso em: 24 nov 2017.

ARAÚJO, C. R. M.; SANTOS, V. L. A.; GONSALVES, A. A. Acetilcolinesterase- AChE: Uma enzima de interesse farmacológico. **Rev. Virtual Quím.**, v.8, n.4, 2016. Disponível em: <http://rvq.sbg.org.br/imagebank/pdf/v8n6a04.pdf> Acesso em: 10 set 2017.

BAGYINSZKY, E.; YOUNG CHUL YOUN; SEONG SOO A. A.; SANG YUN KIM; The genetics of Alzheimer's disease. **Clinical Intervention in Aging**, v. 9, p.535 – 551, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3979693/> Acesso em: 25 nov 2017.

BAGLIETTO-VARGAS, D.; SÁNCHEZ-MEJIAS, E.; NAVARRO, V.; JIMENEZ, S.; TRUJILLO-ESTRADA, L.; GÓMES-ARBOLEDAS, A.; SÁNCHEZ-MICO, M; SÁNCHEZ-VARO, R.; VIZUETE, M.; DÁVILA, J. C.; GARCIA-VERDUGO, J. M.; VITORICA, J.; GUTIERREZ, A. Dual roles of A β in proliferative processes in the amyloidogenic model of Alzheimer's disease. **Sci. Rep.**, n. 7, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5577311/> Acesso em: 9 set 2017.

BECKHAUSER, T. F.; OLIVEIRA-FRANCIS.; PASQUALE, R. Reactive oxygen species: physiological and physiopathological effects on synaptic plasticity. **Journal of Experimental Neuroscience**, v.10, n.1, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5012454/> Acesso em: 28 ago 2017.

BIRKS, J. S.; GRIMLEY, E. J. Rivastigmine for Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst.Rev.*; v. 10, n.4, 2015. Disponível em: <https://sci-hub.bz/10.1002/14651858.CD001191.pub3>> Acesso em: 24 nov 2017.

CAVEDO, E.; LISTA, S.; ROJKOVA, K.; CHIESA, P. A.; HOUOT, M.; BRUEGGEN, K.; BLAUTZIK, J.; BOKDE, A. L. W.; DUBOIS, B.; BARKHOF, F.; POWWELS, J. W.; TEIPEL, S.; HAMPEL, H. Disrupted white matter structural networks in healthy older adults APOE E4 carriers – an international multicenter DTI study. *Neuroscience*, 2017. Disponível em: [http://linkinghub.elsevier.com.ololo.sci-hub.cc/retrieve/pii/S0306-4522\(17\)30382-2](http://linkinghub.elsevier.com.ololo.sci-hub.cc/retrieve/pii/S0306-4522(17)30382-2) Acesso em: 8 set 2017.

CASTILHO, W. O.; ARISTIZABAL-PACHON, A. F. Galantamine protects against beta amyloid peptide-induced DNA damage in a model for Alzheimer's disease. *Neural. Regen. Res.*, v.12, n.6, p. 916-917, 2017. <Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5514865/>> Acesso em: 01 set 2017.

DESIKAN, R.S.; CHUN CHIEH FAN; WANG, Y.; SCHORK, A. J.; CABRAL, H. J.; CUPPLES, L.A.; THOMPSON, W. K.; BESSER, L.; KUKULL, W. A.; HOLLAND, D.; CHIA-HUA CHEN; BREWER, J. B.; KAROW, D. S.; KAUPPI, K.; WITOELAR, A.; KARCH, C. M.; BRONHAM, L. W.; YOKOYAMA, J. S.; WILSON, D. M.; HESS, J. L.; FARRER, L. A.; MAYEUX, R.; HYMAN, J.; SCHELLENBERG, G. D.; McEVOY, L. K.; ANDREASSEN, O. A. DALE, A. M. Alzheimer disease risk: Development and validation of a polygenic hazard score. *Biomed Res. Int.*, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5370516/> Acesso em: 5 set 2017.

FALCO, A.; CUKIERMAN, D. S.; HAUSER-DAVIS, R. A.; REY, N. A. Doença do Alzheimer: hipóteses etiológicas e perspectivas de tratamento. *Quím. Nova*, v. 39, n. 1, 2016. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422016000100063 Acesso em: 11 set 2017.

FAN, Y.Y.; CAI, Q. L.; GAO, Z.Y.; LIN, X.; HUANG, Q.; TANG, W.; LIU, J.H. APOE ε4 allele elevates the expressions of inflammatory factors and promotes Alzheimer's disease progression: A comparative study based on Han and She populations in the Wenzhou area. *Brain Res. Bull.*, n.132, p. 39-43. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28461186> Acesso: 02 jan 2018.

FERNÁNDEZ-PÉREZ, E. J.; SEPÚLVIDA, F. J.; PEOPLES, R.; AGUAYO, L. G. Role of membrane GM1 on early neuronal membrane actions of Aβ during onset of Alzheimer's disease. *Molecular basis of disease*, ago 2017. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov.ololo.sci-hub.cc/pubmed/28844949>> Acesso em: 9 set 2017.

FLIER, W. V. D.; KUNNEMAN, M.; BOUWMAN, F.H.; PETERSON, R, C.; SMETS, E. M. A., Diagnostic dilemmas in Alzheimer's disease: Room for shared decision making. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*, v.3, n. 3 , p.301-304, 2017. Disponível em: < [http://www.trci.alzdem.com/article/S2352-8737\(17\)30026-4/pdf](http://www.trci.alzdem.com/article/S2352-8737(17)30026-4/pdf)> Acesso em: 10 set 2017.

GARDENAL, I. Pacientes com Alzheimer convive com atrofia de áreas do cérebro. **Journal da Unicamp**, v. 3, n.1, p. 1, 2011. Disponível em: http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp_hoje/ju/outubro2011/ju509pdf/Pag03.pdf Acesso em: 01 set 2017.

GRILL, J. D. Recruiting preclinical Alzheimer's disease clinical trials through registries. **Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions**, v. 3, p.205-212, 2017. Disponível em: [http://www.trci.alzdem.com/article/S2352-8737\(17\)30010-0/pdf](http://www.trci.alzdem.com/article/S2352-8737(17)30010-0/pdf) Acesso em: 27 dez 2017.

ISCHIROPOULOS, H.; A Abu B. AL-MEHDI. Peroxynitrite-mediated oxidative protein modifications. **FEBS Letters**, n.364, p. 279-282, 1995. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ololo.sci-hub.cc/pubmed/7758583> Acesso em: 02 set 2017.

LASHKARI, F. M.; MOYEBODI, L. L.; MANSOURI, Z.; KALANTARI, H.; FARAHMAND, K.; VAZIRI, H. The association between (8390G>A) singlenucleotide polymorphism in APOE gene with Alzheimer and Parkinson disease. **Egyptian journal of medical genetics**, v. 17, n. 2, p. 185-189, 2016. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1110863015001226> Acesso em: 22 nov 2017.

LEEUW, F. A.; PEETERS, C. F.W.; KESTER, M. J.; HARMS, A. C.; STRUYS, E.A.; HANKEIMER, T.; VAN VLIJMEN, H. W.T.; VAN DER LEE, S.; VAN DUJIN, C. M.; SCHILTENS, P.; DERMIKAN, A.; VAN DER WIEL, M. A.; VAN DER FLIER, W. M.; TEUNISSEN, C. E. Blood based metabolic signatures in Alzheimer's disease. **Elsevier**, v.8, p. 196-207, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5607205/> Acesso em: 19 nov.2017.

LINDA, J. C.; WAALWIJK, V. D.; KULIC, L.; KOEL-SIMMELINK, M. J. C.; BEA KUIPERIJ, H.; VERSLEIJEN, A. A. M.; STRUYFS, H.; TWAALFHOVEN, H. A.M.; FOURIER, A.; ENGELBORGH, S.; LIAUDET-PERRET, A.; LEHMANN, S.; VERBEEK, M. M.; VANMECHELEN, E. J. M.; TEUNISSEN, C. E. Multicenter Analytical Validation of A β 40 Immunoassays. **Alzheimers Res. Ther.**, v. 7, n. 1, 2015. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2017.00310/full> Acesso em: 27 dez 2017.

LI ZHONG, Y., ZHUANG XIE, Y.; CAO, T. T.; WANG, Z.; WANG, T.; XINXIU LI; SHEN, R. C.; HUAXI XU; GUOJUN BU; CHEN, X. F. A rapid and cost-effective method for genotyping apolipoprotein E gene polymorphism. **Molecular neurodegeneration**, v. 11, n. 2, p.1-8. Disponível em: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4710020/pdf/13024_2016_Article_69.pdf Acesso em: 19 nov 2017.

MAGUI, S. N. **Doença de Alzheimer, imunoterapia contra amiloide beta**. 2014. 52 f. Dissertação (Mestrado em obtenção do grau de Mestre em Medicina) – Universidade da Beira Interior – Instituto de Ciências da Saúde, Covilhã. 2014. Disponível em: <http://www.fcsaude.ubi.pt/thesis2/tema.php?id=7322950ae9663900> Acesso em: 02 jan 2017.

MAKOTO ISHI, LADECOLA, C. Metabolic and non-cognitive manifestations of Alzheimer's disease: the hypothalamus as both culprit and target of pathology. **Cell Metab.**, n. 3, v. 22, 2016. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4654127/pdf/nihms722469.pdf> Acesso em: 5 set 2017.

MARTINEZ- FLORES, E.; PEÑA-ORTEGA, F. Amyloid β Peptide-Induced Changes in Prefrontal Cortex Activity and Its Response to Hippocampal Input. **International Journal Peptide**, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5239987/> Acesso em: 10 set 2017.

MESULAM, M. M.; GEULA, C. Butyrylcholinesterase reactivity differentiates the amyloid plaques of aging from those of dementia. *Ann. Neurol.*, v. 36, n. 5, p. 722-727, 1993. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ololo.sci-hub.cc/pubmed/7979218>> Acesso em: 11 set 2017.

MIRZA, A.; KING, A.; TROAKES, C.; EXLEY, CHRISTOPHER. Aluminium in brain tissue in familial Alzheimer's disease. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.40, 2017, p. 30-36. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0946672X16303777> Acesso em: 8 set 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Rivastigmina via transdérmica (adesivo) para o tratamento de pacientes com demência leve e moderadamente grave do tipo Alzheimer. 1º ed, Brasília: Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, 2006. Disponível em: < http://conitec.gov.br/images/Relatorios/2016/Relatorio_Rivastigmina_Alzheimer_final.pdf> Acesso em: 02 jan 2017.

MOHEBALI, N.; ABOLHASSAN, S. F.; GHAFOORI,H.; FARAHMAND, Z.; MOHAMMADKANI, E.; VAKHSHITEH, F.; ABDOLREZA, G.; FARHANGNIYA, M.; MOHAMM; SANATI, H. Effect of flavonoids rich extract of Capparis spinosa on inflammatory involved genes in amyloid-beta peptide injected rat model of Alzheimer's disease. **Nutr. Neurosci.**, p.1-8, 2016. Disponível em: < <https://sci-hub.bz/10.1080/1028415X.2016.1238026>> Acesso em: 25 nov 2017.

MORAES, S. M.; LIMA, K. S. B.; SIQUEIRA, S. M. C.; CAVALCANTI, E. S. B.; SOUZA, M. S. T.; MENEZES, J. E. S. A.; TREVISAN, M. T. Correlação entre as atividades antiradical, antiacetilcolinesterase e teor de fenóis totais de extratos de plantas medicinais de farmácias vivas. *Re. Bras. Pl. Med.*, v. 15, n. 4, p. 575-582, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v15n4/a14v15n4.pdf> Acesso em: 02 jan 2018.

MUELLER, C.; PERERA, G.;HAYES, R.D.; SHETTY, H.; STEWART, R. Associations of acetylcholinesterase inhibitor treatment with reduced mortality in Alzheimer's disease: a retrospective survival analysis. **Age and ageing**, 2017, p. 1-7. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ololo.sci-hub.cc/pubmed/28655175> Acesso em: 06 set 2017.

NIETO, R.; DEARDORFF, W. J.; GROSSBERG, G. T. Efficacy of rivastigmine tartrate, transdermal system, in Alzheimer's disease. **Expert Opin Pharmacother**, v. 17, n. 6, p. 861-870, 2016. Disponível em: <https://sci-hub.bz/10.1517/14656566.2016.1159296> Acesso em: 24 nov. 2017.

NIEMANTSVERDIET, E.; OTTOY, J.; SOMERS, C.; DE ROECK; STRYFS, H.; SOETEWEV, F.; VERHAEGHE, J.; VAN DER BOSSCHE, T.; VAN MOSSEVELDE, S.; GOEMAN, C. DE DEYN, P. P.; MARIEN, P.; VERSIJPT, J.; SLEEGERS, K.;

BROECKHOVEN, C. V.; WYFFEL, L.; ALBERT, A.; CEYSSENSI, S.; STROOBANTS, S.; STAELENS, S.; BJERKE, M.; ENGELBORGH, S. The Cerebrospinal Fluid A_β1-42/A_β1-40 ratio improves concordance with amyloid-PET for diagnosing Alzheimer's Disease in a Clinical Setting. **Journal of Alzheimer's Disease**, n.60, p. 561-576, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5611891/> Acesso em: 02 jan 2018.

PALLE, S.; NEERATI, P. Enhancement of oral bioavailability of rivastigmine with quercetin nanoparticles by inhibiting CYP3A4 and esterases. **Pharmacol. Rep.**, v. 69, n.2, p. 365-370, 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28189992> > Acesso em 27 dez 2017.

PARMERA, J. B.; NITRINI, R. Demências: da investigação ao diagnóstico. **Rev. Med.**, v. 94, n.3, p. 179-184, 2015. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ololo.sci-hub.cc/pubmed/28439532> Acesso em: 7 set 2017.

PANNEE, J.; PORTELIUS, E.; MINTHON, L.; GOBOM, J.; ANDREASSON, U.; ZETTERBEG, H.; HANSSON, O.; BLENNOW, K. Reference measurement procedure for CSF A_β1-42 and the CSF A_β1-42/A_β1-40 ratio – a cross validation study against Amyloid PET running title: MS - amyloid PET cross-validation study. **J Neurochem**. 2016 Nov;139(4):651-658. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27579672> > Acesso em: 02 jan 2018.

PARASKEAIDI, M.; MORAIS, C. L. M.; LIMA, K. M. G.; SNOWDEN, J. S.; SAXON, J. A.; RICHARDSON, M. T.; MATTHEW, J.; MANN, D. M. A.; ALLSOP, D.; MARTIN-HIRSCH, P. L. Differential diagnosis of Alzheimer's disease using spectrochemical. **PNAS**, 2017. Disponível em: <http://www.pnas.org.sci-hub.cc/content/early/2017/08/29/1701517114.abstract> Acesso em: 8 set 2017.

PARK, S. A.; CHAE, W.S.; KIM, H. J.; SHIN, H. S.; KIM, S.; IM, J. I.; AHN, S.I.; MIN, K. D.; YIM, S. J.; Y e BS; SEO, S. W.; JEONG, J. H.; PARK, K. W.; CHOI, S. H.; NA, D. L. Cerebrospinal fluid biomarkers for the diagnosis of Alzheimer disease in South Korea. **Alzheimer Dis. Assoc. Disord.**, v.31, n.1, p. 13-18, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5325243/pdf/wad-31-13.pdf> Acesso em: 23 nov 2017.

RASMUSSEM, K.L.; HANSEN-TYBIAERG, A.; NORTDESTGAARD, B. G.; FRIKKE-SCHMIDT, R. Plasma levels of apolipoprotein E and risk of dementia in the general population. **Ann. Neurol.** V. 77, n.2, p. 301-311. Disponível em: <https://sci-hub.bz/10.1002/ana.24326> Acesso em: 24 nov 2017.

RIZZI, L.; PORTAL, M. M.; BATISTA, C. E. A.; MISSIAGGIA, L.; RORIZ-CRUZ, M. CSF A_β1-42, but not p-Tau181, differentiates aMCI from SCI. **Brain. Res.** v. 1678, p. 27-31, 2017. Disponível em: <[https://sci-hub.io/https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006-8993\(17\)30448-1](https://sci-hub.io/https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006-8993(17)30448-1)> Acesso em: 26 out 2017.

SPAGNUOLO, C.; NAPOLITANO, M.; TEDESCO, I.; MOCCIA, S.; MILITO, A.; RUSSO, G. L. Neuroprotective role of natural polyphenols. **Curr. Top. Med. Chem.**, v.16, n.17, p.1943-1950. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26845551> Acesso em: 2 jan 2018.

SELKOE, D.; HARDY, J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. **EMBO molecular medicine**, v. 8, n. 6, 2016. Disponível em: < <http://onlinelibrary.wiley.com/sci-hub.cc/doi/10.15252/emmm.201606210/full>> Acesso em: 9 set 2016.

SELKOE, D.J. Biochemistry of altered brain proteins in Alzheimer's disease. **Rev. Neurosci.**, n. 12, p. 461- 490, 1989. Disponível em: <http://www.annualreviews.org/sci-hub.cc/doi/pdf/10.1146/annurev.ne.12.030189.002335> Acesso em: 10 set 2017.

SHOEMARKER, D.; POIRIER, J.; COLLINS, D. L.; GAUTHIERS, S.; PRUESSNER, J. C. Familiarity deficits in cognitively normal aging individuals with APOE ε4: A follow-up investigation of medial temporal lobe structural correlates. **Alzheimer's e Dementia Diagnosis, Assessment e Disease Monitoring**, v. 9, p. 21-24, 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5520953/>> Acesso em: 27 nov 2017.

THAI, C.; YEN YIN LIM; VILLEMAGNE, V. L.; LAWS, S. M.; AMES, D.; ELLIS, K. A.; RAINEY-SMITH, S. R.; MATINS, R. N.; MASTERS, C. L.; ROWE, C. C.; MARUFF, P. Amyloid-related memory decline in preclinical Alzheimer's disease is dependent on APOE E4 and is detectable over 18-Months. **Plos one**, 2017. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0139082> Acesso em: 11 set 2017.

TZU-HUA CHEN; MEI-CHUA CHOU; CHIOU-LIAN LAI; SHYH-JONG WU; CHIA-LING HSU; YUAN-HAN YANG. Factors affecting therapeutic response to rivastigmine in Alzheimer's disease patients in Taiwan. **Kaohsiung Journal of Medical Sciences**, v. 33, p. 227-283, 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28601231>> Acesso em: 20 dez 2017

TING, Y.; O' MALLEY, T. T.; KANMERT, D.; JARECIC, J.; ZIESKE, L.; ZETTENBERG, H.; HYMAN, B. T.; WALSH, D. M.; SELKOE, D. J. A highly sensitive novel immunoassay specifically detects low levels of soluble Aβ oligomers in human cerebrospinal fluid. **Alzheimer's Research e Therapy**, n.7, v.14, 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4369838/>> Acesso em: 9 set 2017.

VENTURA, A. L. M.; ABREU, P. A.; FREITAS, R. C.C.; SATHLER, P. C.; LOUREIRO, N.; CASTRO, H. C. Sistema colinérgico: revisando receptores, regulação e a relação com a doença de Alzheimer, esquizofrenia, epilepsia e tabagismo. **Rev. Psiquiatr. Clín.**, v.37, n. 2, 2010. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-60832010000200007 Acesso em: 23 nov 2017.

WILKINS, H. M.; CARL, S. M.; WEBER, S. G.; RAMUJAN, S. A.; FESTOFF, B. W.; LINSEMAN, D. A.; SWERDLOW, R. H. Mitochondrial lysates induce inflammation and Alzheimer's disease-relevant changes in microglial and neuronal cells. **Journal Alzheimers Disease**, v. 45, n. 1, p. 305 – 318, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25537010> Acesso em: 01 set 2017.

WOISIAT, J.; LASKOWSKA-KASZUB, K.; MEITELSKA-POROWSKA, A.; URZULA, W. Search for Alzheimer's disease biomarkers in blood cells: hypotheses-driven approach. **Biomark. Med.**, v.11, n.10, p. 917-931, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28976776> Acesso em: 09 nov. 2017.

WRIGHT, C. I.; GEULA, C.; MESULAM, M. M. Neurological cholinesterases in the normal brain and in Alzheimer's disease: relationship to plaques, tangles, and patterns of selective vulnerability. *Ann. Neurol.*, v. 34, n.3, p. 373-384, 1993. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8363355>> Acesso em: 02 jan 2018.

YING LIANG; ZHENZHEN LI; JING WEI; CHUNLIN LI; XU ZHANG. Frequency Specific Effects of *ApoE* ϵ 4 Allele on Resting-State Networks in Nondemented Elders. **BioMed Research International**, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5370516/>> Acesso em: 10 set 2017.

YING-YING, FAN; QIAO-LE CAI; ZHI-YOUNG, GAO, XUE LIN; QI HUANG, WEI TANG, JIA-HONG LIU. APOE ϵ 4 allele elevates the expressions of inflammatory factors and promotes Alzheimer's disease progression: a comparative study based on Han and She populations in the Wenzhou area. **Brain. Res. Bull**, n.132, p.39-43, 2017. Disponível em: <https://scihub222666qcxt.onion.link/10.1016/j.brainresbull.2017.04.017> Acesso em: 23 nov. 2017.

YOUNG-JI, Shiao; MUH-HWAN, Su; HANG-CHING-LIN; CHI-REI, Wu. Echinoid ameliorates the memory impairment and cholinergic deficit induced by amyloid beta peptides via the inhibition of amyloid deposition and toxicology. **The Royal Society of Chemistry**, 2017. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ololo.sci-hub.cc/pubmed/28581010> Acesso em: 10 set 2017.