



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2010/2011

Ana Raquel Caldas Marçôa
Novas Estratégias no Diagnóstico
de Doença de Alzheimer: O Papel
dos Biomarcadores

Abril, 2011

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Ana Raquel Caldas Marçôa
Novas Estratégias no Diagnóstico
de Doença de Alzheimer: O Papel
dos Biomarcadores

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Neurologia

Trabalho efectuado sob a Orientação de:

Prof. Doutora Maria Carolina Garrett

Co-Orientador: Dr. João Massano

de Carvalho

Revista: Arquivos de Medicina

Abril, 2011

FMUP

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto
2010/2011

Unidade Curricular "Dissertação/Monografia/Relatório de Estágio Profissionalizante"

Projecto de Opção do 6º ano – DECLARAÇÃO DE REPRODUÇÃO

Nome: ANA RAQUEL CALDAS MARCÔA

Endereço electrónico: MED05134@MED.UP.PT **Telefone ou Telemóvel:** 912167215

Número do Bilhete de Identidade: 13227905

Título da Dissertação/Monografia/Relatório de Estágio Profissionalizante (cortar o que não interessa):

NOVAS ESTRATÉGIAS NO DIAGNÓSTICO DE DOENÇA DE
ALZHEIMER : O PAPEL DOS BIOMARCADORES

Orientador:

PROF. DOUTORA MARIA CAROLINA GARBETT

Co-Orientador

DR JOÃO DOS SANTOS MASSANO DE CARVALHO

Ano de conclusão: 2011

Designação da área do projecto:

NEUROLOGIA

É autorizada a reprodução integral desta ~~Dissertação/Monografia/Relatório~~ de Estágio Profissionalizante (cortar o que não interessar) para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projectos coordenados pela FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 11/04/2011

Assinatura: Ana Raquel Caldas Marcôa

Unidade Curricular "Dissertação/Monografia/Relatório de Estágio Profissionalizante"

Eu, ANA RAQUEL CALDAS MARCÔA, abaixo assinado, nº mecanográfico 050801134, estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter actuado com absoluta integridade na elaboração deste projecto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (acto pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 11/04/2011

Assinatura: Ana Raquel Caldas Marcôa

Título: Novas Estratégias no Diagnóstico de Doença de Alzheimer: O Papel dos Biomarcadores

Título abreviado: Biomarcadores na Doença de Alzheimer

Autor: Ana Raquel Caldas Marçôa

Filiação: Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Contacto: med05134@med.up.pt

Agradecimentos: Agradeço ao Dr. João Massano e à Professora Dra. Maria Carolina Garrett pelo apoio e orientação prestados na elaboração deste trabalho.

Contagem de palavras:

Resumo – 245 palavras

Abstract – 226 palavras

Texto principal – 4970 palavras

Resumo

Actualmente, o diagnóstico da doença de Alzheimer (DA) é feito numa fase de demência. Com o desenvolvimento de fármacos que visam parar/atrasar a progressão da doença, torna-se importante diagnosticá-la numa fase pré-demência. Com esta finalidade, foram elaborados novos critérios de diagnóstico de DA para usar em ensaios clínicos de novos fármacos específicos, tendo em conta biomarcadores da doença. O objectivo da presente revisão sistemática é rever o progresso feito relativamente ao diagnóstico de DA em fase pré-demência desde a publicação da proposta dos novos critérios de diagnóstico. Foi efectuada uma pesquisa na Pubmed de artigos originais, publicados após a divulgação dos novos critérios de diagnóstico de DA, que abordassem o diagnóstico da doença em fase pré-demência. Foram incluídos 64 artigos na análise. Os indivíduos com defeito na memória episódica progridem frequentemente para DA, mas também podem converter para outras demências. Os biomarcadores de DA (alterações estruturais na ressonância magnética, marcadores de líquido céfalo-raquidiano, neuroimagem molecular, proteínas plasmáticas) conseguiram separar indivíduos cognitivamente normais, dos com defeito cognitivo ligeiro (DCL) e DA; DA de outras demências; e os DCL que converteram para DA dos que permaneceram estáveis. Os novos critérios de diagnóstico de DA contribuíram para um aumento da especificidade no diagnóstico da doença em fase pré-demência. Apesar do papel inquestionável dos biomarcadores no diagnóstico nesta situação, ainda não é claro que biomarcadores e valores de corte deverão ser preferidos. Deverão ser definidos valores de corte dos biomarcadores específicos para a idade, associadamente a padronização de procedimentos.

Palavras-Chave: Doença de Alzheimer; demência; defeito cognitivo ligeiro; diagnóstico; biomarcadores; efeito modificador da doença.

Abstract

Current diagnosis of Alzheimer's disease (AD) is done when full-blown dementia is present. With the development of therapies aimed at slowing disease progression, it became important to diagnose AD in a pre-dementia phase. With this purpose, new AD diagnostic criteria for therapeutic clinical trials were elaborated, which included disease biomarkers. The aim of the present systematic review is to appraise the progress done in AD diagnosis since the publication of the proposal for new diagnostic criteria. Original articles, describing AD diagnosis in pre-dementia stage, published after the new AD diagnostic criteria were issued, were searched in Pubmed. 64 articles were included in the analysis. Subjects with episodic memory impairment convert frequently to AD, but can convert as well to other dementias. AD biomarkers (structural changes in magnetic resonance imaging, cerebrospinal fluid biomarkers, molecular neuroimaging, plasma proteins) succeeded in separating cognitively normal, mild cognitive impairment (MCI) and AD subjects; AD from other dementias; and MCI subjects who converted to AD from those who remained stable. New AD diagnostic criteria provided increased specificity in the diagnosis of the pre-dementia stage of AD. The role of biomarkers in the diagnosis of the pre-dementia stage of AD is unquestionable. However, it is not yet clear which markers and cutoff values are the best for identifying such individuals. Age-specific cutoff values for biomarkers should be defined, in association with standardized procedures.

Key words: Alzheimer's disease; dementia; mild cognitive impairment; diagnosis; biomarkers; disease-modifying effect.

Índice

Introdução.....	5
Métodos.....	7
Resultados.....	8
A) Defeito da memória episódica.....	8
B) RM estrutural.....	8
C) Biomarcadores de DA no LCR.....	12
D) Métodos de Neuroimagem Molecular.....	13
E) Outros biomarcadores de DA.....	15
F) Comparação e combinação de biomarcadores.....	16
G) Estudos de validação dos critérios de Dubois.....	18
Discussão.....	19
Referências.....	22
Tabelas.....	30
Anexo: Normas de publicação da revista científica “Arquivos de Medicina”	

Introdução

Estima-se que mais de 24 milhões de pessoas no mundo sejam afectadas por demência. A Doença de Alzheimer (DA) é a causa mais comum e o número de doentes tende a aumentar nas próximas décadas (1).

A DA é uma doença neurodegenerativa progressiva, cujos achados patológicos dominantes são as placas de beta-amilóide e as tranças neurofibrilares de proteína tau hiperfosforilada, associadas a processos inflamatórios e oxidativos, com conseqüente neurodegeneração. Estes achados patológicos verificam-se vários anos antes de ocorrer demência (2).

Actualmente, o diagnóstico clínico de DA baseia-se nos critérios do *National Institute of Neurological Disorders and Stroke–Alzheimer Disease and Related Disorders* (NINCDS–ADRDA) (3), criados em 1984, e nos critérios do *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth edition* (DSM-IV-TR) (4). Ambos fazem um diagnóstico de DA em dois passos: primeiro identificam uma síndrome demencial e posteriormente aplicam critérios baseados nas características clínicas da doença (5). De acordo com NINCDS-ADRDA, um diagnóstico definitivo de DA é feito apenas com confirmação histopatológica. O diagnóstico clínico é probabilístico (3).

Até à data, o único tratamento disponível para DA é sintomático (6). Importantes avanços científicos no conhecimento da fisiopatologia da doença levaram ao desenvolvimento de vários fármacos com o objectivo de travar a sua progressão, que devem ser idealmente testados antes de ocorrer clinicamente demência (7).

A fase prodrómica da DA corresponde ao período pré-demência, de sintomatologia ligeira, encontrando-se inserida na categoria do defeito cognitivo ligeiro (DCL) (5), cujos critérios foram definidos por Petersen e colaboradores (8). Indivíduos com DCL têm maior probabilidade de progressão para demência, sendo a taxa de conversão anual para DA de 10-15% (8). No entanto, a evolução é heterogénea (9), tornando-se importante distinguir aqueles que desenvolverão DA, ou seja, que a possuem em fase prodrómica, pois nestes interessa testar as terapias modificadoras da doença (5).

Em 2007 foram propostos critérios de diagnóstico de DA para usar em investigação clínica (5), nomeadamente ensaios clínicos de novos fármacos específicos. As razões que levaram os autores

a estabelecer novos critérios foram: a) especificidade diagnóstica insuficiente dos critérios DSM-IV-TR e dos NINCDS-ADRDA (10-13); b) melhor reconhecimento do fenótipo de DA; c) necessidade de testar novos fármacos numa fase pré-demência; d) DCL não é sinónimo de DA prodrómica; e) identificação de biomarcadores de DA.

Um biomarcador é uma medida objectiva de um processo biológico ou patogénico, com capacidade para avaliar o risco da doença ou prognóstico. Pode ser usado para diagnóstico ou para monitorizar intervenções terapêuticas (14). O biomarcador ideal de DA deverá detectar uma característica fundamental da neuropatologia e ser validado em casos confirmados neuropatologicamente. Deverá ser confiável, reprodutível, não-invasivo, simples de efectuar e barato (15).

São potenciais biomarcadores de DA: níveis baixos de proteína amiloide beta 1-42 ($A\beta_{1-42}$), níveis altos de proteínas tau total (t-tau) e tau fosforilada (p-tau), alta razão entre t-tau ou p-tau e $A\beta_{1-42}$ no líquido céfalo-raquidiano (LCR); atrofia do lobo temporal medial (LTM) na ressonância magnética (RM); presença de amiloide cerebral detectada por Tomografia de Emissão de Positrões (PET), redução da taxa do metabolismo cerebral da glicose (TMCgl) em regiões parieto-temporais bilaterais na PET; fluxo sanguíneo cerebral (FSC) alterado na Tomografia Computorizada de Emissão de Fotões (SPECT); níveis alterados de $A\beta_{1-42}$ e de outras proteínas no plasma (5, 14).

Os critérios de Dubois e colaboradores (5), propõem que o diagnóstico de DA provável assente num critério fundamental de perda de memória episódica com pelo menos 6 meses de duração, associada a uma ou mais características sugestivas: atrofia do LTM na RM; baixas concentrações de $A\beta_{1-42}$, aumento da t-tau ou p-tau no LCR; redução da TMCgl em regiões parieto-temporais bilaterais, ou positividade para um marcador de amiloide validado na PET; mutação autossómica dominante de DA provada na família imediata. Adicionalmente, foram elaborados critérios de exclusão de DA. Pretendeu-se assim, definir DA de forma clínica, bioquímica, estrutural e metabólica em fase pré-demência (5).

O objectivo deste trabalho é rever o progresso feito recentemente relativamente ao diagnóstico de DA em fase pré-demência, e na predição da progressão de DCL para DA, desde a publicação dos critérios de Dubois e colaboradores (5), à luz dos seus princípios.

Métodos

Os artigos aceites para a revisão sistemática obedecem aos seguintes critérios de pesquisa: a) artigos originais; b) escritos em Inglês; c) publicados entre 9 de Julho de 2007 (data de publicação dos critérios de Dubois e colaboradores (5)) e 21 de Janeiro de 2011; d) que abordem diagnóstico de DA em fase pré-demência.

A PubMed foi consultada para pesquisa electrónica de referências bibliográficas, no dia 21 de Janeiro de 2011, utilizando a seguinte *query*: (“alzheimer’s disease” [Mesh] AND “diagnosis” [Mesh] AND “biomarkers” [Mesh] AND “mild cognitive impairment” [Mesh]). Obtiveram-se 216 referências e após leitura dos 209 resumos disponibilizados online foram excluídos 123 artigos devido aos seguintes motivos: a) tema divergente em relação ao tema da revisão sistemática; b) desobediência aos critérios de pesquisa supracitados. Das restantes 86 referências, foram obtidos os artigos completos. Após a leitura integral de todos, excluíram-se 36 por não fornecerem informação necessária ao objectivo do trabalho.

A pesquisa electrónica foi complementada por pesquisa manual de referências bibliográficas relevantes, resultando em 14 artigos adicionais que obedeciam ao tema e critérios de inclusão. Deste modo a revisão sistemática inclui 64 artigos. Os resultados serão revistos, agrupados e apresentados por categoria.

Resultados

A) Defeito da memória episódica

Num estudo de coorte, que avaliou 209 indivíduos com DCL por um período de 2 anos, a taxa de conversão para demência foi de 25%. DCL com defeito na memória e noutros domínios cognitivos (DCLa-MD), foi o subtipo que mais frequentemente converteu para demência, apresentando uma alta sensibilidade (80%) na sua detecção e uma sensibilidade e especificidade de 86% e 71%, respectivamente, no diagnóstico de DA. O DCL amnésico puro (DCLa-SD), além de raro, parecia ser uma condição benigna, pois 25% dos indivíduos voltaram à condição normal. 15% dos casos de DA e 25% dos de demência vascular (DVAS)/mista, não mostraram defeito de memória significativo na avaliação base, concluindo-se que o defeito na memória, apesar de considerado um sintoma cardinal de demência prodrómica, não constitui sempre o primeiro sintoma, inclusive de DA (16).

Noutro estudo prospectivo, as taxas de conversão para DA, após 30 meses de seguimento, foram de 48,7% para DCL amnésico (DCLa); 26,8% para DCL não-amnésico (DCLna) e 12,6% para os indivíduos cognitivamente normais (CN). Na avaliação final, 46% dos casos de DA desenvolveram-se a partir de DCL, embora apenas 21% tenham evoluído de DCLa. Concluiu-se que a avaliação psicométrica e os subtipos de DCL não conseguiram prever os vários tipos de demência com precisão, embora aproximadamente 50% dos indivíduos com DCLa viessem a desenvolver DA (17).

B) RM Estrutural

B.1) Identificação de grupos de indivíduos a nível transversal

Vários estudos pretenderam avaliar a concordância entre medidas volumétricas e de espessura cortical de RM e diagnóstico clínico, detectando aquelas que melhor conseguiam distinguir indivíduos CN, DCL e DA.

Num trabalho que estudou o volume e espessura cortical média de 34 regiões neuroanatômicas usando métodos automáticos, aquelas que mais contribuíram para a discriminação de DCL foram:

espessura do córtex entorrinal, volume do hipocampo e espessura do giro supramarginal. Estas 3 medidas demonstraram, no grupo de validação, uma área abaixo da curva (AUC) de 0,95; com sensibilidade e especificidade de 90 e 91%, respectivamente, na comparação entre DCL e CN. Na discriminação de DA a AUC foi de 1,0 (18).

Num estudo cujo objectivo foi examinar o padrão de neurodegeneração ao longo da evolução da DA verificou-se um padrão de atrofia progressivo: CN < DCLa-SD < DCLa-MD < DA. DA em comparação com CN revelou menores volumes de matéria branca e presença de sinal anormal, aumento dos volumes ventriculares, menores volumes do hipocampo e da amígdala e menor espessura dos córtices temporal, parietal, cingulado e frontal. As regiões mais importantes na distinção entre DCLa-SD e CN foram as temporais mesiais, incluindo hipocampo, córtex entorrinal e amígdala. Em relação aos DCLa-SD, os DCLa-MD apresentavam uma maior atrofia no lobo temporal lateral e inferior e nos córtices de associação temporo-parietais, retroesplénico, cingulado anterior e outras regiões frontais. DA e DCLa-MD apresentavam padrões de atrofia relativamente semelhantes. Porém, o último, demonstrou córtices mais finos no giro cingulado anterior e regiões paracentrais, as quais estavam relativamente poupadas na DA e DCL, o que pode ter ocorrido devido à inclusão de outras patologias como demência fronto-temporal (DFT) e demência de Corpos de Lewy (CLY) (19).

Quanto à morfologia ventricular, volumes ventriculares médios foram maiores na DA, seguindo-se os indivíduos DCL e posteriormente os CN. As regiões posteriores dos ventrículos tiveram maior expansão entre os CN e DCL, enquanto as regiões frontais dos cornos superiores tenderam a expandir-se entre DCL e DA (20).

B.2) Identificação de grupos de indivíduos a nível longitudinal

Vários estudos abordaram a capacidade das alterações cerebrais longitudinais na distinção entre indivíduos CN, DCL e DA (21-24). As taxas de atrofia cerebral global, de alargamento ventricular e em regiões como hipocampo, córtex entorrinal e LTM, aumentaram progressivamente: CN < DCL < DA (21-24).

Num estudo, o córtex entorrinal foi a região que mostrou maior percentagem anual de alteração do volume na DA (-3,81%; Intervalo de Confiança (IC) 95% [-4,10; -3,52]) e no DCL

(-2,54%; IC 95% [-2,75;- 2,33]) em relação aos CN, seguindo-se os córtices temporal inferior e médio e fusiforme. Assim, alterações nas regiões corticais do LTM, particularmente no córtex entorrinal, podem ser as medidas volumétricas mais sensíveis e específicas na fase precoce da doença. Alterações no hipocampo, ventrículos e em todo o cérebro forneceram índices sensíveis de progressão da doença; porém também ocorrem no envelhecimento normal, reduzindo a especificidade na detecção (22). Nos DCL e DA foi detectada progressão da perda hipocámpica ao longo de 6 meses e acelerada ao longo de 1 ano ($p=0,0001$), enquanto nos CN a perda hipocámpica foi detectada ao longo de 1 ano, sem aceleração ($p=0,2$) (23).

Em relação aos CN os DCL apresentavam um padrão de atrofia progressiva restrita aos lobos temporal e parietal, enquanto os DA, além de mostrarem maiores taxas de atrofia nos lobos referidos, possuíam maior expansão ventricular e perda progressiva de tecido nos lobos occipital e frontal (24).

B.3) Predição da progressão do DCL

Diversos estudos longitudinais examinaram a precisão da RM estrutural na capacidade de prever que indivíduos com DCL progredirão para DA (DCLp) *versus* aqueles que permanecerão estáveis ao longo do período de seguimento (DCLe) (21, 24-28).

B.3.a) RM na avaliação base como preditor da progressão do DCL

Os resultados de vários estudos (25-27) mostraram que os indivíduos DCLp apresentavam um grau de neurodegeneração na RM maior, em relação aos DCLe, sobretudo a nível do LTM (incluindo hipocampo, córtex entorrinal), e também noutras regiões dos lobos temporal e parietal. Os DCLp apresentavam ainda menores volumes na matéria branca parahipocámpica, maior tamanho dos cornos temporais ventriculares e patologia mais pronunciada dos pequenos vasos periventriculares em relação aos DCLe (25). Os DCLp eram mais semelhantes aos indivíduos com DA, mostrando níveis de atrofia cerebral significativa, não localizada (25, 26).

Num trabalho que avaliou medidas volumétricas e de espessura cortical, a assinatura cortical de DA foi superior às medidas volumétricas e à espessura do LTM na predição da progressão de DCL para DA (sensibilidade 83%, especificidade 65%). Quanto às medidas volumétricas, o volume do

córtex entorrinal, seguido do hipocampo foram as que obtiveram uma melhor performance (sensibilidade 72,4% e 83%; especificidade 65% e 50%, respectivamente), tendo sido superadas pela espessura do LTM (sensibilidade 83%, especificidade 55%) (27). Noutro estudo, a redução do volume hipocámpico foi a característica estrutural mais robusta de conversão para DA (26).

Está a aumentar o interesse em medidas que além de predizerem diferenças de grupo, sejam também sensíveis e específicas a nível individual. Uma técnica de classificação foi construída para identificar DCLp a um nível individual, tendo-se obtido AUC 0,77; com precisão máxima de 81,5%. (25).

B.3.b) Taxa de atrofia como preditor da progressão do DCL

Num estudo que avaliou as alterações do volume cerebral global e volume ventricular, num período de 12 meses, o grupo DCLp teve taxas de atrofia cerebral ($p < 0,0005$) aproximadamente 50% maiores do que os DCLe (1,6%/ano e 0,9%/ano, respectivamente), verificando-se o mesmo a nível da taxa de alargamento ventricular ($p = 0,001$) (21). Noutro trabalho, a maior taxa de declínio do volume hipocámpico foi associada a um risco aumentado de demência em indivíduos não dementes de 60-90 anos, num período de seguimento de 10 anos (hipocampo esquerdo 1,6; IC 95% [1,3-2,3], hipocampo direito 1,6; IC 95% [1,2-2,1]) (28). Outro estudo mostrou que atrofia anual do lobo temporal foi mais rápida nos DCLp, em relação aos DCLe (24); noutro apenas foram encontradas diferenças significativas entre os dois grupos a nível da matéria branca periventricular anormal e volumes dos cornos temporais, concluindo-se que as medidas de atrofia cerebral na avaliação base foram superiores a distinguir os DCLp dos DCLe em relação às longitudinais (25).

Além da RM estrutural, existem outros tipos e métodos de RM, como a RM funcional, espectroscopia de prótons (29), uso do tempo de relaxamento $T1\rho$ como meio de contraste alternativo (30).

C) Biomarcadores de DA no LCR

C.1) $A\beta_{1-42}$, t-tau e p-tau

Os biomarcadores de LCR $A\beta_{1-42}$, t-tau e p-tau; foram avaliados num grande número de estudos. Globalmente, verificaram-se aumentos nos níveis de t-tau, p-tau, nas razões t-tau/ $A\beta_{1-42}$ e p-tau/ $A\beta_{1-42}$; e diminuição nas concentrações de $A\beta_{1-42}$, comparando DCL com CN e DA com DCL (31-34). Indivíduos DCLp apresentavam maiores níveis de t-tau, p-tau, p-tau/ $A\beta_{1-42}$, t-tau/ $A\beta_{1-42}$ e menores níveis de $A\beta_{1-42}$ e razão $A\beta_{1-42}/A\beta_{1-40}$ comparando com DCLe, DCL que desenvolveram demências não-Alzheimer (D-NA) e CN (32, 35, 36). Num estudo, um modelo de regressão logística englobando $A\beta_{1-42}$, t-tau e número de alelos $\epsilon 4$ da apolipoproteína E, foi o que melhor distinguiu DA, DCL e CN (33).

Em 3 grandes estudos multicêntricos (ADNI (33), DESCRIPA (34) e *Swedish Brain Power Project* (32) os biomarcadores de LCR referidos mostraram uma elevada performance no diagnóstico de DA, embora menor que a reportada em estudos singulares prévios. A tabela 1 mostra os valores de corte, sensibilidade, especificidade e AUC para cada biomarcador de LCR isolado ou combinação de biomarcadores, em vários estudos.

No estudo ADNI (33), $A\beta_{1-42}$ foi o biomarcador mais sensível na detecção de DA no grupo submetido a autópsia (sensibilidade 96,4%; especificidade 76,9%; AUC 0,913). Noutro trabalho, a assinatura de DA teve uma sensibilidade de 94% e 100%, respectivamente, na detecção de DA e de DCLp (37). Em geral, a associação de 2 ou 3 biomarcadores de LCR diferentes forneceu uma maior sensibilidade e especificidade em comparação com cada biomarcador individual na detecção de DA e de DCLp, em relação aos grupos CN e DCLe, respectivamente (32, 33). Um perfil de DA para t-tau/ $A\beta_{1-42}$ foi detectado em 33 dos 37 indivíduos com DCL que progrediram para DA, durante o primeiro ano de seguimento (33). Nos indivíduos com DCLa a razão anormal $A\beta_{1-42}/\text{tau}$, teve capacidade de predição de DA, após período de seguimento anual, até 3 anos (*Odds Ratio* 26,8; IC 95% [1,6-456,4]) (34); verificando-se o mesmo nos DCL com uma combinação $A\beta_{1-42}/\text{p-tau}$ e t-tau anormal seguidos durante 2 anos (Risco Relativo 5,2; IC 95% [3,9-6,9]) (32).

Apesar dos DCL com perfil de biomarcadores de LCR de DA apresentarem uma maior probabilidade de progressão para DA, um estudo demonstrou que a adição dos critérios de baixa $A\beta_{1-42}$ ou alta tau/ $A\beta_{1-42}$ a um diagnóstico de DCLa, resultou num mínimo ou nenhum aumento no poder dos ensaios clínicos comparando com critérios de DCLa (38).

Quanto à distinção entre DA e D-NA, geralmente, os níveis de $A\beta_{1-42}$, t-tau ou p-tau tiveram uma baixa sensibilidade (39, 40) e uma especificidade elevada (40). Quando usados 2 ou 3 dos biomarcadores em conjunto obtiveram-se sensibilidades mais baixas, mas especificidades mais elevadas. Assim, resultados normais de biomarcadores de LCR não devem excluir doença neurodegenerativa (40). Na distinção de DCLp em relação a DVAS, CLY e DFT a equação $A\beta_{1-42}/p$ -tau e t-tau teve uma especificidade de 71, 57 e 86%, respectivamente (32).

A variabilidade inter-cêntrica nos níveis de biomarcadores de LCR sublinha a necessidade de padronização de técnicas analíticas e procedimentos clínicos (32).

C.2) Outros biomarcadores de DA no LCR

Há outros potenciais biomarcadores em estudo, que reflectem elementos primários no processo patogénico de DA - oligómeros $A\beta$, actividade e concentração da enzima clivadora 1 do local β da proteína precursora da amiloide (BACE1), produtos de degradação $A\beta$ (41, 42) - ou eventos secundários que incluem respostas inflamatórias e stress oxidativo (43,44).

D) Métodos de Neuroimagem Molecular

D.1) PET

D.1.a) PET com fluorodesoxiglicose (FDG-PET)

Em comparação com os CN, os indivíduos com DA e DCL, separadamente, apresentaram menor TMCgl, bilateralmente, nas seguintes regiões: pré-cunha, cíngulo posterior, regiões parieto-temporais, córtex frontal e occipital (45, 46). O padrão hipometabólico foi mais extenso na DA em

relação a DCL, correlacionou-se com maior severidade da demência (45) e com as medidas de declínio cognitivo (47). Diminuição da TMCgl frontal ocorreu preferencialmente após início de DA (45).

Indivíduos DCLe, apresentaram uma maior TMCgl que os DCLp (48).

Quanto à distinção entre DA e D-NA, o FDG-PET distinguiu DA de DFT confirmadas histopatologicamente, com uma precisão superior ao diagnóstico clínico. A maioria das recomendações necessárias ao estabelecimento da FDG-PET como um biomarcador foram alcançadas, nomeadamente os valores padrão de sensibilidade, especificidade e valor preditivo positivo (VPP), com exceção da sensibilidade para DFT e especificidade para DA que foram de 73% em vez de 80% (49).

D.1.b) PET com marcação de amilóide e tau

[18F]fluoroetil(metilamino)-2-naftil}etilideno)malononitrilo (FDDNP) liga-se a placas de amilóide e tranças neurofibrilares, enquanto o *Pittsburgh Compound B* (PIB) liga-se apenas a placas de amilóide. Indivíduos com DA em comparação com CN apresentaram aumento da retenção de PIB em regiões com elevados níveis de placas de amilóide: córtices frontal, parietal, temporal, cíngulo posterior/pré-cunha. DA *versus* CN mostraram maior retenção de FDDNP nos córtices frontal, parietal, temporal e adicionalmente, no córtex entorrinal, giro temporal inferior e córtex visual secundário; que são zonas de acumulação de tranças neurofibrilares. A região evidenciada após a subtração dos dados da PET (FDDNP-PIB) foi a formação hipocámpica, reflectindo uma acumulação de tranças neurofibrilares nesta região (46).

A retenção de PIB nos indivíduos DCL foi intermédia entre os DA e CN (48). Os DCLp apresentaram maior retenção de PIB que os DCLe na avaliação base (48, 50, 51). Os níveis foram também maiores nos DCL que converteram para DA num ano em relação aos conversores mais lentos, no giro cíngulo anterior ($p=0,027$) e córtex frontal ($p=0,031$) (50). A maior retenção de PIB no córtex frontal e região temporal lateral foi associada significativamente com declínio cognitivo longitudinal no estado mental e memória episódica verbal (52).

Num estudo onde se comparou a análise visual da PET com PIB e FDDNP, em indivíduos com DA e CN, o PIB obteve a melhor combinação sensibilidade/especificidade (1,0 e 0,85; respectivamente) e o FDDNP teve resultados insuficientes (sensibilidade 0,67; especificidade 0,53). A análise quantitativa dos dados da PET-FDDNP mostrou maior valor diagnóstico que a análise visual (53).

D.2) SPECT

Estudos que avaliaram o papel da SPECT na conversão de DCL para DA, revelaram uma diminuição do FSC nas regiões parieto-temporais nos DCLp (54-58). Na tabela 2 encontram-se sumariados alguns desses estudos.

E) Outros biomarcadores de DA

Embora não incluídos nos critérios de Dubois e colaboradores (5), os biomarcadores sanguíneos poderão adquirir importância no diagnóstico de DA dado serem menos invasivos em relação à análise de LCR, mais acessíveis, mais simples de efectuar e mais baratos em relação aos métodos de imagem (59).

Vários estudos avaliaram o papel, no diagnóstico de DA, dos peptídeos A β (60-63), de proteínas inflamatórias e outras no sangue (59, 64-69); bem como moléculas envolvidas em processos oxidativos e apoptóticos (70). Os níveis plasmáticos de peptídeos A β não mostraram utilidade no diagnóstico de DA (62,63). Pelo contrário, proteínas sinalizadoras no plasma, muitas delas de natureza inflamatória, conseguiram separar indivíduos com DA de CN com elevada precisão (59,64), distinguir DA de D-NA e artrite reumatóide, e identificar os indivíduos DCLp em relação aos DCLe ou que desenvolveram D-NA (64).

F) Comparação e combinação de biomarcadores

Geralmente, a combinação de biomarcadores resultou num maior poder de discriminação inter-grupo, numa maior precisão diagnóstica e capacidade de predição de DA.

F.1) Discriminação diagnóstica entre CN, DCL e DA

Num estudo que avaliou RM, FDG-PET e biomarcadores de LCR, as únicas medidas que conseguiram prever o grupo diagnóstico foram o volume do hipocampo, espessura retroesplénica e $t\text{-tau}/A\beta_{1-42}$, com FDG-PET fornecendo informação redundante. Na classificação DA *versus* CN, as medidas morfométricas de RM (volume hipocámpico, espessura cortical entorrinal e retroesplénica) foram as mais sensíveis; com a combinação de medidas de RM e biomarcadores de LCR obtendo a maior precisão (71).

Noutro trabalho que estudou marcadores de LCR ($t\text{-tau}/A\beta_{1-42}$) e RM (pontuação no índice de anormalidade estrutural - STAND), ambos contribuíram independentemente para a discriminação inter-grupo, embora com superioridade da RM. A pontuação STAND teve uma sensibilidade, especificidade e VPP de 71%, 95% e 93%, respectivamente, na distinção entre DA e CN. A combinação desta com biomarcadores de LCR resultou num maior poder de discriminação inter-grupo do que cada biomarcador individual (72).

F.2) Discriminação diagnóstica entre DA e D-NA

Num trabalho que avaliou a capacidade de distinção entre DA e D-NA, da PET, RM, e marcadores de LCR, a sensibilidade e especificidade foram, respectivamente: 87 e 47% para atrofia hipocámpica na RM, 65% e 69% para hipometabolismo na FDG-PET e 71% e 96% para baixa concentração $A\beta_{1-42}$ e alta $t\text{-tau}$ no LCR. Aumentando o número de biomarcadores positivos melhorou a precisão diagnóstica (73).

F.3) Predição de declínio cognitivo

Na maioria dos estudos, as alterações na RM foram mais preditivas de alteração cognitiva futura que alterações nos níveis de marcadores de LCR (71, 74, 75). FDG-PET mostrou capacidade de prever alteração cognitiva, mas o benefício da sua adição à RM foi modesto (71).

F.4) Predição de DA

Num estudo que comparou a capacidade de prever a progressão de DCL para DA de marcadores de LCR, volume do hipocampo na RM, hipometabolismo na FDG-PET e defeito de memória episódica, apenas os dois últimos tiveram essa capacidade. Indivíduos com DCL que apresentavam resultados anormais na FDG-PET e na memória episódica tinham 11,7 vezes maior probabilidade de conversão do que os com resultados normais em ambas as medidas ($p \leq 0,02$) (76).

Noutro trabalho, a pontuação STAND na RM e $\log(t\text{-tau}/A\beta_{1-42})$, tiveram capacidade de prever conversão de DCLa para DA; com a combinação dos 2 sendo superior a cada um individual (74).

O risco de progressão para DA encontrava-se aumentado nos DCL com diminuição do FSC no córtex parietal na SPECT (*Hazard Ratio* (HR) 3,1; $p < 0,0001$) bem como nos com níveis patológicos de tau e $A\beta_{1-42}$ no LCR (HR 13,4; $p < 0,0001$). Os DCL com uma combinação de ambos, tinham risco de DA futuro ainda mais aumentado (HR 24,3; $p < 0,0001$); quando comparados com aqueles com níveis de biomarcadores de LCR normais (57).

Pior pontuação STAND e diminuição do FSC parietal na avaliação base associaram-se a menor tempo de conversão para DA (57, 74).

Jack e colaboradores (77) avaliaram 218 indivíduos com DCL, tendo-se verificado que a carga de amilóide (PIB-PET e $A\beta_{1-42}$ no LCR) e a atrofia hipocâmpica na RM foram capazes de prever o tempo de progressão para DA com poder semelhante. No entanto, o perfil de risco foi linear atendendo à atrofia hipocâmpica; enquanto que atingiu um teto para valores maiores de $A\beta$ amilóide, concluindo-se que a severidade da carga de amilóide se encontrava desacoplada do risco de progressão em níveis mais elevados.

G) Estudos de validação dos critérios de Dubois

Alguns estudos foram efectuados com objectivo de avaliar os novos critérios de DA pré-demência de Dubois e colaboradores (5). Aplicados retrospectivamente a uma amostra proveniente do estudo OPTIMA (*Oxford Project to Investigate Memory and Ageing*), com diagnóstico histopatológico de DA, os melhores resultados, tendo em conta a amostra total, foram alcançados usando critérios de defeito de memória e marcadores de LCR juntamente com critérios de exclusão (sensibilidade 0,68; especificidade 0,93). Especificidade de 1,0 foi alcançada com critérios de suporte de LCR e LCR+atrofia LTM. Concluiu-se que os critérios revistos forneceram importante especificidade no diagnóstico diferencial de DA em relação a D-NA, mas não foram mais sensíveis que os critérios NINCDS-ADRDA na detecção de DA (78).

Noutro estudo retrospectivo, que comparou os critérios de diagnóstico clínicos de DA (DSMIV-TR, Classificação Internacional de Doenças, 10ª Revisão - ICD-10) com os propostos por Dubois e colaboradores (5), numa população referenciada a uma clínica de memória; 95,6% dos indivíduos apresentavam defeito de memória episódica patológica e 54,5% tinham uma ou mais características adicionais (atrofia LTM na RM, diminuição FSC na SPECT ou alteração nos marcadores de LCR). Assim, os novos critérios foram válidos em 55% dos indivíduos com DA clínica e dentro dos grupos do defeito cognitivo subjectivo e DCL identificaram, respectivamente, 11% e 6% de casos com possível DA pré-demência (79).

Discussão

Os critérios de Dubois e colaboradores (5) foram publicados no sentido de facilitar um diagnóstico de DA mais preciso através de dados clínicos, bioquímicos, estruturais e metabólicos, com o objectivo de seleccionar os indivíduos com DA prodrómica (pré-demência), pois nestes interessa testar as terapias potencialmente modificadoras do curso da doença. O DCL é um grupo heterogéneo e a inclusão destes indivíduos em ensaios clínicos poderá levar ao tratamento de pessoas sem DA, conduzindo ao fracasso dos ensaios clínicos (5).

Com o objectivo de rever o progresso feito nesta área desde a publicação dos critérios de Dubois e colaboradores (5), foi efectuada a presente revisão sistemática.

Nos novos critérios de diagnóstico de DA (5), o defeito de memória episódica é fundamental. De facto, DCLa-MD apresentou uma sensibilidade e especificidade de 86% e 71%, respectivamente, no diagnóstico de DA. No entanto, o defeito de memória episódica nem sempre constitui o primeiro sintoma da doença (16). DCLna também converte frequentemente para DA e a progressão para DVAS e CLY não se restringe a indivíduos com DCLna (17). Há uma variabilidade entre os testes neuropsicológicos efectuados e desacordo sobre que testes reflectem determinado domínio cognitivo. No geral, a avaliação psicométrica e os subtipos de DCL não foram capazes de prever os vários tipos de demência com precisão (17). Até à data não se chegou a nenhum consenso sobre que testes deverão ser usados para identificar defeito na memória episódica e noutros domínios cognitivos (80).

Nos critérios de Dubois e colaboradores (5), a atrofia do LTM é uma característica sugestiva de DA prodrómica. De facto, as regiões temporais mesiais, nomeadamente hipocampo e córtex entorrinal foram as mais importantes na distinção entre DA, DCL e CN e na predição da conversão de DCL para DA (18, 19, 22-26). No entanto, a associação de várias regiões de interesse, normalmente alteradas na DA, poderá trazer maior sensibilidade e especificidade na detecção de DA, em relação apenas ao uso do LTM (27). Nos vários estudos foram usadas medidas volumétricas e de espessura cortical e múltiplas técnicas de análise de dados de imagem, mas são necessários mais trabalhos que as comparem entre si. A utilidade da RM estrutural no diagnóstico de DA pré-demência aumentará com a padronização dos métodos de aquisição e análise das imagens (81).

Os níveis alterados de biomarcadores de LCR $A\beta_{1-42}$, t-tau e p-tau, e as associações entre eles mostraram uma elevada eficácia no diagnóstico de DA (32-34). Em geral, a associação de biomarcadores de LCR diferentes forneceu uma maior sensibilidade e especificidade em comparação com cada biomarcador individual na detecção de DA e de DCLp, em relação aos grupos CN e DCLe, respectivamente (32, 33). A especificidade na distinção entre DA e outros diagnósticos (D-NA e depressão) foi, geralmente, elevada (40). A punção lombar é considerada um procedimento moderadamente invasivo, mas pode ser efectuada com baixa taxa de efeitos adversos significativos (15). Os diversos estudos usaram diferentes técnicas para quantificação de proteínas de LCR, bem como diferentes valores de corte para categorização de indivíduos, verificando-se variações inter-laboratoriais e inter-cêntricas significativas nos níveis de biomarcadores de LCR, sublinhando a necessidade de padronização de técnicas analíticas e de procedimentos clínicos (32).

Os métodos de neuroimagem molecular, sobretudo PET com rádio-fármacos específicos para as proteínas depositadas, mostraram utilidade no diagnóstico de DA. Porém, este é um exame caro e pouco acessível logisticamente.

Embora não incluídos nos critérios de Dubois e colaboradores (5), os biomarcadores de DA no sangue poderão adquirir grande importância no diagnóstico da doença, pois são menos invasivos em relação à análise de LCR, mais simples de efectuar e mais baratos em relação aos métodos de imagem (82).

A combinação de biomarcadores, em geral, resultou num maior poder de discriminação inter-grupo, numa maior precisão diagnóstica e capacidade de predição de DA em relação ao uso individual (71-74). No entanto, será necessário avaliar se o acréscimo de precisão diagnóstica compensará face aos custos e tempo dispendido. Poucos biomarcadores foram comparados entre si em estudos multivariados, e o uso de combinações foi limitado. Assim, é difícil compreender a relativa importância dos diferentes biomarcadores quando usados simultaneamente.

Os estudos de validação efectuados após a publicação dos critérios de Dubois e colaboradores (78,79), concluíram que estes forneceram importante especificidade no diagnóstico diferencial de DA em relação a D-NA, mas não foram mais sensíveis que os critérios NINCDS-ADRDA na detecção de DA (78). Os novos critérios foram válidos em 55% dos indivíduos com DA clínica (79). Os estudos de

validação são ainda escassos e retrospectivos, sendo necessários mais estudos, com amostras maiores e prospectivos (73,78). A validação neuropatológica *post mortem* do diagnóstico é indispensável. Os estudos de validação exigem uma grande experiência, capacidades técnicas, fontes de financiamento e uma equipa multidisciplinar que poderá não estar disponível em todas as clínicas, nem na maioria dos estudos epidemiológicos. RM e PET poderão não estar disponíveis nalguns países (5).

Concluindo, os critérios de Dubois e colaboradores (5) parecem contribuir para um aumento da especificidade no diagnóstico de DA em fase pré-demência. No entanto, ainda não está claro quais os biomarcadores e valores de corte ideais na identificação de DA prodrómica. As inconsistências entre os resultados de diferentes estudos devem-se provavelmente a uma enorme variedade de metodologias, exigindo-se no futuro esforços de padronização e validação neste campo.

Referências:

- 1-Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganguli M, et al. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet* 2005; 366: 2112-17.
- 2-Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *Lancet* 2006; 368: 387-403.
- 3-McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price DL, 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: 939-44.
- 4-American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (IV-TR). 4th edn – text revised. Washington, DC: 2000.
- 5-Dubois B, Feldman HH, Jacova C, DeKosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J, et al. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol* 2007; 6: 734-46.
- 6-Perrin RJ, Fagan AM, Holtzman DM. Multimodal techniques for diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease. *Nature* 2009; 461: 916-22.
- 7-Shineman DW, Howard MF. Novel strategies for the prevention of dementia from Alzheimer's disease. *Dialogues Clin Neurosci* 2009; 11(2): 129-34.
- 8-Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol* 1999; 56: 303-8.
- 9-Petersen RC, Parisi JE, Dickson DW, Johnson KA, Knopman DS, Boeve BF, et al. Neuropathologic features of amnesic mild cognitive impairment. *Arch Neurol* 2006; 63: 665-72.
- 10-Rasmusson DX, Brandt J, Steele C, Hedreen JC, Troncoso JC, Folstein MF. Accuracy of clinical diagnosis of Alzheimer disease and clinical features of patients with non-Alzheimer disease neuropathology. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 1996; 10: 180-8.
- 11-Nagy Z, Esiri MM, Hindley NJ, Joachim C, Morris JH, King EM, et al. Accuracy of clinical operational diagnostic criteria for Alzheimer's disease in relation to different pathological diagnostic protocols. *Dement Geriatr Cogn Disord* 1998; 9: 219-26.

12-Hogervorst E, Barnetson L, Jobst KA, Nagy Z, Combrinck M, Smith AD. Diagnosing dementia: interrater reliability assessment and accuracy of the NINCDS/ADRDA criteria versus CERAD histopathological criteria for Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2000; 11:107-13.

13-Varma AR, Snowden JS, Lloyd JJ, Talbot PR, Mann DM, Neary D. Evaluation of the NINCDS-ADRDA criteria in the differentiation of Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 66: 184-8.

14-Hampel H, Frank R, Broich K, Teipel SJ, Katz RG, Hardy J, et al. Biomarkers for Alzheimer's disease: academic, industry and regulatory perspectives. *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9 (7): 560-74.

15-Consensus report of the Working Group on: Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease. The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group. *Neurobiol Aging* 1998; 19: 109-16.

16-Nordlund A, Rolstad S, Klang O, Edman A, Hansen S, Wallin A. Two-year outcome of MCI subtypes and aetiologies in the Göteborg MCI study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010; 81: 541-46.

17-Fischer P, Jungwirth S, Zehetmayer S, Weissgram S, Hoenigschnabl S, Gelpi E, et al. Conversion from subtypes of mild cognitive impairment to Alzheimer dementia. *Neurology* 2007; 68: 288-91.

18-Desikan RS, Cabral HJ, Hess CP, Dillon WP, Glastonbury CM, Weiner MW, et al. Automated MRI measures identify individuals with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Brain* 2009; 132: 2048-57.

19-Fennema-Notestine C, Hagler DJ, McEvoy LK, Fleisher AS, Wu EH, Karow DS, et al. Structural MRI Biomarkers for Preclinical and Mild Alzheimer's Disease. *Hum Brain Mapp* 2009; 30: 3238-53.

20-Chou Y, Laporé N, Avedissian C, Madsen SK, Parikshak N, Hua X, et al. Mapping correlations between ventricular expansion and CSF amyloid and tau biomarkers in 240 subjects with Alzheimer's disease, mild cognitive impairment and elderly controls. *Neuroimage* 2009; 46: 394-410

21-Evans MC, Barnes J, Nielsen C, Kim LG, Clegg SL, Blair M. Volume changes in Alzheimer disease and mild cognitive impairment: cognitive associations. *Eur Radiol* 2010; 20: 674-82.

22-Holland D, Brewer JB, Hagler DJ, Fenema-Notestine C, Dale AM; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Subregional neuroanatomical change as a biomarker for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106(49): 20954-9

- 23-Schuff N, Woerner N, Boreta L, Kornfield T, Shaw LM, Trojanowsky JQ. MRI of hippocampal volume loss in early Alzheimer's disease in relation to ApoE genotype and biomarkers. *Brain* 2009; 132: 1067-77.
- 24-Leow AD, Yanovsky I, Parikshak N, Hua X, Lee S, Toga AW. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative: A one-year follow-up study using tensor-based morphometry correlating degenerative rates, biomarkers and cognition. *Neuroimage* 2009; 45: 645-55.
- 25-Misra C, Fan Y, Davatzikos C. Baseline and longitudinal patterns of brain atrophy in MCI patients, and their use in prediction of short-term conversion to AD: Results from ADNI. *Neuroimage* 2009; 44: 1415-22.
- 26-Risacher SL, Saykin AJ, West JD, Shen L, Firpi HA, McDonald BC. Baseline MRI Predictors of Conversion from MCI to Probable AD in the ADNI Cohort. *Curr Alzheimer Res* 2009; 6: 347-61.
- 27-Bakkour A, Morris JC, Dickerson BC. The cortical signature of prodromal AD: Regional thinning predicts mild AD dementia. *Neurology* 2009; 72: 1048-55.
- 28-den Heijer T, van der Lijn F, Koudstaal PJ, Hofman A, van der Lugt A, Krestin GP, et al. A 10-year follow-up of hippocampal volume on magnetic resonance imaging in early dementia and cognitive decline. *Brain* 2010; 133:1163-72.
- 29-Jessen F, Gür O, Block W, Ende G, Frölich L, Hammen T. A multicenter ¹H-MRS study of the medial temporal lobe in AD and MCI. *Neurology* 2009; 72: 1735-40.
- 30-Haris M, McArdle E, Fenty M, Singh A, Davatzikos C, Trojanowsky JQ, et al. Early Marker for Alzheimer's Disease: Hippocampus T1rho (T1p) Estimation. *J Magn Reson Imaging* 2009; 29: 1008-12.
- 31-Petersen RC, Aisen PS, Beckett LA, Donohue MC, Gamst AC, Harvey DJ, et al. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI): clinical characterization. *Neurology* 2010; 74: 201-9.
- 32- Mattson N, Zetterberg H, Hansson O, Andreasen N, Parnetti L, Jonsson M, et al. CSF Biomarkers and Incipient Alzheimer Disease in Patients With Mild Cognitive Impairment. *JAMA* 2009; 302 (4): 385-393.

- 33-Shaw LM, Vanderstichele H, Knapik-Czajka M, Clark CM, Aisen PS, Petersen RC, et al. Cerebrospinal Fluid Biomarker Signature in Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative Subjects. *Ann Neurol* 2009; 65: 403-13.
- 34- Visser PJ, Verhey F, Knol DL, Scheltens P, Wahlund LO, Freund-Levy Y, et al. Prevalence and prognostic value of CSF markers of Alzheimer's disease pathology in patients with subjective cognitive impairment or mild cognitive impairment in the DESCRIPA study: a prospective cohort study. *Lancet Neurol* 2009; 8: 619-27.
- 35-Brys M, Pirraglia E, Rich K, Rolstad S, Mosconi L, Switalski R, et al. Prediction and longitudinal study of CSF biomarkers in mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging* 2009; 30: 682-90.
- 36-Zetterberg H, Pedersen M, Lind K, Svensson M, Rolstad S, Eckerström C, et al. Intra-Individual Stability of CSF Biomarkers for Alzheimer's Disease over Two Years. *J Alzheimers Dis* 2007; 12: 255-60.
- 37- De Meyer G, Shapiro F, Vanderstichele H, Vanmechelen E, Engelborghs S, De Deyn PP, et al. Diagnosis-Independent Alzheimer Disease Biomarker Signature in Cognitively Normal Elderly People. *Arch Neurol* 2010; 67(8): 949-56.
- 38-Schneider LS, Kennedy RE, Cutter GR; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Requiring an amyloid- β_{1-42} biomarker for prodromal Alzheimer's disease or mild cognitive impairment does not lead to more efficient clinical trials. *Alzheimers demt* 2010; 6: 367-77.
- 39-Lewczuk P, Kornhuber J, Vanderstichele H, Vanmechelen E, Esselmann H, Bibl M, et al. Multiplexed quantification of dementia biomarkers in the CSF of patients with early dementias and MCI: A multicenter study. *Neurobiol Aging* 2008; 29: 812-18.
- 40-Brandt C, Bahl JC, Heegaard NHH, Waldemar G, Johannsen P. Usability of Cerebrospinal Fluid Biomarkers in a Tertiary Memory Clinic. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2008; 25: 553-8.
- 41-Zetterberg H, Andreasson U, Hansson O, Wu G, Sankaranarayanan S, Andersson ME, et al. Elevated Cerebrospinal BACE1 Activity in Incipient Alzheimer Disease. *Arch Neurol* 2008; 65(8): 1102-7.

- 42-Höglund K, Hansson O, Buchhave P, Zetterberg H, Lewczuk P, Londos E, et al. Prediction of Alzheimer's Disease Using a Cerebrospinal Fluid Pattern of C-Terminally Truncated β -Amyloid Peptides. *Neurodegenerative Dis* 2008; 5: 268-76.
- 43-Hu WT, Chen-Plotkin A, Arnold SE, Grossman M, Clark CM, Shaw LM, et al. Novel CSF biomarkers for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Acta Neuropathol* 2010; 119: 669-78.
- 44- Lovell MA, Lynn BC, Xiong S, Quinn JF, Kaye J, Markesbery WR. An aberrant protein complex in CSF as a biomarker of Alzheimer disease. *Neurology* 2008; 70: 2212-18.
- 45-Langbaum JBS, Chen K, Lee W, Reschke C, Bandy D, Fleisher AS, et al. Categorical and correlational analysis of baseline fluorodeoxyglucose positron emission tomography images from the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI). *Neuroimage* 2009; 45: 1107-16.
- 46-Shin J, Lee SY, Kim SJ, Kim SH, Cho SJ, Kim YB. Voxel-based analysis of Alzheimer's disease PET imaging using a triplet of radiotracers: PIB, FDDNP, and FDG. *Neuroimage* 2010; 52: 488-96.
- 47-Chen K, Langbaum JBS, Fleisher AS, Ayutyanont N, Reschke C, Lee W, et al. Twelve-month metabolic declines in probable Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment assessed using an empirically pre-defined statistical region-of-interest: Findings from the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. *Neuroimage* 2010; 51: 654-64.
- 48-Forsberg A, Engler H, Almkvist O, Blomquist G, Hagman G, Wall A, et al. PET imaging of amyloid deposition in patients with mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging* 2008; 29: 1456-65.
- 49- Foster NL, Heidebrink JL, Clark CM, Jagust WJ, Arnold SE, Barbas NR, et al. FDG-PET improves accuracy in distinguishing frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *Brain* 2007; 130: 2616-35.
- 50-Okello A, Koivunen J, Edison P, Archer HA, Turkheimer FE, Nägren K, et al. Conversion of amyloid positive and negative MCI to AD over 3 years: An ^{11}C -PIB PET study. *Neurology* 2009; 73: 754-60.
- 51-Koivunen J, Pirttilä T, Kemppainen N, Aalto S, Herukka SK, Jauhianen AM, et al. PET Amyloid Ligand [^{11}C] PIB Uptake and Cerebrospinal Fluid β -Amyloid in Mild Cognitive Impairment. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2008; 26: 378-383.

- 52-Resnick SM, Sojkova J, Zhou Y, An Y, Ye W, Holt DP, et al. Longitudinal cognitive decline is associated with fibrillar amyloid-beta measured by [¹¹C] PiB. *Neurology* 2010; 74: 807-15.
- 53- Tolboom N, van der Flier WM, Boverhoff J, Yaqub M, Wattjes MP, Raijmakers PG, et al. Molecular imaging in the diagnosis of Alzheimer's disease: visual assessment of [¹¹C] PIB and [¹⁸F] FDDNP PET images. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010; 81: 882-884.
- 54- Caffarra P, Ghetti C, Concari L, Venneri A. Differential patterns of hypoperfusion in subtypes of mild cognitive impairment. *Open Neuroimag J* 2008;2:20-8.
- 55- Nobili F, De Carli F, Frisoni GB, Portet F, Verhey F, Rodriguez G, et al. SPECT predictors of cognitive decline and Alzheimer's disease in mild cognitive impairment.. *J Alzheimers Dis* 2009;17: 761-72.
- 56- Habert MO, Horn JF, Sarazin M, Lotterie JA, Puel M, Onen F, et al. Brain perfusion SPECT with an automated quantitative tool can identify prodromal Alzheimer's disease among patients with mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging* 2011; 32:15-23.
- 57-Hansson O, Buchhave P, Zetterberg H, Blennow K, Minthon L, Warkentin S. Combined rCBF and CSF biomarkers predict progression from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2009; 30: 165-73.
- 58-Devanand DP, Van Heertum RL, Kegeles LS, Liu X, Jin ZH, Pradhaban G, et al. ^{99m}Tc Hexamethyl-Propylene-Aminoxime Single-Photon Emission Computed Tomography Prediction of Conversion From Mild Cognitive Impairment to Alzheimer Disease. *Am J Geriatric Psychiatry* 2010; 18: 959-72.
- 59-O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, Reisch J, Doody R, Fairchild T, et al. A Serum Protein-Based Algorithm for the Detection of Alzheimer Disease. *Arch Neurol* 2010; 67: 1077-81.
- 60-Lewczuk P, Kornhuber J, Vanmechelen E, Peters O, Heuser I, Maier W, et al. Amyloid β peptides in plasma in early diagnosis of Alzheimer's disease: A multicenter study with multiplexing. *Exp Neurol* 2010; 223: 366-70.
- 61- Seppälä TT, Herukka SK, Hänninen T, Tervo S, Hallikainen M, Soininen H, et al. Plasma A β 42 and A β 40 as markers of cognitive change in follow-up: a prospective, longitudinal, population-based cohort study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010; 81: 1123-27.

- 62- Hansson O, Zetterberg H, Vanmechelen E, Vanderstichele H, Andreasson U, Londos E, et al. Evaluation of plasma A β_{40} and A β_{42} as predictors of conversion to Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging* 2010; 31: 357-67.
- 63-Lopez OL, Kuller LH, Mehta PD, Becker JT, Gach HM, Sweet RH, et al. Plasma amyloid levels and the risk of AD in normal subjects in the Cardiovascular Health Study. *Neurology* 2008; 70: 1664-71.
- 64-Ray S, Britschgi M, Herbert C, Takeda-Uchimura Y, Boxer A, Blennow K, et al. Classification and prediction of clinical Alzheimer's diagnosis based on plasma signaling proteins. *Nat Med* 2007; 13: 1359-62.
- 65-Lee KS, Chung JH, Lee KH, Shin MJ, Oh BH, Hong CH. Bioplex analysis of plasma cytokines in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Immunol Lett* 2008; 121: 105-9.
- 66-Buchhave P, Janciauskiene S, Zetterberg H, Blennow K, Minthon L, Hansson O. Elevated plasma levels of soluble CD40 in incipient Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 2009; 450: 56-9.
- 67-Verwey NA, Schuitmaker A, van der Flier W, Mulder SD, Mulder C, Hack CE, et al. Serum Amyloid P Component as a Biomarker in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2008; 26: 522-27.
- 68-Zenzmaier C, Marksteiner J, Kiefer A, Berger P, Humpel C. Dkk-3 is elevated in CSF and plasma of Alzheimer's disease patients. *J Neurochem* 2009;110: 653-61.
- 69-Menendez-Gonzalez M, Castro-Santos P, Calatayud MT, Perez-Piñera P, Ribacoba R, Martinez-Rivera M, et al. Plasmatic level of neurosin predicts outcome of mild cognitive impairment. *Int Arch Med*. 2008 ;1:11.
- 70-Gatta L, Cardinale A, Wannenes F, Consoli C, Armani A, Molinari F, et al. Peripheral blood mononuclear cells from mild cognitive impairment patients show deregulation of Bax and Sod 1 mRNAs. *Neurosci Lett*. 2009;453: 36-40.
- 71-Walhovd KB, Fjell AM, Brewer J, McEvoy LK, Fennema-Notestine C, Hagler DJ Jr, et al. Combining MRI Imaging, Positron-Emission Tomography, and CSF Biomarkers in the Diagnosis and Prognosis of Alzheimer Disease. *AJNR Am J Neuroradiol* 2010;3: 347-54.

- 72-Vemuri P, Wiste HJ, Weigand SD, Shaw LM, Trojanowski JQ, Weiner MW, et al. MRI and CSF biomarkers in normal, MCI, and AD subjects: Diagnostic discrimination and cognitive correlations. *Neurology* 2009; 73: 287-93.
- 73-Frisoni GB, Prestia A, Zanetti O, Galluzi S, Romano M, Cotelli M, et al. Markers of Alzheimer's disease in a population attending a memory clinic. *Alzheimers Dement* 2009; 5: 307-17.
- 74- Vemuri P, Wiste HJ, Weigand SD, Shaw LM, Trojanowski JQ, Weiner MW, et al. MRI and CSF biomarkers in normal, MCI, and AD subjects: Predicting future clinical change. *Neurology* 2009; 73: 294-301.
- 75-Fjell AM, Walhovd KB, Fennema-Notestine C, McEvoy LK, Hagler DJ, Holland D, et al. CSF Biomarkers in Prediction of Cerebral and Clinical Change in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. *J Neurosci.* 2010; 30: 2088-101.
- 76-Landau SM, Harvey D, Madison CM, Reiman EM, Foster NL, Aisen PS, et al. Comparing predictors of conversion and decline in mild cognitive impairment. *Neurology* 2010; 75: 230-8.
- 77-Jack CR Jr, Wiste HJ, Vemuri P, Weigand SD, Senjem ML, Zeng G, et al. Brain beta-amyloid measures and magnetic resonance imaging atrophy both predict time-to-progression from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *Brain* 2010; 133: 3336-48.
- 78-de Jager CA, Honey TE, Birks J, Wilcock GK. Retrospective evaluation of revised criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease using a cohort with post-mortem diagnosis. *Int J Geriatr Psychiatry* 2010; 25: 988-97.
- 79-Oksengard AR, Cavallin L, Axelsson R, Andersson C, Nägga K, Winblad B, et al. Lack of Accuracy for the Proposed 'Dubois Criteria' in Alzheimer's Disease: A Validation Study from the Swedish Brain Power Initiative. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2010; 30: 374-80.
- 80-Black R, Greenberg B, Ryan JM, Posner H, Seeburger J, Amatniek J, et al. Scales as outcome measures for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2009; 5: 324-339.
- 81- Blennow K, Zetterberg H. Is it time for biomarker-based diagnostic criteria for prodromal Alzheimer's Disease? *Alzheimers Res Ther* 2010; 2: 8.
- 82-Britschgi M, Wyss-Coray T. Blood Protein Signature for the Early Diagnosis of Alzheimer Disease. *Arch Neurol* 2009; 66:161-65.

Tabela 1: Sensibilidade (S), especificidade (E) e área abaixo da curva (AUC) de biomarcadores de doença de Alzheimer (DA) no líquido céfalo-raquidiano em diferentes estudos.

Estudo	Grupo comparado	Biomarcador: Corte (pg/ml)	S (%)	E (%)	AUC
Mattson (2009) (32)	DCLp* vs DCLe†	$A\beta_{1-42}\ddagger$: 482	79	65	0,78
		t-tau§ : 320	86	56	0,79
		p-tau : 52¶	84	47	0,76
		Combinação $A\beta_{1-42}$ /p-tau e t-tau	83	72	
	DCLp vs demências:	Combinação $A\beta_{1-42}$ /p-tau e t-tau			
	- vascular,			71	
	- corpos de Lewy			57	
	- frontotemporal.			86	
Shaw (2009) (33)	DA (autópsia) vs controlos	$A\beta_{1-42}$: 192	96,4	76,9	0,913
		t-tau : 93	69,6	92,3	0,831
		p-tau : 23	67,9	73,1	0,753
		t-tau/ $A\beta_{1-42}$: 0,39	85,7	84,6	0,917
		p-tau/ $A\beta_{1-42}$: 0,10	91,1	71,2	0,856
		LR_{TAA}^{**} : 0,34	98,2	79,5	0,942
Brys (2009) (35)	DCLp vs DCLe	p-tau : 21,84	82	80	
		t-tau/ $A\beta_{1-42/40}\ddagger\ddagger$: 4970	82	74	
		p-tau/ $A\beta_{42/40}$: 231,5	82	72	
		t-tau : 414,5	82	70	
		$A\beta_{1-42}/A\beta_{1-40}\ddagger\ddagger$: 0,093	82	63	
		Isoprostano : 30,5	82	61	
De Meyer (2010) (37)	Detecção de DA (autópsia)	$A\beta_{1-42}$: 188	93		
		Combinação $A\beta_{1-42}$ /p-tau	94		
	Detecção DCLp	$A\beta_{1-42}$: 188	100		
		Combinação $A\beta_{1-42}$ /p-tau	100		

Tabela 1 (Continuação)

Estudo	Grupo comparado	Biomarcador: Corte (pg/ml)	S (%)	E (%)	AUC
Lewczuk (2008) (39)	DA vs demência não- Alzheimer	$A\beta_{1-42}$: 197,7 p-tau : 47,9 t-tau : 86,0	75,5 77,4 66,0	60,0 73,3 80,0	
Brandt (2008) (40)	DA (clínica) vs: - Depressão	$A\beta_{1-42}$: 400 t-tau : 51 a 70 anos- 450 ; >70 anos- 530 p-tau : 80 2 de 3 anormais 3 de 3 anormais	66 52 33 42 27	88 100 100 100 100	
	- Defeito cognitivo ligeiro	$A\beta_{1-42}$ t-tau p-tau 2 de 3 anormais 3 de 3 anormais	66 52 33 42 27	50 69 75 69 94	
	- Outros diagnósticos (demências: vascular, Corpos de Lewy, frontotemporal; outros)	$A\beta_{1-42}$ t-tau p-tau 2 de 3 anormais 3 de 3 anormais	66 52 33 42 27	62 91 95 92 100	

* Indivíduos com defeito cognitivo ligeiro que progrediram para DA durante o período de seguimento.

† Indivíduos com defeito cognitivo ligeiro que permaneceram estáveis ao longo do período de seguimento.

‡ Peptídeo amiloide β 1 a 42.

§ Proteína tau total.

|| Proteína tau fosforilada.

¶ Neste estudo os valores de corte apresentam-se em ng/L.

** Modelo de regressão logística que engloba as variáveis $A\beta_{1-42}$, t-tau e número de alelos $\epsilon 4$ da apolipoproteína E.

†† Razão entre os peptídeos amilóide β 1 a 42 e amilóide β 1 a 40.

‡‡ Peptídeo amilóide β 1 a 40.

Tabela 2: Predição da conversão do Defeito Cognitivo Ligeiro (DCL) para doença de Alzheimer (DA) usando Tomografia Computorizada de Emissão de Fotões (SPECT).

Estudo	Amostra	Resultados	Sensibilidade, especificidade, AUC*	Comentários
Caffarra (2008) (54)	-19 DCL amnésico -16 DCL com disfunção executiva -25 DCL múltiplos domínios -15 controlos -1 ano de seguimento na subamostra	- DCL amnésico: FSC† diminuído nas regiões frontal e temporal medial. - DCL múltiplos domínios: = DCL amnésico + perfusão diminuída cingulado posterior esquerdo.	Não fornecido	Na subamostra não se verificaram diferenças entre DCL estável e DCL conversores para DA.
Nobili (2009) (55)	- DCL: 12 conversores, 19 que declinaram, 43 estáveis. - 2 anos de seguimento	Redução do fluxo hipocâmpico foi o melhor preditor; parietal também significativo.	Hipocampo: 81 % sensibilidade e 86% especificidade.	Predição mais forte para DCLp‡ <i>versus</i> DCLe§ em comparação com os que declinaram <i>versus</i> os que não declinaram.
Habert (2009) (56)	-DCL: 11 conversores e 72 não conversores. -3 anos de seguimento.	Redução FSC parietal direito e hipocampo nos conversores.	Hipocampo e parietal: sensibilidade 82%, especificidade 90%.	Baixa taxa de conversão para DA.

Tabela 2 (Continuação)

Estudo	Amostra	Resultados	Sensibilidade, especificidade, AUC	Comentários
Hansson (2009) (57)	-DCL: 70 estáveis e 69 conversores. 33 controlos. - 4-6 anos de seguimento.	Redução FSC temporo-parietal nos conversores <i>versus</i> estáveis.	Biparietal: AUC 78,1% (superior a bitemporal).	FSC diminuído associado a progressão mais rápida para DA.
Devanand (2010) (58)	-127 DCL -59 controlos -1-9 anos de seguimento.	Fluxo diminuído nas regiões temporal e parietal previram conversão para DA (método quantitativo, dicotomização). Predição pode diminuir quando presentes outros fortes preditores.	Parietal e temporal medial: 75% e 81% sensibilidade, respectivamente; 55% de especificidade para ambos.	Análise visual da SPECT com utilidade limitada na predição da conversão de DCL para DA.

* área abaixo da curva.

† Fluxo sanguíneo cerebral

‡ Indivíduos com defeito cognitivo ligeiro que progrediram para DA durante o período de seguimento.

§ Indivíduos com defeito cognitivo ligeiro que permaneceram estáveis ao longo do período de seguimento.

Anexo: Normas de publicação da revista científica “Arquivos de Medicina”

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Escopo e política

Os ARQUIVOS DE MEDICINA publicam investigação original nas diferentes áreas da medicina, favorecendo a investigação de qualidade, particularmente a que descreva a realidade nacional.

Todos os manuscritos são avaliados por membros do corpo editorial e a publicação dos artigos de investigação original, casos clínicos ou séries de casos que forem considerados adequados fica dependente do parecer técnico de revisores externos. Os revisores podem propor, por escrito, alterações de conteúdo ou de forma ao(s) autor(es), condicionando a publicação do artigo à sua efectivação.

Será mencionada a avaliação por revisores externos no final dos artigos, quando aplicável.

Apesar dos editores e dos revisores desenvolverem os esforços necessários para assegurar a qualidade técnica e científica dos manuscritos publicados, a responsabilidade final do conteúdo das publicações é dos autores.

Todos os artigos publicados passam a ser propriedade dos ARQUIVOS DE MEDICINA. Uma vez aceites, os manuscritos não podem ser publicados numa forma semelhante noutros locais, em nenhuma língua, sem o consentimento dos ARQUIVOS DE MEDICINA.

Apenas serão avaliados manuscritos contendo material original que não estejam ainda publicados, na íntegra ou em parte (incluindo tabelas e figuras), e que não estejam a ser submetidos para publicação noutros locais. Esta restrição não se aplica a notas de imprensa ou a resumos publicados no âmbito de reuniões científicas. Quando existem publicações semelhantes à que é submetida ou quando existirem dúvidas relativamente ao cumprimento dos critérios acima mencionados estas devem ser anexadas ao manuscrito em submissão.

Antes de submeter um manuscrito aos ARQUIVOS DE MEDICINA os autores têm que assegurar todas as autorizações necessárias para a publicação do material submetido.

De acordo com uma avaliação efectuada sobre o material apresentado à revista os editores dos ARQUIVOS DE MEDICINA prevêm publicar aproximadamente 30% dos manuscritos submetidos, sendo que cerca de 25% serão provavelmente rejeitados pelos editores no primeiro mês após a recepção sem avaliação externa.

Forma e preparação de manuscritos

TIPOLOGIA DOS ARTIGOS PUBLICADOS NOS ARQUIVOS DE MEDICINA

Artigos de investigação original

Resultados de investigação original, qualitativa ou quantitativa.

O texto deve ser limitado a 2000 palavras, excluindo referências e tabelas, e organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 4 tabelas e/ou figuras (total).

Todos os artigos de investigação original devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

Publicações breves

Resultados preliminares ou achados novos podem ser objecto de publicações breves.

O texto deve ser limitado a 1000 palavras, excluindo referências e tabelas, e organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total) e até 10 referências.

As publicações breves devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

Artigos de revisão

Artigos de revisão sobre temas das diferentes áreas da medicina e dirigidos aos profissionais de saúde, particularmente com impacto na sua prática.

Os ARQUIVOS DE MEDICINA publicam essencialmente artigos de revisão solicitados pelos editores. Contudo, também serão avaliados artigos de revisão submetidos sem solicitação prévia, preferencialmente revisões quantitativas (Meta-análise).

O texto deve ser limitado a 5000 palavras, excluindo referências e tabelas, e apresentar um máximo de 5 tabelas e/ou figuras (total). As revisões quantitativas devem ser organizadas em introdução, métodos, resultados e discussão.

As revisões devem apresentar resumos não estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada, devendo ser estruturados no caso das revisões quantitativas.

Comentários

Comentários, ensaios, análises críticas ou declarações de posição acerca de tópicos de interesse na área da saúde, designadamente políticas de saúde e educação médica.

O texto deve ser limitado a 900 palavras, excluindo referências e tabelas, e incluir no máximo uma tabela ou figura.

Os comentários não devem apresentar resumos.

Casos clínicos

Os ARQUIVOS DE MEDICINA transcrevem casos publicamente apresentados trimestralmente pelos médicos do Hospital de S. João numa selecção acordada com o corpo editorial da revista. No entanto é bem vinda a descrição de casos clínicos verdadeiramente exemplares, profundamente estudados e discutidos. O texto deve ser limitado a 1200 palavras, excluindo referências e tabelas, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total).

Os casos clínicos devem apresentar resumos não estruturados em português e em inglês, com um máximo de 120 palavras cada.

Séries de casos

Descrições de séries de casos, tanto numa perspectiva de tratamento estatístico como de reflexão sobre uma experiência particular de diagnóstico, tratamento ou prognóstico.

O texto deve ser limitado a 1200 palavras, excluindo referências e tabelas, organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total).

As séries de casos devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

Cartas ao editor

Comentários sucintos a artigos publicados nos ARQUIVOS DE MEDICINA ou relatando de forma muito objectiva os resultados de observação clínica ou investigação original que não justifiquem um tratamento mais elaborado.

O texto deve ser limitado a 400 palavras, excluindo referências e tabelas, e incluir no máximo uma tabela ou figura e até 5 referências.

As cartas ao editor não devem apresentar resumos.

Revisões de livros ou software

Revisões críticas de livros, software ou sítios da internet.

O texto deve ser limitado a 600 palavras, sem tabelas nem figuras, com um máximo de 3 referências, incluindo a do objecto da revisão.

As revisões de livros ou software não devem apresentar resumos.

FORMATAÇÃO DOS MANUSCRITOS

A formatação dos artigos submetidos para publicação nos ARQUIVOS DE MEDICINA deve seguir os “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals”.

Todo o manuscrito, incluindo referências, tabelas e legendas de figuras, deve ser redigido a dois espaços, com letra a 11 pontos, e justificado à esquerda.

Aconselha-se a utilização das letras Times, Times New Roman, Courier, Helvetica, Arial, e Symbol para caracteres especiais.

Devem ser numeradas todas as páginas, incluindo a página do título.

Devem ser apresentadas margens com 2,5 cm em todo o manuscrito.

Devem ser inseridas quebras de página entre cada secção.

Não devem ser inseridos cabeçalhos nem rodapés.

Deve ser evitada a utilização não técnica de termos estatísticos como aleatório, normal, significativo, correlação e amostra.

Apenas será efectuada a reprodução de citações, tabelas ou ilustrações de fontes sujeitas a direitos de autor com citação completa da fonte e com autorizações do detentor dos direitos de autor.

Unidades de medida

Devem ser utilizadas as unidades de medida do Sistema Internacional (SI), mas os editores podem solicitar a apresentação de outras unidades não pertencentes ao SI.

Abreviaturas

Devem ser evitados acrónimos e abreviaturas, especialmente no título e nos resumos. Quando for necessária a sua utilização devem ser definidos na primeira vez que são mencionados no texto e também nos resumos e em cada tabela e figura, excepto no caso das unidades de medida.

Nomes de medicamentos

Deve ser utilizada a Designação Comum Internacional (DCI) de fármacos em vez de nomes comerciais de medicamentos. Quando forem utilizadas marcas registadas na investigação, pode ser mencionado o nome do medicamento e o nome do laboratório entre parêntesis.

Página do título

Na primeira página do manuscrito deve constar:

- 1) o título (conciso e descritivo);
- 2) um título abreviado (com um máximo de 40 caracteres, incluindo espaços);
- 3) os nomes dos autores, incluindo o primeiro nome (não incluir graus académicos ou títulos honoríficos);
- 4) a filiação institucional de cada autor no momento em que o trabalho foi realizado;
- 5) o nome e contactos do autor que deverá receber a correspondência, incluindo endereço, telefone, fax e e-mail;
- 6) os agradecimentos, incluindo fontes de financiamento, bolsas de estudo e colaboradores que não cumpram critérios para autoria;
- 7) contagens de palavras separadamente para cada um dos resumos e para o texto principal (não incluindo referências, tabelas ou figuras)

Autoria

Como referido nos “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals.”, a autoria requer uma contribuição substancial para:

- 1) concepção e desenho do estudo, ou obtenção dos dados, ou análise e interpretação dos dados;
- 2) redacção do manuscrito ou revisão crítica do seu conteúdo intelectual.
- 3) aprovação final da versão submetida para publicação.

A obtenção de financiamento, a recolha de dados ou a supervisão geral do grupo de trabalho, por si só, não justificam autoria.

É necessário especificar na carta de apresentação o contributo de cada autor para o trabalho. Esta informação será publicada.

Exemplo: José Silva concebeu o estudo e supervisionou todos os aspectos da sua implementação. António Silva colaborou na concepção do estudo e efectuou a análise dos dados. Manuel Silva efectuou a recolha de dados e colaborou na sua análise. Todos os autores contribuíram para a interpretação dos resultados e revisão dos rascunhos do manuscrito.

Nos manuscritos assinados por mais de 6 autores (3 autores no caso das cartas ao editor), tem que ser explicitada a razão de uma autoria tão alargada.

É necessária a aprovação de todos os autores, por escrito, de quaisquer modificações da autoria do artigo após a sua submissão.

Agradecimentos

Devem ser mencionados na secção de agradecimentos os colaboradores que contribuíram substancialmente para o trabalho mas que não cumpram os critérios para autoria, especificando o seu contributo, bem como as fontes de financiamento, incluindo bolsas de estudo.

Resumos

Os resumos de artigos de investigação original, publicações breves, revisões quantitativas e séries de casos devem ser estruturados (introdução, métodos, resultados e conclusões) e apresentar conteúdo semelhante ao do manuscrito.

Os resumos de manuscritos não estruturados (revisões não quantitativas e casos clínicos) também não devem ser estruturados.

Nos resumos não devem ser utilizadas referências e as abreviaturas devem ser limitadas ao mínimo.

Palavras-chave

Devem ser indicadas até seis palavras-chave, em português e em inglês, nas páginas dos resumos, preferencialmente em concordância com o Medical Subject Headings (MeSH) utilizado no Index Medicus. Nos manuscritos que não apresentam resumos as palavras-chave devem ser apresentadas no final do manuscrito.

Introdução

Deve mencionar os objectivos do trabalho e a justificação para a sua realização.

Nesta secção apenas devem ser efectuadas as referências indispensáveis para justificar os objectivos do estudo.

Métodos

Nesta secção devem descrever-se:

- 1) a amostra em estudo;
- 2) a localização do estudo no tempo e no espaço;
- 3) os métodos de recolha de dados;
- 4) análise dos dados.

As considerações éticas devem ser efectuadas no final desta secção.

Análise dos dados

Os métodos estatísticos devem ser descritos com o detalhe suficiente para que possa ser possível reproduzir os resultados apresentados.

Sempre que possível deve ser quantificada a imprecisão das estimativas apresentadas, designadamente através da apresentação de intervalos de confiança. Deve evitar-se uma utilização excessiva de testes de hipóteses, com o uso de valores de P, que não fornecem informação quantitativa importante.

Deve ser mencionado o software utilizado na análise dos dados.

Considerações éticas e consentimento informado

Os autores devem assegurar que todas as investigações envolvendo seres humanos foram aprovadas por comissões de ética das instituições em que a investigação tenha sido desenvolvida, de acordo com a Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial (www.wma.net).

Na secção de métodos do manuscrito deve ser mencionada esta aprovação e a obtenção de consentimento informado, quando aplicável.

Resultados

Os resultados devem ser apresentados, no texto, tabelas e figuras, seguindo uma sequência lógica.

Não deve ser fornecida informação em duplicado no texto e nas tabelas ou figuras, bastando descrever a principais observações referidas nas tabelas ou figuras.

Independentemente da limitação do número de figuras propostos para cada tipo de artigo, só devem ser apresentados gráficos quando da sua utilização resultarem claros benefícios para a compreensão dos resultados.

Apresentação de dados numéricos

A precisão numérica utilizada na apresentação dos resultados não deve ser superior à permitida pelos instrumentos de avaliação.

Para variáveis quantitativas as medidas apresentadas não deverão ter mais do que uma casa decimal do que os dados brutos.

As proporções devem ser apresentadas com apenas uma casa decimal e no caso de amostras pequenas não devem ser apresentadas casas decimais.

Os valores de estatísticas teste, como t ou χ^2 , e os coeficientes de correlação devem ser apresentados com um máximo de duas casas decimais.

Os valores de P devem ser apresentados com um ou dois algarismos significativos e nunca na forma de P=NS, P<0,05 ou P>0,05, na medida em a informação contida no

valor de P pode ser importante. Nos casos em que o valor de P é muito pequeno (inferior a 0,0001), pode apresentar-se como $P < 0,0001$.

Tabelas e Figuras

As tabelas devem surgir após as referências. As figuras devem surgir após as tabelas.

Devem ser mencionadas no texto todas as tabelas e figuras, numeradas (numeração árabe separadamente para tabelas e figuras) de acordo com a ordem em que são discutidas no texto.

Cada tabela ou figura deve ser acompanhada de um título e notas explicativas (ex. definições de abreviaturas) de modo a serem compreendidas e interpretadas sem recurso ao texto do manuscrito.

Para as notas explicativas das tabelas ou figuras devem ser utilizados os seguintes símbolos, nesta mesma sequência:

*, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡

Cada tabela ou figura deve ser apresentada em páginas separadas, juntamente com o título e as notas explicativas.

Nas tabelas devem ser utilizadas apenas linhas horizontais.

As figuras, incluindo gráficos, mapas, ilustrações, fotografias ou outros materiais devem ser criadas em computador ou produzidas profissionalmente.

As figuras devem incluir legendas.

Os símbolos, setas ou letras devem contrastar com o fundo de fotografias ou ilustrações.

A dimensão das figuras é habitualmente reduzida à largura de uma coluna, pelo que as figuras e o texto que as acompanha devem ser facilmente legíveis após redução.

Na primeira submissão do manuscrito não devem ser enviados originais de fotografias, ilustrações ou outros materiais como películas de raios-X. As figuras, criadas em computador ou convertidas em formato electrónico após digitalização devem ser inseridas no ficheiro do manuscrito.

Uma vez que a impressão final será a preto e branco ou em tons de cinzento, os gráficos não deverão ter cores. Gráficos a três dimensões apenas serão aceites em situações excepcionais.

A resolução de imagens a preto e branco deve ser de pelo menos 1200 dpi e a de imagens com tons de cinzento ou a cores deve ser de pelo menos 300 dpi.

As legendas, símbolos, setas ou letras devem ser inseridas no ficheiro da imagem das fotografias ou ilustrações.

Os custos da publicação das figuras a cores serão suportados pelos autores.

Em caso de aceitação do manuscrito, serão solicitadas as figuras nos formatos mais adequados para a produção da revista.

Discussão

Na discussão não deve ser repetida detalhadamente a informação fornecida na secção dos resultados, mas devem ser discutidas as limitações do estudo, a relação dos resultados obtidos com o observado noutras investigações e devem ser evidenciados os aspectos inovadores do estudo e as conclusões que deles resultam.

É importante que as conclusões estejam de acordo com os objectivos do estudo, mas devem ser evitadas afirmações e conclusões que não sejam completamente apoiadas pelos resultados da investigação em causa.

Referências

As referências devem ser listadas após o texto principal, numeradas consecutivamente de acordo com a ordem da sua citação. Os números das referências devem ser apresentados entre parêntesis. Não deve ser utilizado software para numeração automática das referências.

Pode ser encontrada nos “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals” uma descrição pormenorizada do formato dos diferentes tipos de referências, de que se acrescentam alguns exemplos:

1. Artigo

- Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increase risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996;124:980-3.

2. Artigo com Organização como Autor

- The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing, safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996; 64:282-4.

3. Artigo publicado em Volume com Suplemento

- Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect* 1994; 102 Suppl 1:275-82.

4. Artigo publicado em Número com Suplemento

- Payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996;23 (1 Suppl 2):89-97.

5. Livro

- Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers;1996.

6. Livro (Editor(s) como Autor(es))

- Norman IJ, Redfern SJ, editores. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone;1996.

7. Livro (Organização como Autor e Editor)

- Institute of medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington: The Institute;1992.

8. Capítulo de Livro

- Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press;1995. p. 465-78.

9. Artigo em Formato Eletrônico

- Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis [serial online] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5]; 1 (1): [24 screens]. Disponível em: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

Devem ser utilizados os nomes abreviados das publicações, de acordo com o adotado pelo Index Medicus. Uma lista de publicações pode ser obtida em <http://www.nlm.nih.gov>.

Deve ser evitada a citação de resumos e comunicações pessoais.

Os autores devem verificar se todas as referências estão de acordo com os documentos originais.

Anexos

Material muito extenso para a publicação com o manuscrito, designadamente tabelas muito extensas ou instrumentos de recolha de dados, poderá ser solicitado aos autores para que seja fornecido a pedido dos interessados.

Conflitos de interesse

Os autores de qualquer manuscrito submetido devem revelar no momento da submissão a existência de conflitos de interesse ou declarar a sua inexistência.

Essa informação será mantida confidencial durante a revisão do manuscrito pelos avaliadores externos e não influenciará a decisão editorial mas será publicada se o artigo for aceite.

Autorizações

Antes de submeter um manuscrito aos ARQUIVOS DE MEDICINA os autores devem ter em sua posse os seguintes documentos que poderão ser solicitados pelo corpo editorial:

- consentimento informado de cada participante;
- consentimento informado de cada indivíduo presente em fotografias, mesmo quando forem efectuadas tentativas de ocultar a respectiva identidade;
- transferência de direitos de autor de imagens ou ilustrações;
- autorizações para utilização de material previamente publicado;
- autorizações dos colaboradores mencionados na secção de agradecimentos.

SUBMISSÃO DE MANUSCRITOS

Os manuscritos submetidos aos ARQUIVOS DE MEDICINA devem ser preparados de acordo com as recomendações acima indicadas e devem ser acompanhados de uma carta de apresentação.

Carta de apresentação

Deve incluir a seguinte informação:

- 1) Título completo do manuscrito;
- 2) Nomes dos autores com especificação do contributo de cada um para o manuscrito;
- 3) Justificação de um número elevado de autores, quando aplicável
- 4) Tipo de artigo, de acordo com a classificação dos ARQUIVOS DE MEDICINA;
- 5) Fontes de financiamento, incluindo bolsas;
- 6) Revelação de conflitos de interesse ou declaração da sua ausência;
- 7) Declaração de que o manuscrito não foi ainda publicado, na íntegra ou em parte, e que nenhuma versão do manuscrito está a ser avaliada por outra revista;
- 8) Declaração de que todos os autores aprovaram a versão do manuscrito que está a ser submetida;
- 9) Assinatura de todos os autores.

É dada preferência à submissão dos manuscritos por e-mail (secretaria@arquimed.org).

O manuscrito e a carta de apresentação devem, neste caso, ser enviados em ficheiros separados em formato word. Deve ser enviada por fax (225074379) uma cópia da carta de apresentação assinada por todos os autores.

Se não for possível efectuar a submissão por e-mail esta pode ser efectuada por correio para o seguinte endereço:

ARQUIVOS DE MEDICINA

Faculdade de Medicina do Porto

Alameda Prof. Hernâni Monteiro

4200 – 319 Porto, Portugal

Os manuscritos devem, então, ser submetidos em triplicado (1 original impresso apenas numa das páginas e 2 cópias com impressão frente e verso), acompanhados da carta de apresentação.

Os manuscritos rejeitados ou o material que os acompanha não serão devolvidos, excepto quando expressamente solicitado no momento da submissão.

CORRECÇÃO DOS MANUSCRITOS

A aceitação dos manuscritos relativamente aos quais forem solicitadas alterações fica condicionada à sua realização.

A versão corrigida do manuscrito deve ser enviada com as alterações sublinhadas para facilitar a sua verificação e deve ser acompanhada dum carta respondendo a cada um dos comentários efectuados.

Os manuscritos só poderão ser considerados aceites após confirmação das alterações solicitadas.

MANUSCRITOS ACEITES

Uma vez comunicada a aceitação dos manuscritos, deve ser enviada a sua versão final em ficheiro de Word ©, formatada de acordo com as instruções acima indicadas.

No momento da aceitação os autores serão informados acerca do formato em que devem ser enviadas as figuras.

A revisão das provas deve ser efectuada e aprovada por todos os autores dentro de três dias úteis. Nesta fase apenas se aceitam modificações que decorram da correcção de gralhas

Deve ser enviada uma declaração de transferência de direitos de autor para os ARQUIVOS DE MEDICINA, assinada por todos os autores, juntamente com as provas corrigidas.