SIMPAR
Simpósio de Pesquisa, Extensão e Inovação do Paraná
Realização
IN2 Instituto Integrado de Ciência e Tecnologia
Centro Universitário Integrado
Núcleo de Empreendedorismo, Pesquisa e Extensão Integrado
Apoio
Fundação Araucária
Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná

Identificação de novos biomarcadores para diagnóstico precoce de Doença de Alzheimer e Esclerose Lateral Amiotrófica: uma revisão sistemática

Emily Lima Antunes da Silva, Medicina, Centro Universitário Integrado, Brasil

Amanda Scherer Mattjie, Medicina, Centro Universitário Integrado, Brasil

Cristiane Rickli Barbosa, Medicina, Centro Universitário Integrado, Brasil, cristiane.barbosa@grupointegrado.br

As doenças neurodegenerativas são caracterizadas pela perda progressiva de neurônios, afetando diversos sistemas, entre elas, destaca-se a Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA), ocasionada pela morte de neurônios motores, e a Doença de Alzheimer (DA), causada pelo acúmulo de proteínas em regiões cerebrais. Ao pensar na possibilidade de descobrimento precoce destas doenças, bem como possibilitar um tratamento adequado, o presente trabalho, por meio de uma revisão sistemática, tem por objetivo analisar os avanços na detecção de biomarcadores e seus potenciais diagnósticos. Assim, para DA, a proteínas beta-amiloide e a proteína tau surgem com potenciais promissores, já para ELA, proteínas do fluido cerebroespinhal, sanguíneas, plasmáticas e TDP 43 são exemplos. Além disso, existem biomarcadores comuns para ambas as doenças, sendo diferenciados pelo local de aparição ou pela variância, sendo eles os neurofilamentos e os microRNAs. Desse modo, destaca-se sua importância promissora na medicina ao proporcionar uma promoção de saúde adequada e melhora na qualidade de vida para a população.

Palavras-chave: Biomarcadores. Doença de Alzheimer. Esclerose Lateral Amiotrófica. Diagnóstico precoce.

Neurodegenerative diseases are characterized by the progressive loss of neurons, affecting several systems, among other things, the loss of Lateral Amyotrophy (ALS), the occasional death of motor neurons, and the appearance of Alzheimer's Disease (AD), caused by the accumulation of proteins in them. When thinking about the possibility of early discovery of data, but as a possibility of adequate treatment, or presenting work, with the help of a systematic review, also with the purpose of analyzing advances in the detection of biomarkers and their diagnostic potential. Thus, for AD, a beta-amyloid protein and a deaf protein with promising potential, even for ALS, proteins from brain fluid, blood, plasma and TDP 43 are examples. Furthermore, there are common biomarkers for both diseases, being differentiated by place of intimacy or by variance, being neurofilaments and microRNAs. Therefore, it is important to promise that medicine will provide adequate health promotion and better quality of life for the population.

Keywords: Biomarkers. Alzheimer's disease. Amyotrophic Lateral Sclerosis. Early Diagnosis.

INTRODUÇÃO

As doenças neurodegenerativas são caracterizadas pela perda progressiva de neurônios, de modo que afetam diferentes sistemas neuronais. Entre as patologias mais relevantes encontradas na atualidade estão a Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) e a Doença de Alzheimer (DA). A ELA é uma doença degenerativa progressiva, caracterizada pela morte dos neurônios motores inferiores e superiores, o que leva a desenervação dos músculos e ocasiona na fraqueza muscular progressiva e atrofia (1). É considerada uma doença rara, sendo mais prevalente em pacientes entre 55 e 75 anos e possui prevalência de 5 casos por 100.000 pessoas anualmente, sendo grande parte dos casos esporádicos, com cerca de 10% familiares (2).

A DA é causada pelo acúmulo de proteínas em regiões específicas do cérebro, que formam placas e emaranhados, o que leva a efeitos secundários como: disfunção neuronal, morte neuronal e reações inflamatórias. A doença leva, ainda, ao comprometimento da memória, humor e do comportamento (1). É conhecida como a forma mais comum de demência neurodegenerativa em pessoas idosas, sendo responsável por mais da metade dos casos de demência (3). A estimativa é que cerca de 50 milhões de pessoas vivem com a doença no mundo, número que tende a aumentar nos próximos anos em consequência do envelhecimento populacional (4).

À medida que a população idosa aumenta, o fardo associado às doenças neurodegenerativas aumenta também (5). Pensando na possibilidade de encurtar a jornada diagnóstica para melhorar os resultados terapêuticos e iniciar os tratamentos prontamente, é importante pensar em alternativas que viabilizem o rastreamento precoce destas doenças, dessa forma, os biomarcadores podem ser um importante meio para melhorar o diagnóstico precoce da ELA e DA, além de rastrear a progressão dessas doenças (6).

O conceito de “biomarcador”, derivado da fusão de “biológico” e “marcador”, abrange uma ampla gama de sinais médicos. Esses sinais fornecem evidências objetivas do estado de saúde de um paciente e podem ser quantificados de forma consistente e precisa. Isso é distinto dos sintomas médicos, que são sensações subjetivas ou queixas relatadas pelo paciente (7)

Um biomarcador é conhecido por ser um indício que fornece evidências objetivas da condição de saúde de um determinado indivíduo, podendo ser quantificado de forma consistente e precisa. Além de fornecer informações diagnósticas, também são utilizados no campo de inovação medicamentosa, assim, sua atuação não só abrange o ajuste de abordagens terapêuticas como também permite o cuidado e suporte adequado aos pacientes com doenças neurodegenerativas (6). Portanto, o objetivo desta revisão é analisar os avanços na identificação de novos biomarcadores, focados na DA e ELA, e avaliar seu potencial diagnóstico para detecção precoce.

MÉTODO

Trata-se de uma Revisão Sistemática da literatura realizada em 5 etapas: (a) elaboração da questão principal; (b) pesquisa bibliográfica; (c) análise dos artigos incluídos; (d) discussão dos resultados; (e) apresentação da revisão. A questão norteadora por trás deste estudo foi: "quais os avanços na identificação de novos biomarcadores, focados nas doenças de Alzheimer e Esclerose lateral amiotrófica, e seus potenciais para diagnóstico precoce?”, sendo elaborada a partir da recomendação do protocolo Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA), que seguiu a estratégia PICO (acrônimo para Patient, Intervention, Comparison e Outcome). Com esse método, consideramos: “P” como pessoas diagnosticadas com Doença de Alzheimer e Esclerose Lateral Amiotrófica; “I” como a utilização de biomarcadores para obter um diagnóstico precoce; “C” como as diferenças e semelhanças entre os tipos de

biomarcadores; e “O” como a efetividade de cada uma das técnica para a identificação.

Os artigos deverão, ainda, atender aos seguintes critérios de inclusão: (a) estudos publicados nos últimos 4 anos (2021 - 2024); (b) Disponibilizados na língua portuguesa ou inglesa; (c) que possuam pelo menos um dos descritores utilizados como palavras-chave. Optou-se, também, por não incluir artigos com desfechos insatisfatórios quanto à eficácia do biomarcador.

Processo seletivo

A busca foi realizada pelo motor de busca PubMed à base de dados eletrônicos Medline, em setembro de 2024, sendo que as referências que preencheram os critérios de inclusão foram avaliadas e selecionadas, independentemente do periódico, por dois autores. A seleção dos descritores utilizados no processo de revisão foi efetuada mediante consulta à plataforma Descritores em Ciências da Saúde (DeCs), sendo eles: "Biomarcador”, ”Diagnóstico precoce“, ”Alzheimer” e “Doença de Lou Gehrig”. Recorreu-se, também, ao cruzamento destes descritores com os operadores booleanos “AND” e “OR”, o que refletiu, portanto, no seguinte modelo de busca avançada: ("Biomarkers" [Title/Abstract]) AND ("Early Diagnosis" [Title/Abstract]) AND (("Alzheimer Disease" "Title/Abstract") OR ("Amyotrophic Lateral Sclerosis" [Title/Abstract])).

Em uma primeira etapa, os artigos foram selecionados com base nos títulos e resumos, em seguida, houve a leitura completa destes artigos, sendo desclassificados aqueles que não se adequam ao objetivo ou critérios de inclusão. Ao final, houve a comparação e análise dos artigos restantes.

REVISÃO DE LITERATURA

Resultados

Em uma fase inicial, 96 artigos foram encontrados, dos quais, após selecionar apenas os que atendiam os critérios de inclusão mencionados, restaram 50. Em seguida, prosseguiu-se para uma avaliação independente dos títulos e resumos, restando, assim, um saldo de 23 estudos elegíveis para a segunda etapa. Após isso, os artigos foram lidos na íntegra e ao final obteve-se 17 selecionados. Foram excluídos desta seleção dois artigos não encontrados e quatro que apresentaram um desfecho insatisfatório a respeito da capacidade do biomarcador em questão. Desse modo, para descrever o projeto de pesquisa, o Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) foi usado de maneira adaptada (Figura 1) e todos os trabalhos resultantes foram agrupados em uma tabela contendo título, autores, características dos participantes, intervenções e os principais resultados encontrados (tabela 1).

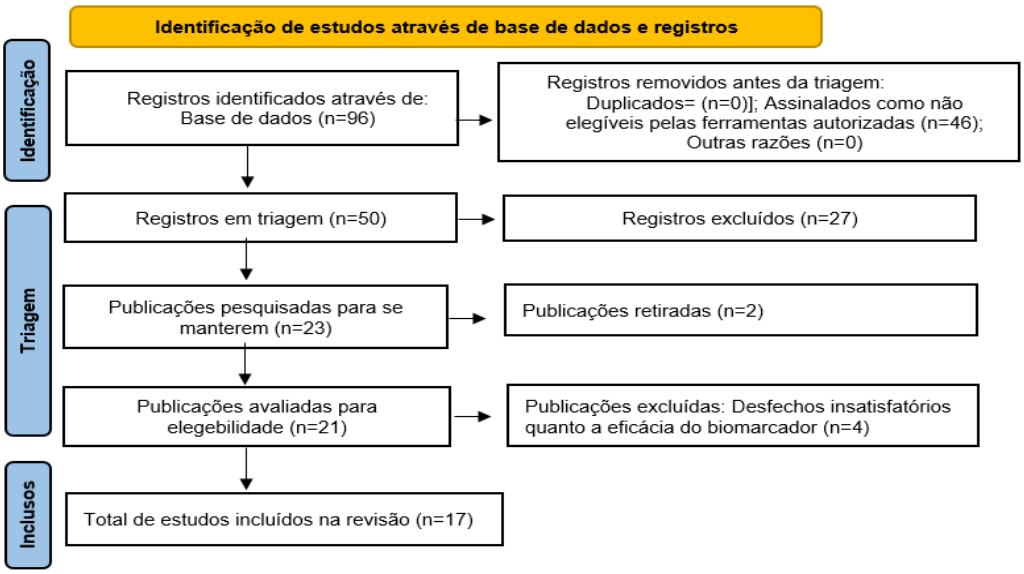

Figura 1: fluxograma PRISMA 2020 adaptado

Tabela 1: informações acerca dos artigos selecionados

Título	Autores	Ano	Características dos Participantes	Intervenções	Resultados Principais
Screening and identification of key biomarkers associated with amyotrophic lateral sclerosis and depression using bioinformatics	WANG, Z. et al.(8)	2023	Conjunto de dados GSE139384: 6 pacientes com ELA e 6 são controles; GSE35978: 27 pacientes com depressão e 27 controles normais; GSE87610: 72 pacientes com depressão e 72 controles normais	Coleta de dados do perfil de expressão gênica com base nas plataformas GPL10558, GPL6244 e GPL13667, respectivamente, do GEO	A bioinformática é viável para rastrear e identificar marcadores biológicos importantes relacionados com a Esclerose lateral amiotrófica e à depressão., sendo detectados seis genes centrais MRPS12, PARP1, SNRNP200, PCBP1, SGSM1 e DNMT1, além de 5 miRNAs.
Circulating proteomic biomarkers for diagnosing sporadic amyotrophic lateral sclerosis: a cross-sectional study	HE, L. et al. (9)	2024	Os participantes consistiram em dois grupos principais: um grupo incluiu 10 pacientes diagnosticados com esclerose lateral amiotrófica esporádica (ELA) e outro 5 controles saudáveis.	As intervenções envolveram procedimentos laboratoriais centrados na coleta e análise de amostras biológicas dos participantes.	Os resultados principais foram: a Identificação de Proteínas Diferencialmente Reguladas, O estudo de oito proteínas com níveis significativamente aumentados em pacientes com ELA em comparação com controles saudáveis. Entre elas, o peptídeo antimicrobiano relacionado à catelicidina foi destacado como tendo a melhor capacidade de discriminação entre pacientes e controles.
Salivary biomarkers of neurodegenerative and demyelinating diseases and biosensors for their detection	GOLDINI, R. et al. (10)	2022	Pacientes com Esclerose Lateral Amiotrófica, Doença de Alzheimer, Doença de Parkinson, Doença de Huntington e Esclerose Múltipla.	O estudo analisa diversos biomarcadores salivares que estão associados a doenças neurodegenerativas, como Alzheimer e esclerose múltipla, e discute seu potencial para diagnóstico e	A análise salivar demonstrou ser uma ferramenta promissora para detectar biomarcadores relacionados a DDNs e doenças desmielinizantes que estão associadas ao envelhecimento populacional.

				monitoramento.	
Studies of Genetic and Proteomic Risk Factors of Amyotrophic Lateral Sclerosis Inspire Biomarker Development and Gene Therapy	BAGYINSKYB, E., HULME, J., AN S.S.A. (6)	2023	Indivíduos com Esclerose Lateral Amiotrófica	O estudo explora o uso de uma tecnologia para tratar mutações genéticas específicas que causam ELA, como a mutação no gene	Vários proteômicos que incluem NFs, Tau, TDP43, e microRNAs podem desempenhar um papel no diagnóstico, prognóstico e previsão da doença.
In vivo diagnosis of TDP-43 proteinopathies: in search of biomarkers of clinical use	LÓPEZ-CARBONERO, J. I. et al. (11)	2024	Participaram do estudo pacientes com várias origens neurodegenerativas, incluindo pacientes com ELA, DFT, doença de Alzheimer e pacientes controle com capacidade cognitiva normal ao envelhecimento.	O estudo utiliza fluidos biológicos para fazer a identificação de biomarcadores, fazendo o reconhecimento de proteinopatias TDP-43 associadas as doenças neurodegenerativas como a esclerose lateral amiotrófica (ELA) e a demência frontotemporal (DFT).	Os biomarcadores se mostraram promissores ao apresentarem um potencial para diagnosticar precocemente e precisamente patologias relacionadas ao TDP-43, como a ELA e demência fototemporal.
Advancing amyotrophic lateral sclerosis disease diagnosis: A lab-on-chip electrochemical immunosensor for ultra-sensitive TDP-43 protein detection and monitoring in serum patients'	TURCO, A. et al . (12)	2024	O estudo envolveu 42 pacientes identificados com ELA, além do grupo controle.	criação de um biossensor eletroquímico, que é ultrassensível na detecção da proteína TDP-43 em amostras de soro dos participantes.	O biossensor eletroquímico desenvolvido se mostrou eficiente na detecção da proteína TDP-43 em amostras de soro, devido sua alta sensibilidade e especificidade, sugerindo portanto que ele pode ser uma ferramenta eficaz na identificação da proteína TDP-43
Diagnostic and Therapeutic Potential of Exosomal MicroRNAs for Neurodegenerative Diseases	HE, M. et al. (13)	2021	Os participantes incluem pacientes com doenças neurodegenerativas, além de participantes controles, para comparação dos perfis de microRNA	Utiliza técnicas para isolar exossomos a partir de amostras biológicas, como sangue e fluidos corporais, para análise do perfil de miRNAs que podem estar associados a doença.	miRNAs (incluindo miR-29b, miR-181c e miR-146a) foram observados desregulados nas coletas. A presença de miRNAs se torna uma forte evidência de seu uso como biomarcador pois possui correlação com as alterações clinicas .

Single-Cell RNA Sequencing Analysis of Microglia Dissected the Energy Metabolism and Revealed Potential Biomarkers in Amyotrophic Lateral Sclerosis	SHEN, D. et al. (14)	2024	Na análise foram utilizados 12 pacientes com ELA e 7 pacientes de controle .	Foca na análise genética de micróglia de pacientes com ELA. A principal intervenção foi a aplicação de sequenciamento de RNA de célula única para identificar padrões de expressão.	Identificou alguns genes associados ao metabolismo com diferenças de expressão, comprovando seu uso como possível biomarcador ligado à atividade micróglia em ALS, além de monitorar o avanço das doenças também poderia fornecer alvos terapêuticos.
Serum NfL and CHI3L1 for ALS and parkinsonian disorders in the process of diagnosis	HAJI, S. et al. (15)	2022	O estudo incluiu indivíduos diagnosticados com ALS, Parkinson, outras condições neurodegenerativas e grupos controle saudáveis. 124 pacientes diagnosticados com ALS, 50 controles saudáveis e 65 pacientes com outras doenças neurodegenerativas, como demência frontotemporal e Alzheimer.	Coleta e análise de amostras de sangue para medir os níveis de biomarcadores, sendo eles: Neurofilament Light Chain (NfL) e Chitinase-3-Like Protein 1 (CHI3L1) . O nível de NfL foi analisado em relação à progressão da ALS, enquanto o CHI3L1 foi analisado no contexto inflamatório relacionado às doenças investigadas.	O NfL se mostrou sensível e específico para diferenciar ALS de outras condições, refletindo utilidade para o diagnóstico e progressão da ALS. CHI3L1 que também foi investigado, apresentou um papel menos potente para a diferenciação diagnóstica entre as condições.
Evaluation of the Hematological and Serum Biochemistry Parameters in the Pre-Symptomatic and Symptomatic Stages of ALS Disease to Support Early Diagnosis and Prognosis	AYDEMIR, D. et al. (16)	2022	Utilizou ratos transgênicos que expressam a proteína mutante que simula as características da ELA (SOD1), foram utilizados no estudo 90 ratos no total, sendo alguns portadores da mutação e outros do tipo selvagem.	O estudo envolveu a coleta de amostras de sangue e tecidos em vários estágios da doença, nas amostras foram observadas biomarcadores específicos, como níveis de creatinina, elementos traço, e parâmetros de bioquímica sérica que poderiam ser indicativos de progressão da ELA.	Resultados demonstraram que os níveis de creatinina e marcadores de destruição muscular aumentam inicialmente, e diminuem posteriormente, refletindo na perda de massa muscular e desnutrição. Esses biomarcadores, junto a alterações em elementos traço, podem ajudar no diagnóstico precoce e monitoramento da progressão da ELA
Molecular Biomarkers and Their Implications for the Early Diagnosis of Selected Neurodegenerative Diseases	DOROSZKIEWICZ, J., GROBLEWSKA, M., MROCZKO, B. (17)	2022	Participantes com Alzheimer, Esclerose Lateral Amiotrófica e Parkinson, além de pacientes controles saudáveis para fazer a comparação.	Foram revisados biomarcadores em amostras de sangue e líquido cefalorraquidiano dos participantes, com foco nas doenças revisadas sendo o Alzheimer, Parkinson, e Esclerose Lateral Amiotrófica (ALS). A intervenção	As informações apresentadas na análise sugerem que os miRNAs são biomarcadores altamente promissores para os distúrbios neurodegenerativos e também ferramentas importantes no tratamento dessas doenças.

				incluiu a coleta e análise de microRNAs.	
From Recognition to Remedy: The Significance of Biomarkers in Neurodegenerative Disease Pathology	TOADER, C. et al. (7)	2023	Inclui pacientes com doenças neurodegenerativas, como Alzheimer, Parkinson, Huntington e esclerose múltipla.	Foram analisadas amostras de líquido cefalorraquidiano para identificação de biomarcadores como as proteínas amiloides e tau, também foram utilizadas neuroimagens para observar as alterações estruturais que acontecem nas patologias.	Os biomarcadores que foram achados, como neurofilamento leve (NfL) se mostraram úteis para identificar alterações patológicas iniciais nas doenças de Alzheimer e Parkinson, além de correlacionar no caso da doença de Huntington a proteína mutante Huntington (mHTT) no líquido cefalorraquidiano como biomarcador eficiente no monitoramento e gravidade da doença.
Biomarkers in Neurodegenerative Diseases: Proteomics Spotlight on ALS and Parkinson's Disease	RAGHUNATHAN, R., TURAJANE, K., WONG, L. C. (18)	2022	Indivíduos com Esclerose Lateral Amiotrófica e Doença de Alzheimer	Foram analisados estudos proteômicos recentes em tecidos humanos, plasma, líquido cefalorraquidiano (LCR) e exossomos em ELA e DP .	Proteínas pertencentes às vias transcricionais foram alteradas tanto no tecido da medula espinhal quanto no proteoma do LCR. Também foram vistas modificações do TDP43 no pré-frontal humano, no tecido cerebral do córtex motor e na medula espinhal, bem como em exossomos derivados do plasma.
Blood-based biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis.	WILKINS, H. M., DIMACHKIE, M. M., MAZEN M., AGBAS, A. (5)	2022	Pacientes acometidos com esclerose lateral amiotrófica	Compreensão atual da pesquisa de biomarcadores à base de sangue na ELA.	A quebra da barreira hematoencefálica (BBB) pode levar ao vazamento de exossomos/EVs do SNC e outras moléculas na corrente sanguínea, resultando em potenciais biomarcadores. Os biomarcadores à base de sangue são considerados não invasivos e têm o potencial de serem econômicos.
Visinin-like protein 1 levels in blood and CSF as emerging markers for Alzheimer's and other neurodegenerative diseases	HALBGEBAUER, H. et al. (19)	2022	Foram utilizados participantes com Alzheimer, demência frontotemporal, síndrome parkinsoniana, esclerose lateral amiotrófica e um grupo de controle sem as doenças neurodegenerativas, no total participaram do estudo 234 pacientes.	Foram coletadas amostras do líquido cefalorraquidiano, na amostra foram medidos os níveis de VILIP-1 e comparando com os grupos de doenças neurodegenerativas.	O estudo sugeriu que o VILIP-1 possui alta sensibilidade e especificidade na detecção de Alzheimer, e doenças neurodegenerativas, o que o torna um importante biomarcador.

EVolution in ALS diagnosis: molecular markers in extracellular vesicles	CODRON, P., MILLECAMPS,S., CORCIA, P. (20)	2024	Participaram do estudo 61 pacientes com ELA e 30 pacientes saudáveis de controle.	Foram realizadas coletas de sangue, na amostra foram isoladas vesículas extracelulares , o que permitiu identificar centenas de proteínas que poderiam ser biomarcadores para a ELA.	As proteínas nas vesículas extracelulares se mostraram promissoras na marcação da ELA.
Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) prediction model derived from plasma and CSF biomarkers	KHOSLA, R. et al. (21)	2021	239 participantes no total (107 ELA e 132 controles)	Os testes foram realizados usando o Statistical Product and Service Solutions (SPSS v 23.0 SPSS Inc., Chicago, EUA), sendo testadas um total de 21 variáveis, incluindo níveis de proteínas e detalhes sociodemográficos.	O modelo preditivo para risco de ELA mostrou alta sensibilidade e especificidade

Biomarcadores para Alzheimer

1 - Proteínas Beta-amiloide (Aβ):

Pode ser liberada em fluidos biológicos, como o Líquido Cefalorraquidiano (LCR), mesmo quando não há deficiência conhecida (17). Além disso, a análise das placas amiloides mostrou que são compostas principalmente de disformas Aβ1-40 e 1–42 (7). Isso implica que os níveis de Aβ circulante provavelmente serão diminuídos em pacientes com DA em comparação com controles saudáveis, como foi confirmado por muitos pesquisadores. Além disso, foi demonstrado que a análise combinada de Aβ42 e Aβ40 no LCR na forma de uma proporção Aβ42/Aβ40 tem uma maior capacidade de detectar DA do que um biomarcador por conta própria (17).

2 - Proteína Tau:

O principal papel desta proteína é manter a estabilidade dos microtúbulos, sua função perturbada resulta em disfunção sináptica. Além disso, foi revelado que a proteína tau fosforilada (p-tau) é o principal componente dos emaranhados neurofibrilares (NFTs). Observou-se, ainda, que os níveis de tTau estavam elevados em pacientes com DA, refletindo a gravidade da doença, o que confirma o valor do seu diagnóstico como um biomarcador de DA. A hipofusão cerebral crônica (CCC) é um dos fatores etiológicos para a DA, que promove a fosforilação das proteínas tau e contribui para a progressão da doença (17).

3- Neurofilamentos (NFs)

São encontrados em neurônios, especialmente em grandes axônios mielinizados do SNC adulto. Existem seis tipos e, após sua síntese e montagem, os NFs são transportados ao longo dos axônios. Também, são muito importantes no

crescimento e estabilidade dos axônios, para o conteúdo de microtúbulos, para a preservação da estrutura e função da coluna dendrítica e na regulação das sinapses glutamatérgicas e dopaminérgicas. Sua desorganização frequente prejudica a plasticidade sináptica, a formação de memória e o comportamento, observados em diferentes neuropatologias. De acordo com isso, sua elevação e a presença de Abs reativos mostram uma possibilidade muito alta de ser um meio preciso de detectar a fase inicial e a neurodegeneração. Sabe-se que níveis elevados de NF no sangue e no LCR sugerem danos axonais, que podem resultar tanto do envelhecimento cerebral quanto dos processos patológicos (7).

4- microRNAs (miRNAs) e exossomos:

Proteínas beta-amiloides podem induzir a um estresse oxidativo, o qual, embora seja regulado por miRNAs (regulam vários genes envolvidos na resposta ao estresse oxidativo e na neuroinflamação), o próprio estresse oxidativo também pode alterar suas expressões. Foi revelado que o miR-125b pode promover a expressão de APP e BACE1, além de induzir a apoptose, inibir a proliferação de células e aumentar o estresse oxidativo e a inflamação. Em outras pesquisas, o Aβ sintético solúvel promoveu a expressão de miR-134, miR-145 e miR-210 em modelos neuronais. É importante ressaltar que os miRNAs perturbados podem ser observados não apenas na DA totalmente desenvolvida, mas também em estágios anteriores, em pacientes com diagnóstico de Dano Cognitivo Brando (MCI). Também foram encontradas mudanças significativas nos miRNAs—especificamente miR-29c, miR-136-3p, miR-16-2, miR-331-5p, miR-132-5p e miR-485-5p— em exossomos de LCR obtidos de pacientes com DA em comparação com controles saudáveis (17).

Outro estudo também detectou a desregulação dos miRNAs no fluido corporal biológico e no cérebro como um estado associado ao estado patológico da DA, sendo concluído que 7 miRNAs (miR-29b, miR-181c, miR-15b, miR-146a, miR-342-3p, miR-191-5p e let-7d-5p) foram consistentemente regulados para baixo. (13)

5 - VILIP-1

Os níveis de VILIP-1 são inferiores quando medidos no LCR ou no sangue na discriminação entre a DA e outras doenças neurodegenerativas em comparação com a alta especificidade do p-tau. No entanto, o VILIP-1 como biomarcador para DA tem seus pontos fortes, o principal é o reflexo de diferentes aspectos da patologia da DA. Como uma proteína sensora de cálcio neuronal, ela tem um papel importante no equilíbrio de íons de cálcio perturbado associado à DA. Além disso, o VILIP-1 está envolvido na regulação da plasticidade sináptica e, portanto, também poderia ser uma leitura para disfunção sináptica em pacientes com DA. (19)

Biomarcadores para Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA)

1- Biomarcador Proteômico do Fluído Cerebroespinhal (LCS):

É amplamente utilizado em estudos de biomarcadores de doenças neurodegenerativas, uma vez que se acredita que ele reflita os processos cerebrais

dentro da barreira hematoencefálica. Considerações importantes na proteômica do LCS incluem a coleta e o armazenamento adequados de amostras para minimizar a contaminação do sangue e maximizar a estabilidade da proteína. Usando essas abordagens, as proteínas diferencialmente expressas, identificadas como potenciais biomarcadores, incluem: proteína semelhante à quitinase-3 (CHI3L2), cadeia B alfa-cristalina (CRYAB), profilina-1 (PFN1), proteína receptora de transferrina 1 (TFRC), receptor desencadeante expresso em células mielóides 2 (TREM2), proteína contendo domínio de tioredoxina 17 (TXNDC17), isozima de ubiquitina carboxil-hidrolase terminal L1 (UCHL1), CHIT1 e NEFM (18).

2 - Neurofilamentos (NFs):

Da mesma forma que na Doença de Alzheimer, o método ELISA detectou NF Aabs no soro de pacientes com ELA. Pacientes com ELA têm níveis mais altos, no LCR ou soro em pacientes com ELA, do que indivíduos saudáveis e aqueles com outras doenças. Como a rede de neurofilamentos é perturbada em diferentes doenças neurológicas, e os neurofilamentos são liberados no sangue periférico e no LCR, eles podem ser detectados nesses fluidos corporais. Sendo altamente imunogênicos, induzem uma resposta específica de anticorpos e liberam Aabs (7).

3 - Biomarcadores Proteômicos Sanguíneos e Plasmáticos:

A depleção das proteínas mais abundantes, o enriquecimento de proteínas de interesse com anticorpos e o fracionamento offline profundo são métodos comumente usados para identificar proteínas relevantes para doenças de baixa abundância. Essas estratégias identificaram a clusterina e a ficolina-3 como proteínas diferencialmente expressas no plasma de ELA. O perfil plasmático profundo de amostras de plasma também mostrou que a regulação positiva da gelsolina e de várias proteínas, como a quitinase-3-like 1 e alfa-1 antiquimotripsina foi validada no plasma da ELA e no líquido cefalorraquidiano (LCR) (18).

Os biomarcadores à base de sangue são considerados não invasivos e têm o potencial de serem econômicos. A neurodegeneração e a gliose reativa contribuem para a quebra da barreira hematoencefálica (BBB). Essa quebra do BBB pode levar ao vazamento de exossomos/EVs do SNC e outras moléculas na corrente sanguínea. Os exossomos são vesículas extracelulares liberadas, no sangue, por eritrócitos, plaquetas, células endoteliais e linfócitos (5).

4 - Modificações Pós-Traducionais em TDP 43

As modificações pós-traducionais (PTMs) incluem mudanças nas cadeias laterais de aminoácidos em proteínas devido à adição covalente de grupos funcionais ou clivagem proteolítica. São prontamente detectados pela espectrometria de massa devido às mudanças de massa características causadas pela modificação bioquímica das proteínas. Assim, modificações anormais podem interromper processos biológicos normais e servir como biomarcadores para o diagnóstico e progressão da doença. O TDP 43 fosforilado leva a um aumento na deslocalização e agregação citoplasmática e mitocondrial em neurônios. Sua ubiquitinação tem sido associada à sua agregação. Essas modificações, que são exclusivas da patologia da doença, podem servir como biomarcadores para a ELA. A maioria das

modificações e clivagens ocorreu nos domínios C-terminal e N-terminal rico em glicina do TDP 43 (18).

No entanto, muitas outras células do corpo, até mesmo as próprias células sanguíneas, podem contribuir para a quantidade de TDP-43 livre encontrada no sangue, em resposta a diferentes tipos de danos. Isso também pode significar que os níveis de TDP-43 podem não representar diretamente a alteração do SNC sozinho, mas também podem representar danos sistêmicos ou outros órgãos. É por isso que mais estudos são necessários para entender as fontes do TDP-43 em biofluidos (11).

5 - microRNAs circulantes (miRNAs)

São responsáveis pela regulação da expressão gênica pós-transcricional, que inclui o crescimento da célula, seu desenvolvimento e sua morte celular programada. Essas moléculas são consideradas biomarcadores perfeitos por causa de sua facilidade de detecção em muitos fluidos corporais, incluindo LCR e sangue, com especificidade muito alta em todos os materiais biológicos. Sua liberação pode ocorrer tanto através da descarga passiva de células danificadas ou mortas (após a apoptose) quanto através do transporte ativo. (17)

O sequenciamento de próxima geração de exossomos enriquecidos neurais do plasma de pacientes com ELA identificou oito miRNAs que poderiam discriminar a ELA de indivíduos saudáveis (5). Eles estão envolvidos na plasticidade sináptica e na neurogênese, e têm uma influência conhecida na diferenciação neuronal. Isso foi confirmado na pesquisa de modelos animais, na qual a ligação perturbada de miRNAs resultou em defeitos no desenvolvimento cerebral saudável (17).

6 - TLN1

TLN1 é uma proteína adaptadora que controla a sinalização de adesão focal conjugando integrinas ao citoesqueleto e se localiza em grânulos de estresse citoplasmático induzidos por estresse. Defeitos na dinâmica dos grânulos de estresse podem induzir a formação de agregados patológicos, uma característica da ELA. Assim, o aumento dos níveis séricos de TLN1 em pacientes com ELA pode estar associado à formação de agregados patológicos. (9)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os biomarcadores surgem como uma ferramenta essencial no diagnóstico e cuidado com doenças neurodegenerativas, especialmente na Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) e na Doença de Alzheimer (DA). Os avanços na identificação e comprovação desses indicadores oferecem promessas para a detecção precoce destas patologias, permitindo um tratamento mais eficaz e um melhor controle na progressão da doença, sendo os exemplos mais promissores: as proteínas β-amiloide, tau, microRNAs, exossomos e neurofilamentos em DA e os biomarcadores do fluido cerebroespinhal, sanguíneos, plasmáticos, neurofilamentos, TDP 43 e microRNAs em ELA. Dessa forma, embora os avanços recentes sejam significativos, ainda há desafios a serem enfrentados, pois, o futuro dos biomarcadores aponta

para um papel cada vez mais promissor na medicina, contribuindo com grande valia para a qualidade de vida dos pacientes e eficácia na promoção da saúde e cuidado.

REFERÊNCIAS

(1) KUMAR, V., ABBAS, A. K., ASTER, J. C. Robbins patologia básica. 10. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2018.

(2) ABNEURO. Esclerose Lateral Amiotrófica: estudo epidemiológico nacional. Disponível em: https://abneuro.org.br/2022/09/14/esclerose-lateral-amiotrofica-estudo-epidemiologico-nacional/. Acesso em: 24 out. 2024.

(3) BRASIL. Ministério da Saúde. Doença de Alzheimer. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/alzheimer. Acesso em: 24 out. 2024.

(4) EBC. Alzheimer: condição afeta 1,2 milhão de pessoas no Brasil. Disponível em: https://agenciagov.ebc.com.br/noticias/202310/alzheimer-condicao-afeta-1-2-milhao-de-pessoas-nobrasil#:~:text=A%20condi%C3%A7%C3%A3o%2C%20que%20afeta%20principalmente,devido%20ao%20envelhecimento%20da%20popula%C3%A7%C3%A3o. Acesso em: 24 out. 2024. .

(5) WILKINS, H. M., DIMACHKIE, M. M., MAZEN, M., AGBAS, A. Blood-based biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis. **Nature Reviews Neurology**, v. 18, n. 1, p. 11-25, 2022.

(6) BAGYINSZKY, E., HULME, J., AN S. S. A. Studies of genetic and proteomic risk factors of amyotrophic lateral sclerosis inspire biomarker development and gene therapy. **Journal of Neurogenetics**, v. 37, n. 3, p. 115-132, 2023.

(7) TOADER, C. et al. From recognition to remedy: the significance of biomarkers in neurodegenerative disease pathology. **Current Neuropharmacology**, v. 19, n. 5, p. 867-889, 2023.

(8) WANG, Z. et al. Screening and identification of key biomarkers associated with amyotrophic lateral sclerosis and depression using bioinformatics. **BMC Bioinformatics**, v. 24, n. 1, p. 1-15, 2023.

(9) HE, L., et al. Circulating proteomic biomarkers for diagnosing sporadic amyotrophic lateral sclerosis: a cross-sectional study. **Neural Regeneration Research**, v. 19, n. 8, p. 1842-1848, 2023.

(10) GOLDINI, R. et al. Salivary biomarkers of neurodegenerative and demyelinating diseases and biosensors for their detection. ***Ageing* Research Reviews**, v. 76, p. 101587, 2022.

(11) LÓPEZ-CARBONERO, J. I., et al. In vivo diagnosis of TDP-43 proteinopathies: in search of biomarkers of clinical use. **Translational Neurodegeneration,** v. 13, n. 1, p. 29, 2024.

(12) TURCO, A. et al. Advancing amyotrophic lateral sclerosis disease diagnosis: A lab-on-chip electrochemical immunosensor for ultra-sensitive TDP-43 protein detection and monitoring in serum patients. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 202, p. 114021, 2022.

(13) HE, M., ZHANG, H. N., TANG, Z. C., et al. Diagnostic and therapeutic potential of exosomal microRNAs for neurodegenerative diseases. **Neural Plasticity**, v. 2021, p. 8884642, 2021.

(14) SHEN, D. et al. Single-Cell RNA Sequencing Analysis of Microglia Dissected the Energy Metabolism and Revealed Potential Biomarkers in Amyotrophic Lateral Sclerosis. **Molecular Neurobiology**, v. 61, n. 7, p. 4473-4487, 2023.

(15) HAJI, S. et al. Serum NfL and CHI3L1 for ALS and parkinsonian disorders in the process of diagnosis. **Journal of Neural Transmission**, v. 129, n. 3, p. 301-309, 2022.

(16) AYDEMIR, D. et al. *Evaluation of the Hematological and Serum Biochemistry Parameters in the Pre-Symptomatic and Symptomatic Stages of ALS Disease to Support Early Diagnosis and Prognosis*. Cells, v. 11, n. 22, p. 3569, 2022.

(17) DOROSZKIEWICZ, J., GROBLEWSKA, M., MROCZKO, B. Molecular Biomarkers and Their Implications for the Early Diagnosis of Selected Neurodegenerative Diseases. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 9, p. 4610, 2022.

(18) RAGHUNATHAN, R., TURAJANE, K., WONG, L. C. Biomarkers in Neurodegenerative Diseases: Proteomics Spotlight on ALS and Parkinson's Disease. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 16, p. 9299, 2022.

(19) HALBGEBAUER, S., et al. Visinin-like protein 1 levels in blood and CSF as emerging markers for Alzheimer's and other neurodegenerative diseases. **Alzheimer's Research & Therapy,** v. 14, n. 1, p. 175, 2022.

(20) CODRON, P.; MILLECAMPS, S.; CORCIA, P. *EVolution in ALS diagnosis: molecular markers in extracellular vesicles*. **Trends in Molecular Medicine**, v. 30, n. 7, p. 1-10, 2024.

(21) KHOSLA, R.; RAIN, M.; SHARMA, S.; ANAND, A. Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) prediction model derived from plasma and CSF biomarkers. ***PLOS ONE***, v. 16, n. 2, p. 1-8, 2021.