

# **Demographic and Cognitive Characterization of Suspected Non- Alzheimer's Disease Pathophysiology**

**Carolina Inês Carvalho Macedo**

Dissertação para obtenção do Grau de  
Mestre em **Medicina**  
(Mestrado Integrado)

Orientador: Prof. Doutor Torcato Duarte Novo Meira  
Coorientador: Prof. Doutor Francisco Javier Ros Forteza

**Abril 2022**



## **Dedicatória**

Dedico este trabalho a todos aqueles que, por força da doença, perderam as suas memórias, as suas histórias e com elas a sua identidade. Idolatro aqueles que acreditam no conhecimento e na ciência, lutando incansavelmente para preservar a nossa essência. Somos as nossas memórias.



## Agradecimentos

O meu sincero obrigada ao orientador, prof. Dr. Torcato Meira, pela dedicação, paciência e orientações no raciocínio científico e estatística do estudo que assumem extrema importância na construção desta dissertação.

Ao meu coorientador, prof. Dr. Francisco Forteza, pelas correções, apoio, entusiasmo e ambição na concretização deste projeto.

Ao prof. Dr. Tiago Gil Oliveira pela incansável disponibilidade, por ser a minha referência profissional e humana. Agradeço-lhe incondicionalmente o fascínio pela ciência que semeou em mim, toda a energia e motivação no meu percurso.

À minha mãe, a minha heroína e o meu suporte para tudo.

E por fim a ti, Rui.



## Resumo

**Enquadramento:** Suspected Non-Alzheimer Disease Pathophysiology (SNAP) é um conceito que surgiu recentemente, em 2012, categorizando um grupo de indivíduos que não se enquadrava nos critérios histopatológicos definidores da doença de Alzheimer, aquando da aplicação dos critérios da *National Institute on Aging and Alzheimer's Association*. SNAP é definida como uma condição neurológica identificável, in vivo, por níveis normais do biomarcador amiloide- $\beta$  no cérebro. Contudo pela presença de um depósito anormalmente elevado de proteína Tau, que se traduz em achados imagiológicos de neurodegeneração, isto é, atrofia cerebral identificável por técnicas de imagem. Estima-se que esteja presente em aproximadamente 23% dos indivíduos cognitivamente normais com idade superior a 70 anos e em cerca de 25% dos indivíduos com comprometimento cognitivo moderado. Resultados de estudos recentes mostram-se muito dispares no que concerne aos *outcomes* cognitivos, quando os indivíduos SNAP são comparados a indivíduos sem neurodegeneração e com níveis normais de amiloide- $\beta$ . Assim, prende-se a ansia de compreender o impacto cognitivo desta condição, assim como potenciais fatores de risco da mesma.

**Objetivos:** Caracterizar demograficamente e cognitivamente uma população de indivíduos SNAP em comparação com doentes sem demência estabelecida e doentes com doença de Alzheimer.

**Materiais e métodos:** Análise transversal, descritiva e comparativa de uma amostra de 1682 indivíduos. Os dados usados na preparação desta dissertação, arquivo de dados UPENNBIOBK\_MASTER.csv, foram transferidos do banco de dados da Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI), após prévia exposição e argumentação das intenções do estudo. Os dados incluídos foram recolhidos das coortes da ADNI 1 (iniciada em 2004 e duração de 5 anos), ADNI GO (iniciada em 2009 e duração de 2 anos) e ADNI 2 (iniciada em 2011 e duração de 5 anos). A seleção do período temporal da pesquisa é coincidente com as datas de início e de término de tais projetos. Os indivíduos foram classificados como controlos quando apresentavam níveis de amiloide- $\beta$  e Tau normais no líquido cefalorraquidiano, como potencialmente com doença de Alzheimer quando ambos os doseamentos eram anormais e, como SNAP quando apresentavam níveis elevados de tau com doseamento de amiloide- $\beta$  normal. Os grupos foram caracterizados cognitivamente de acordo com as variáveis disponíveis na base de dados referida.

**Resultados:** Da análise de 1682 participantes incluídos neste estudo, 295 são SNAP. A percentagem de indivíduos do sexo masculino é 50.9%, com uma idade média de 71.99  $\pm$

8.09 anos. Relativamente aos anos de educação, o grupo SNAP apresenta uma média de anos de escolaridade de  $16.47 \pm 2.61$  anos. A positividade ao gene ApoE4 presente nesta população é de 19.66%. Os níveis médios dos biomarcadores no líquido cefalorraquidiano quantificados foram os seguintes:  $[A\beta] = 236.21 \pm 27.13$  pg/ml,  $[\text{Tau total}] = 72.57 \pm 31.05$  pg/ml e  $[\text{Tau fosforilada}] = 33.91 \pm 10.44$  pg/ml. Relativamente ao nível de performance cognitiva, globalmente o grupo SNAP obteve pontuações semelhantes ao grupo controlo e reiteradamente superiores às obtidas pelos indivíduos com Doença de Alzheimer. O grupo SNAP obteve resultados significativamente superiores ao controlo normal nas seguintes provas: o Teste de Memória Imediata e o Teste de Memória de Longo Prazo, que avaliam, respetivamente, a capacidade de reter uma quantidade limitada de informação durante um curto período de tempo (segundos, minutos a horas) e a capacidade de memorizar uma quantidade virtualmente infinita de informação durante um tempo indefinido.

**Conclusão:** Foi constatado de forma transversal a todos os exames cognitivos aplicados neste estudo, que a condição neurológica SNAP se traduz numa performance cognitiva significativamente melhor que a de doentes com doença de Alzheimer, sugerindo o carácter menos severo desta entidade. Este estudo permitirá explorar a correlação cognitiva com parâmetros neuroimagiológicos destas populações, com o objetivo de identificação precoce destes doentes e respetiva evolução clínica.

**Palavras-Chave:** Suspected Non-Alzheimer's Disease Pathophysiology; Doença de Alzheimer, Neurodegeneração; Cognição.

## Abstract

**Background:** Suspected Non-Alzheimer Disease Pathophysiology (SNAP) is a concept that emerged recently, in 2012, categorizing a group of individuals who did not fit the histopathological criteria defining Alzheimer's disease, when applying the criteria of *the National Institute on Aging and Alzheimer's Association*. SNAP is defined as a neurological condition characterized, in vivo, by normal levels of the biomarker amyloid- $\beta$  in the brain. However, it features an abnormally high deposit of Tau protein, which translates into imaging findings of neurodegeneration, that is, brain atrophy identifiable by imaging techniques. It is estimated to be present in approximately 23% of cognitively normal individuals over the age of 70 years and in approximately 25% of individuals with moderate cognitive impairment. Results from recent studies are very different in terms of cognitive outcomes when SNAP individuals are compared to individuals without neurodegeneration and with normal levels of amyloid- $\beta$ . Thus, there is a need to understand the cognitive impact of this condition, as well as its potential risk factors.

**Aims:** Characterize demographically and cognitively a population of SNAP individuals compared to patients without established dementia and patients with Alzheimer's disease.

**Materials and methods:** Cross-sectional, descriptive, and comparative analysis of a sample of 1682 individuals. The data used in the preparation of this dissertation, the UPENNBIOMK\_MASTER.csv data file, was transferred from the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) database, after prior exposure and argumentation of the study intent. Data included were collected from ADNI 1 (initiated in 2004 and duration of 5 years), ADNI GO (initiated in 2009 and duration of 2 years), and ADNI 2 (initiated in 2011 and duration of 5 years) cohorts. The selection of the period time for the research matches with the start and end dates of such projects. Subjects were classified as controls when they had normal cerebrospinal fluid amyloid- $\beta$  and Tau levels, as potentially with Alzheimer's disease when both assays were abnormal; as SNAP when they had high levels of tau with the normal amyloid- $\beta$  assay. The groups were cognitively characterized according to the variables available in the aforementioned database.

**Results:** From the analysis of 1682 participants included in this study, 295 are SNAP. The percentage of males is 50.9%, with a mean age of  $71.99 \pm 8.09$  years. Regarding years of education, the SNAP group has an average number of years of schooling of  $16.47 \pm 2.61$  years. The positivity to the ApoE4 gene present in this population is 19.66%. Mean of cerebrospinal fluid biomarker levels quantified were as follows:  $[A\beta] = 236.21 \pm 27.13$  pg/ml,  $[Total\ Tau] = 72.57 \pm 31.05$  pg/ml and  $[phosphorylated\ Tau] = 33.91 \pm 10.44$  pg/ml.

Regarding the level of cognitive performance, overall the SNAP group obtained scores similar to the control group and repeatedly higher than those obtained by individuals with Alzheimer's Disease. The SNAP group obtained significantly better results than the normal control in the following tests: the Immediate Memory Test and in the Long-Term Memory Test, which assess, respectively, the ability to retain a limited amount of information over a short period of time (seconds, minutes to hours) and the ability to memorize a virtually infinite amount of information over an indefinite amount of time.

**Conclusion:** It was found across all cognitive tests applied in this study that the neurological condition SNAP translates into a significantly better cognitive performance than the observed in Alzheimer's disease patients, suggesting the less severe nature of this entity. This study will explore the cognitive correlation with neuroimaging parameters of these populations, with the aim of early identification of these patients and their respective clinical evolution.

**Keywords:** Suspected Non-Alzheimer's Disease Pathophysiology; Alzheimer's Disease, Neurodegeneration; Cognition.

# Índice

<b>Dedicatória</b> .....	III
<b>Agradecimentos</b> .....	V
<b>Resumo</b> .....	VII
<b>Palavras-Chave</b> .....	VIII
<b>Abstract</b> .....	IX
<b>Keywords</b> .....	X
<b>Lista de Acrónimos</b> .....	XI
<b>Introdução</b> .....	- 1 -
<b>Capítulo I - Enquadramento Teórico</b> .....	- 4 -
<b>1. Estado de Arte</b> .....	- 5 -
<b>Capítulo II - Metodologia de Investigação</b> .....	- 9 -
<b>1. Tipo de Estudo</b> .....	- 10 -
<b>2. Critérios de Seleção da Amostra</b> .....	- 10 -
2.1 Classificação de grupos .....	- 12 -
<b>3. Base de Dados Consideradas Neste Estudo</b> .....	- 13 -
3.1- Características demográficas.....	- 13 -
3.2- Avaliação Cognitiva .....	- 13 -
<b>4. Análise Estatística</b> .....	- 18 -
<b>5. Considerações Éticas</b> .....	- 19 -
<b>Capítulo III - Apresentação dos Resultados</b> .....	- 20 -
<b>1. Regressão Linear e Ordinal</b> .....	- 33 -
<b>Capítulo IV - Discussão</b> .....	- 35 -
<b>1. Conceito PART</b> .....	- 38 -
<b>2. Limitações do Estudo</b> .....	- 39 -
<b>Síntese conclusiva do estudo</b> .....	- 40 -
<b>Referências</b> .....	- 41 -
<b>Anexo 1 – tabela suplementar</b> .....	- 42 -



## **Lista de Acrónimos**

ADNI – Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative

DA – Doença de Alzheimer

NIA-AA – National Institute on Aging and Alzheimer’s Association

SNAP – Suspected Non-Alzheimer Pathophysiology

CN – Controlo normal

LCR – Líquido cefalorraquidiano

A $\beta$  – Amiloide- $\beta$

T-Tau – Tau total

P-Tau – Tau fosforilada

PART – Primary Age Related Tauopathy

NFT – Neuronal Fibrillary Tangles

RM – Ressonância Magnética

FDG-PET – Positron Emission Tomography com 18F-fluorodesoxiglicose



## Introdução

A doença de Alzheimer (DA) é um distúrbio de progressão lenta, que se caracteriza globalmente pela perda progressiva da memória e função cognitiva, cujas anormalidades fisiopatológicas se iniciam previamente ao desenvolvimento de sintomas. A proteína Tau, hiperfosforilada, adota a configuração de emaranhados neurofibrilares intracelulares, enquanto a proteína amiloide- $\beta$  ( $A\beta$ ) se deposita na forma de placas neuríticas extracelulares (Hyman et al., 2012).

Em 2011, o *National Institute on Aging and Alzheimer's Association* (NIA-AA) criou um conjunto de diretrizes diagnósticas para estados precoces da DA, ou seja, destinadas à orientação de indivíduos sem sintomas aparentes, denominado “DA pré-clínica” (Jack et al., 2012). Tais recomendações para os estágios pré-clínicos da doença de Alzheimer foram elaboradas para fornecer aos investigadores uma linguagem comum no sentido de categorizar consistentemente os participantes de estudos de investigação. Neste sentido, foi desenvolvida uma *framework* disposta a classificar os indivíduos que ainda não se encontravam cognitivamente prejudicados, mas que ao apresentarem biomarcadores anormais da DA se encontravam em fases iniciais do *continuum* da DA - na qual se supõe que há uma acumulação progressiva das proteínas  $A\beta$  e Tau que começa antes dos sintomas (Cairns et al., 2013; Jack et al., 2012).

O grupo de trabalho criador das recomendações diagnósticas NIA-AA 2011 propôs que a estrutura de estadiamento NIA-AA para a DA pré-clínica fosse baseada em combinações de biomarcadores, neurodegeneração e cognição. Assim, os indivíduos podiam ser classificados em  $A\beta$ -positivo (A+) ou  $A\beta$ -negativo (A-), neurodegeneração-positivo (N+) ou neurodegeneração-negativo (N-) e com ou sem a presença de demência.

De forma surpreendente, foi precisamente aquando da aplicação dos critérios NIA-AA 2011 que surgiu o conceito SNAP. Num estudo onde a SNAP foi inicialmente descrita, levado a cabo na Mayo Clinic Study of Aging (Jack et al., 2012), verificou-se que uma minoria considerável de indivíduos clinicamente normais, com idade superior a 70 anos, apresentava evidência imagiológica de neurodegeneração, contudo, sem evidência de amiloidose (A- N+, segundo a NIA-AA) (Jack et al., 2012).

Baseados nestas observações, Jack et al. (2012) propuseram a adição de um novo conceito para categorizar estes indivíduos - o grupo denominado Suspected Non-Alzheimer Disease Pathophysiology (SNAP). Rapidamente a comunidade científica prontificou-se a estudar a incidência desta condição e, investigações epidemiológicas recentes demonstraram que a SNAP está presente em aproximadamente 23% da população cognitivamente normal com idade superior a 70 anos e 25% da população com comprometimento cognitivo moderado (Jack et al., 2016, 2018).

Na base da fisiopatologia neurodegenerativa desta condição neurológica sabe-se que há deposição da proteína Tau bilateralmente nas regiões medial e lateral do lobo temporal, bem como um hipometabolismo das regiões temporoparietais (Chiaravalloti et al., 2019). Sabe-se também que neste processo evolutivo de atrofia cerebral há um padrão de envolvimento das regiões cerebrais distinto daquele verificado nos estágios pré-clínicos da DA (Li et al., 2020).

Sendo SNAP uma condição patofisiologicamente distinta da DA, questiona-se também o impacto clínico potencialmente diferente. Estudos sugerem haver um declínio cognitivo superior em indivíduos SNAP quando comparados com indivíduos sem evidência de neurodegeneração (A-N-) (Caroli et al., 2015; Jack et al., 2017), enquanto outros sugerem não haver diferença significativa entre a população SNAP e indivíduos “saudáveis” (Burnham et al., 2016; Knopman et al., 2012; Vos et al., 2013).

Assim, neste trabalho de investigação é objetivo geral caracterizar demograficamente e cognitivamente a população SNAP, estabelecendo comparações entre os indivíduos com DA, SNAP e sem evidência de neurodegeneração (controles), classificados de acordo com os biomarcadores A $\beta$ , Tau total (T-Tau) e Tau fosforilada (P-Tau) doseados no líquido cefalorraquidiano (LCR). Os dados foram obtidos da base de dados Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative (ADNI).

Este trabalho está organizado em quatro capítulos, iniciando pela introdução e terminando com uma síntese conclusiva. No primeiro capítulo pretende-se fazer uma exposição do conhecimento atual sobre a condição neurológica SNAP; no segundo capítulo pormenoriza-se a metodologia do estudo, desde a caracterização quanto ao tipo, os critérios de seleção da amostra, a base de dados considerada, a análise estatística de tratamento de dados e as considerações éticas; no terceiro constam os resultados do estudo; e por fim, no quarto capítulo, a discussão dos resultados.

Como proposta de intervenção pretende-se partilhar os resultados deste estudo de investigação com a comunidade científica dedicada a esta matéria, de modo a melhorar a eficácia e eficiência nos diagnósticos das várias etiologias neurodegenerativas e, neste sentido, dirigir de forma ciente as terapêuticas, os programas de intervenção e de aconselhamento precoce na prática clínica.

O presente trabalho foi redigido de acordo com o novo acordo ortográfico, respeitando as normas de apresentação designadas pela Universidade da Beira Interior e pela norma da *American Psychological Association*, 7<sup>a</sup> edição, de 2020. A pesquisa bibliográfica eletrónica foi realizada nas bases de dados *Scientific Electronic Library Online (SciELO)*, *Pubmed*, *Elsevier* e *Google Scholar* sem limite temporal na pesquisa da literatura dada a escassez de referências nesta área.

---

## **Capítulo I - Enquadramento Teórico**

## 1. Estado de Arte

Vários biomarcadores, de imagem e de líquido cefalorraquidiano (LCR), são vastamente utilizados em estudos com base na fisiopatologia da Doença de Alzheimer. Uma abordagem organizada, que contemple todas as possíveis combinações desses biomarcadores é imprescindível para uma estrutura de investigação universal. Neste sentido, o comitê NIA-AA reconheceu as limitações das orientações de 2011, na qual um indivíduo com neurodegeneração e tauopatia eram colocados na mesma categoria e, reformulou-as, em 2018, num esquema de classificação baseado no sistema ATN. Este sistema reconhece três biomarcadores responsáveis pela natureza dos processos patológicos. [A] para as placas neuríticas  $A\beta$  identificadas por imagem PET, ou analiticamente por níveis diminuídos de  $A\beta$  no LCR. [T] para as neurofibrilas de proteína Tau identificada por imagem PET, ou por níveis elevados de Tau fosforilada no LCR. E finalmente, [N] para a evidência de lesão neuronal ou neurodegeneração definida pela presença de níveis elevados de Tau total ou fosforilada no LCR, hipometabolismo na FDG-PET, ou por atrofia cerebral documentada em RM cerebral, (Jack et al., 2018), figura 1.

Desta forma, a condição SNAP fica definida pelos critérios da NIA-AA 2018, como uma condição neurológica que abrange diferentes fenótipos: A-T+N-; A-T-N+; A-T+N+, tabela 1. A proporção de indivíduos SNAP, entre os participantes clinicamente normais e com idade superior aos 70 anos, tem vindo a ser muito consistente nos vários estudos realizados até então e ronda os 23% da amostra. Esta consistência incomum, comparada com outros conceitos estudados na matéria do envelhecimento cognitivo, suporta a legitimidade do conceito SNAP (anexo 1 - onde Jack et al. 2016, no texto de opinião "Suspected Non-Alzheimer Disease Pathophysiology - concept and controversy", discriminaram as características SNAP descritas pelas diferentes coortes realizadas até à data de 2016). Por outro lado, a proporção de indivíduos SNAP entre indivíduos com comprometimento cognitivo reportada nesses estudos foi bastante mais heterogênea quando comparada à proporção dos SNAP cognitivamente normais.

A proporção de indivíduos portadores de  $APOE*\epsilon 4$  no grupo SNAP tem sido reiteradamente inferior à dos indivíduos DA nesses estudos. Estas observações apontam para uma base biológica distinta da condição SNAP, uma vez que a presença de alelos  $APOE*\epsilon 4$  é um importante fator de risco para patologia de  $A\beta$  (Morris et al., 2011; P. et al., 2010).

Relativamente às trajetórias clínicas da população SNAP verifica-se uma grande variabilidade de conclusões, que pode refletir a heterogeneidade das populações dos

diferentes estudos. O estudo Caroli, et al. (2015) baseou-se na fusão dos critérios analíticos das proteínas do LCR e em critérios imagiológicos (PET e RM) para classificar 201 indivíduos com comprometimento cognitivo ligeiro em A+/A- e N+/N-. Deste estudo concluiu-se que os indivíduos SNAP (A-N+) tinham um risco de declínio cognitivo superior aos indivíduos com comprometimento cognitivo ligeiro, sem neurodegeneração e amiloidose (A-N-) e, comparável ao risco dos indivíduos com DA com CCL (A+N+). Contrariamente, estudos levados a cabo numa amostra de indivíduos diagnosticados previamente como cognitivamente normais encontraram uma relativa estabilidade cognitiva em idosos SNAP e mostraram que o declínio cognitivo foi marcadamente inferior ao de pessoas positivas para A $\beta$  (Burnham et al., 2016; Knopman et al., 2012).

Outros estudos, como o de Gordon et al. (2016), também baseado numa amostra de indivíduos cognitivamente normais, dedicou-se a categorizar uma amostra de indivíduos com base no volume hipocampal *baseline* e em biomarcadores do LCR. Tinham por objetivo examinar se o acúmulo longitudinal de A $\beta$  e a atrofia hipocampal diferiam com base no estadiamento pré-clínico inicial. Concluíram que volumes hipocampais inferiores ao início do estudo, isoladamente, não se associavam a uma perda mais rápida do parênquima em relação aos grupos de indivíduos sem atrofia hipocampal (controlos). Além disso, constataram que níveis anormais de T-Tau e P-Tau no LCR estavam associados a uma perda de volume hipocampal acelerada, mas apenas na presença concomitante de acúmulo anormal de A $\beta$ . Tais resultados, motivaram Gordon et al. a concluir que talvez SNAP não representasse um processo degenerativo contínuo.

Tabela 1 - NIA-AA *framework* 2018.

**Table 2**  
**Biomarker profiles and categories**

AT(N) profiles	Biomarker category	
A-T-(N)-	Normal AD biomarkers	
A+T-(N)-	Alzheimer's pathologic change	Alzheimer's continuum
A+T+(N)-	Alzheimer's disease	
A+T+(N)+	Alzheimer's disease	
A+T-(N)+	Alzheimer's and concomitant suspected non Alzheimer's pathologic change	
A-T+(N)-	Non-AD pathologic change	
A-T-(N)+	Non-AD pathologic change	
A-T+(N)+	Non-AD pathologic change	

Fonte: Tabela explicativa da classificação pelo sistema ATN - retirada do artigo *NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease*, Jack et al. (2018).

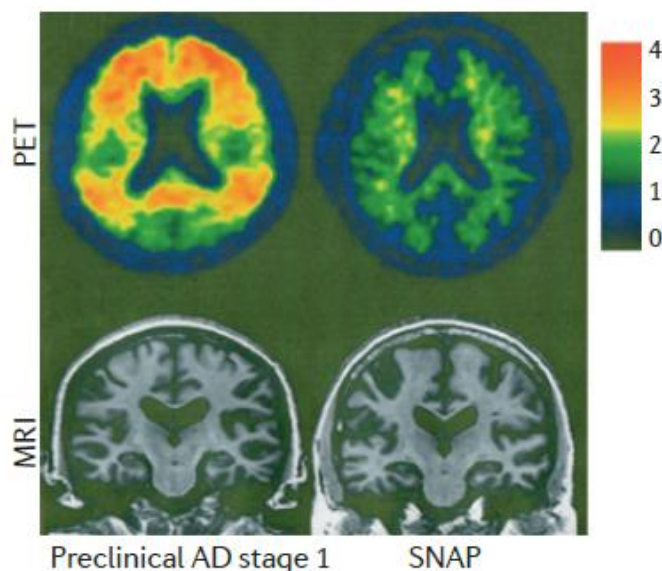


Figura 1 | Diferenças em neuroimagens entre um doente Alzheimer em estágio DA pré-clínico e um indivíduo SNAP. Na coluna da esquerda, visualizam-se as imagens cerebrais de uma mulher de 75 anos com DA clinicamente normal. Níveis anormalmente elevados de A $\beta$  são identificados por PET. Na imagem de RM identifica-se uma estrutura cerebral normal. Na coluna direita, dispõem-se as imagens de uma mulher de 77 anos clinicamente normal, com níveis normais de A $\beta$  captados por PET, contudo identificam-se hipocampos atróficos visualmente óbvios à RM. Fonte: imagens retiradas do texto de opinião - *Suspected non-Alzheimer disease pathophysiology – concept and controversy*.

A fisiopatologia de lesão neuronal na condição SNAP permanece ainda inconclusiva. De facto, evidências recentes indicam que diversas doenças neurodegenerativas podem ter uma causa e mecanismo patológico em comum – uma deformação errónea, agregação e acumulação de proteínas no cérebro, resultando em eventual apoptose neuronal (Soto, 2003). Pode-se pressupor que a categoria SNAP represente uma combinação de vários tipos diferentes de patologias não relacionadas com a amiloide e que cursam com neurodegeneração, tais como envolvendo a proteína huntingtina na Doença de Huntington, a alfa-sinucleína na Demência dos Corpos de Lewy, inclusões de superóxido dismutase encontradas na Esclerose Lateral Amiotrófica, a proteína TDP43 e a proteína Tau na Demência Frontotemporal, acumulação de priões responsáveis pelas encefalopatias espongiiformes transmissíveis, entre outras.

Precisamente pela diversidade de patologias cerebrais que ocorrem com neurodegeneração sem amiloidose, torna-se urgente discriminar as patologias supracitadas da entidade SNAP. Relativamente a esta matéria sabe-se que na base patofisiológica da condição SNAP há uma deposição de proteína Tau bilateralmente nas regiões medial e lateral do lobo temporal, bem como um hipometabolismo das regiões temporoparietais (Chiaravalloti et al., 2019; Dodich et al., 2020). Li et al., em 2020, descreveu que no processo evolutivo de atrofia cerebral em SNAP há uma sequência de atingimento das estruturas cerebrais distintas do padrão verificado nos estágios pré-clínicos da DA. Este achado contraria a teoria de que SNAP possa representar estádios precoces da DA (nos quais ainda não há acumulação de A $\beta$  cerebral suficientemente anormal).

É neste sentido que se pretende compreender melhor esta condição neurológica, sendo a marcha e a carga patológica ainda consideradas tópicos de debate, com interesse para a comunidade científica.

A presente revisão de literatura foi integrada pela pesquisa no PubMed e no Google Scholar, sem restrição de anos de publicação, através dos termos mesh: “*Suspected Non-Alzheimer’s disease Pathophysiology*”, “*cerebral spinal fluid*”, “*tauopathy*”, “*amyloid*”, “*Alzheimer’s disease*”, “*preclinical*” e “*NIA-AA*”.

---

## **Capítulo II - Metodologia de Investigação**

## 1. Tipo de Estudo

O presente trabalho consiste numa análise transversal, descritiva e comparativa.

## 2. Critérios de Seleção da Amostra

Os dados da amostra foram recolhidos do arquivo de dados UPENNBBIOMK\_MASTER.csv e transferidos do banco de dados da ADNI a 3 de agosto de 2021, após prévia exposição e justificação dos objetivos do estudo. A ADNI, criada em 2004 por colaborações público-privadas e extensivamente revista (Green et al., 2012), reúne os esforços de investigadores internacionais que, através de dados de estudos multicêntricos e longitudinais, têm como objetivo determinar as relações entre os biomarcadores clínicos, cognitivos, de neuroimagem, genéticos e bioquímicos do espectro da doença de Alzheimer. A ADNI contempla uma extensa base de dados onde constam recursos recolhidos e validados, incluindo imagens de RM e PET, genética, testes cognitivos, valores analíticos do líquido cefalorraquidiano e biomarcadores plasmáticos, como potenciais preditores da doença. Os dados que esta plataforma contempla são originários de doentes com doença de Alzheimer, mas também de indivíduos com defeito cognitivo ligeiro e “controles normais” (utentes neurológicos, mas sem demência) . Atualmente, esta plataforma contém as bases de dados ADNI 1, ADNI GO, ADNI 2 e, ADNI 3, sendo que é através da avaliação clínica, neuropsicológica, genética, de biofluidos e de dados de imagem que é possível investigar os biomarcadores de deteção e progressão da doença de Alzheimer (informações adicionais em <http://www.adni-info.org>).

Todos os participantes neste estudo assinaram o consentimento informado assim que aderiram ao projeto ADNI. Os participantes foram inicialmente incluídos e excluídos segundo os critérios dos protocolos ADNI1/2/GO de acordo com os critérios disponíveis em [www.adni-info.org](http://www.adni-info.org).

No presente estudo dispomos de uma amostra de 1682 indivíduos dos quais 375 são controlos “normais” (CN), 295 são SNAP e 1012 são doentes com Doença de Alzheimer pertencentes ao ADNI 2, ADNI GO e ADNI 1 – grupos definidos em função da quantificação dos biomarcadores no LCR conforme explicitado adiante. A escolha das bases de dados supracitadas, e conseqüentemente o número total de indivíduos envolvidos, obedeceu aos seguintes critérios de inclusão.

- a) Disponibilidade das quantificações bioquímicas dos biomarcadores A $\beta$ , Tau-total e Tau-fosforilada.

- b) Escala de depressão geriátrica menor que 6.
- c) Hachinski menor ou igual a 4.
- d) Acuidade visual e auditiva adequada para os testes neuropsicológicos.
- e) Idade entre 55-90 (inclusive).
- f) O participante completou seis graus de escolaridade ou tem um bom histórico de trabalho (suficiente para excluir atraso mental).
- g) Boa saúde geral, sem expectativa de doenças que interfiram no estudo.
- h) A participante não está grávida, a amamentar ou com potencial para engravidar (ou seja, as mulheres devem estar dois anos após a menopausa ou ser cirurgicamente estéreis).
- i) Deve falar inglês ou espanhol fluentemente.
- j) Sem contraindicações médicas para a realização de RM.
- k) Desejar, poder e concordar em participar do estudo.

Foram excluídos os indivíduos com as seguintes manifestações:

- a) Qualquer doença neurológica significativa, como doença de Parkinson, demência multienfarte, doença de Huntington, hidrocefalia de pressão normal, tumor cerebral, paralisia supranuclear progressiva, distúrbio convulsivo, hematoma subdural, esclerose múltipla ou história de traumatismo cranioencefálico significativo, seguido por padrões ou anomalias cerebrais estruturais persistentes conhecidas.
- b) Qualquer doença psiquiátrica significativa, como história de esquizofrenia (critérios do DSM IV), depressão major ou transtorno bipolar (DSM-IV) no último ano.
- c) Alterações analíticas relevantes que pudessem interferir com o estudo, tais como déficit de vitamina B12 e folato, testes da função da tireoideia anormais e serologia sífilítica positiva .
- d) Uso de medicamentos não relacionados à DA que influenciam a função cerebral, como certos antidepressivos, neurolépticos, ansiolíticos crônicos ou sedativos-hipnóticos.
- e) História de abuso ou dependência de álcool ou substâncias nos últimos 2 anos (critérios do DSM IV).
- f) Presença de contraindicações de ressonância magnética, incluindo pacemakers, cliques de aneurismas, válvulas cardíacas artificiais, implantes de ouvido, fragmentos de metal ou objetos estranhos nos olhos, pele ou corpo.

## 2.1 Classificação de grupos

As amostras de LCR foram medidas com recurso à plataforma Multiplex xMAP Luminex como previamente descrito (Olsson et al., 2005; Shaw et al., 2009). Os biomarcadores do LCR foram dicotomizados (normal/anormal) de acordo com estudos anteriores (Li et al., 2020; Shaw et al., 2009): **192 pg/ml** para A $\beta$ , **23 pg/ml** para P-Tau e **93 pg/ml** para T-Tau. Níveis diminuídos de A $\beta$  e elevados de T-Tau ou P-Tau no LCR são considerados anormais.

Desta forma, a amostra de n=1682 indivíduos foi dividida em três grupos: i) Controlo - indivíduos com níveis normais de A $\beta$ , T-Tau e P-Tau (A-T-); ii) SNAP - com níveis normais de A $\beta$  e anormais de P-Tau (A-T+) e; iii) indivíduos DA - indivíduos com níveis anormais de A $\beta$  e P-Tau (A+T+) – Figura 2.

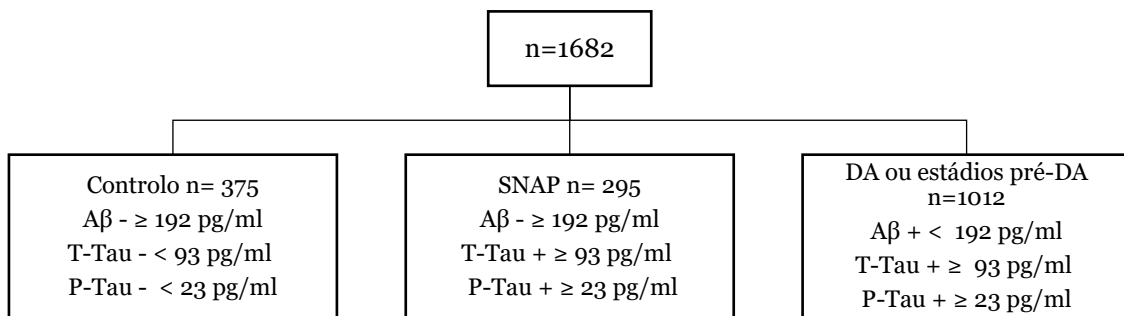


Figura 2| A positividade dos biomarcadores significa níveis anormais encontrados no LCR, baseada no valor *cutoff* definido pela técnica de análise Multiplex xMAP luminex.

### 3. Base de Dados Consideradas Neste Estudo

#### 3.1- Características demográficas

A fim de retirar ilações sobre uma possível influência das características demográficas na classificação de indivíduos com SNAP, DA ou “saudáveis”, analisou-se a idade, o género, os anos de educação e a positividade ao gene ApoE4.

#### 3.2- Avaliação Cognitiva

Com o objetivo de caracterizar a população SNAP quanto à capacidade cognitiva, em comparação com as populações de doentes com DA e controlos, foram selecionados os seguintes exames específicos do total de avaliações neuropsicológicas disponíveis nas bases de dados ADNI, agrupados de acordo com a função cognitiva especificamente avaliada.

- **Função cognitiva global** – para este propósito, os grupos foram comparados nas escalas de *Mini Mental State Exame* (MMSE), *Clinical Dementia Rating* (CDR) e *Alzheimer’s Disease Assessment Scale- Cognition* (ADAS-Cog). O MMSE é um teste amplamente utilizado da função cognitiva, inclui testes de orientação, atenção, memória, linguagem e habilidades visuais-espaciais. Para este estudo foi analisada a pontuação total que varia de 0 a 30 pontos. O CDR é uma escala numérica usada para quantificar nos diversos graus a demência, tendo sido também estudada a pontuação global dos itens envolvidos. Assim sendo, atribui-se a pontuação 0 a indivíduos sem comprometimento cognitivo, 0.5 aos com comprometimento cognitivo questionável, 1 aos com demência leve, 2 aos com demência moderada e, 3 aos com demência grave. O ADAS-Cog é uma bateria de testes cognitivos breves que avalia a aprendizagem e a memória, a produção da linguagem, a compreensão da linguagem, a práxis construtiva, a práxis ideacional e a orientação. Foram analisadas individualmente:

- i. A Praxis de Construção (ADASCog 3) - avalia a capacidade do indivíduo copiar 4 formas geométricas que variam de uma forma simples, como um círculo, até uma forma mais difícil, como um cubo.

Pontuação:

0 = todos as 4 formas geométricas desenhadas corretamente;  
1 = 1 forma desenhada incorretamente;  
2 = 2 formas desenhadas incorretamente;  
3 = 3 formas desenhadas incorretamente;  
4 = 4 formas desenhadas incorretamente (mas um ou mais lados/secções de pelo menos uma forma desenhada);  
5 = nenhuma figura desenhada ou nenhuma tentativa reconhecível de desenhar qualquer lado/secção de qualquer figura.

- ii. A Praxis Ideacional (ADASCog 6) - esta tarefa está desenhada para determinar se o individuo é capaz de realizar uma tarefa familiar, mas numa sequência complexa de ações (exemplo: “Quero que finja que escreveu uma carta para si mesmo. Pegue neste pedaço de papel, dobre-o para que caiba no envelope e, em seguida, coloque-o dentro do envelope. Sele o envelope, endereça o envelope a si mesmo e mostra-me para onde vai o selo”).

Pontuação:

0 = todos os componentes executados corretamente;  
1 = falha ao executar 1 componente;  
2 = falha ao executar 2 componentes;  
3 = falha em realizar 3 componentes;  
4 = falha em realizar 4 componentes;  
5 = falha em realizar 5 componentes.

- iii. A Orientação (ADASCog 7) - esta tarefa está projetada para determinar o quão bem orientado o indivíduo é em relação à pessoa, tempo e lugar. Pontuação: o questionário é composto por 8 itens avaliadores da orientação e cada resposta incorreta é pontuada com 1 ponto (0-8).

- iv. A Clareza do Discurso (ADASCog 10) -este item avalia a habilidade de linguagem na comunicação de um pensamento, e não as deficiências na mecânica de discurso. Mais especificamente, avalia-se a qualidade global da comunicação verbal do sujeito, desde a clareza da fala à dificuldade em se fazer entender com palavras.

Pontuação:

0 = discurso claro – o individuo fala claramente e/ou é compreensível;  
1 = dificuldade muito ligeira - um caso de falta de compreensão;  
2 = dificuldade ligeira - o individuo tem dificuldade em menos de 25% do tempo;  
3 = dificuldade moderada - o individuo tem dificuldade em 25-50% do tempo;  
4 = moderadamente severa: o individuo tem dificuldade em mais de 50% do tempo;  
5 = dificuldade severa - uma ou duas palavras pronunciadas; fala fluente, mas vazia; ou mudo.

- v. A Espontaneidade do Discurso (ADASCog 11) - este item classifica o défice de linguagem expressiva, avaliando apenas a dificuldade em encontrar palavras e se

perante tal recorre à circunlocução, ou seja, optando por frases explicativas ou sinónimos quase satisfatórios.

Pontuação:

0 = nenhuma evidência de dificuldade em encontrar palavras na fala espontânea;  
1 = dificuldade muito ligeira - 1 ou 2 ocorrências, não clinicamente significativas;  
2 = dificuldade ligeira - circunlocução perceptível ou substituição por sinónimo;  
3 = dificuldade moderada - perda de palavras sem compensação;  
4 = dificuldade moderadamente grave perda frequente de palavras sem compensação;  
5 = dificuldade grave - perda quase total do conteúdo das palavras; a fala soa vazia; Declarações de 1 a 2 palavras.

- vi. A compreensão do Discurso (ADASCog 12) - este item avalia a capacidade do indivíduo compreender o que lhe está a ser dito.

Pontuação:

0 = compreensão total, o indivíduo entende;  
1 = dificuldade subtil- um ou dois casos de má compreensão;  
2 = dificuldade ligeira: 3-5 casos de má compreensão;  
3 = dificuldade moderada: requer várias repetições e reformulações;  
4 = dificuldade moderadamente grave: o indivíduo apenas ocasionalmente responde corretamente;  
5 = dificuldade grave: o indivíduo raramente responde às perguntas de forma adequada e não devido à pobreza de linguagem.

- vii. O Cancelamento Numérico (ADASCog 14) - nesta tarefa, o indivíduo é solicitado a procurar e a riscar (“cancelar”) o máximo de dígitos possíveis que geralmente estão entre estímulos distratores, tendo 45 segundos para o fazer. O número de alvos cancelados e sua localização podem ser usados para diagnosticar o síndrome da negligência.

Pontuação:

0= cancelamento >23  
1= cancelamento 18-22  
2 = cancelamento 13-17  
3 =cancelamento 9-12  
4=cancelamento 5-8  
5=cancelamento 0-4

- **Função visuoespacial**- foi utilizado o teste do desenho do relógio. Este é um teste de habilidade de construção que tem dois componentes: uma componente de comando, em que o participante desenha um relógio por instruções verbais, e uma componente de cópia, em que o participante copia um modelo de relógio. São avaliadas a ordem de execução do desenho, a sua aparência geral, as suas proporções, as assimetrias entre os números, a ordem dos números, o espaçamento entre eles e a colocação dos ponteiros. Os desenhos do relógio em ambas as

condições de comando e cópia são pontuados da mesma maneira, tendo sido considerada a pontuação total quantificada de 0 a 5. A pontuação 0 corresponde à incapacidade para a construção de um relógio e, a pontuação máxima de 5 corresponde a um relógio perfeito.

- **Nomeação** - para a análise desta função superior recorreu-se ao *Boston Naming test*. Trata-se de uma medida da capacidade de rotular oralmente (nomear) 30 desenhos. Os objetos são apresentados em ordem de frequência, dos objetos mais comuns (por exemplo, cama) para os menos frequentes (por exemplo, transferidor). Este teste é sensível a afasia e também a défices no reconhecimento de objetos. Neste estudo considerou-se a pontuação total, qualificada entre 0 e 30, que engloba o número de itens que são nomeados corretamente sem pistas semânticas mais o número de itens nomeados corretamente após uma dica/estímulo, caso esta tenha de ser dada.
- **Fluência semântica** – foi estudada a performance no *Categorical Fluency Test*. Neste teste o participante é solicitado a nomear diferentes exemplos de uma determinada categoria semântica. Neste estudo considerou-se a semântica “animais” sendo que a pontuação corresponde ao número total de nomes de animais corretos produzidos dentro do limite de tempo de um minuto. Desta forma, a pontuação definida pelo teste oscila de 0 a 77.
- **Atenção** – foi aplicado o *Trail Making Test Part A*, que consiste em 25 círculos numerados de 1 a 25 distribuídos sobre uma folha branca. O participante é instruído a conectar os círculos com uma linha desenhada o mais rápido possível em ordem numérica crescente. Desta forma são avaliadas a velocidade de processamento, a atenção e a função executiva.  
O tempo é contabilizado e interrompido assim que o doente termina de conectar todos os círculos ou quando se atinge o tempo máximo admitido para o exame, isto é, ao fim de 150 segundos. Assim, a pontuação oscila de 0 a 150 e tem uma relação inversa com a capacidade cognitiva.
- **Velocidade de processamento**- foram estudadas as prestações no *Trail Making Test Part B*. A Parte B também consiste em 25 círculos, mas esses círculos contêm números (1 a 13) ou letras. O participante deve conectar os círculos enquanto alterna entre os números e letras em ordem crescente. Para além da habilidade visuomotora e da adequada percepção, este exame depende também da flexibilidade cognitiva na

mudança de conjuntos de números para conjuntos de letras sob a pressão da passagem do tempo.

Tal como no *Trail Making Test Part A*, também foi considerado o número total de segundos necessários para concluir a Parte B, até um máximo de 300 segundos. Se o exame não terminar em 300 segundos a pontuação considerada é 300.

- **Memória a curto prazo (de trabalho)** - o *Logical Memory Test – Immediate Recall* avalia a capacidade de lembrar uma curta passagem ou história. O examinador lê a história para o participante em uma voz clara. Imediatamente após ouvir a história, o participante é convidado a recontar a história. As frases e palavras da história encontram-se separadas por passagens que são tratadas como itens (ou unidades), sendo que cada item repetido corretamente vale um ponto, totalizando um máximo de 25 pontos.
- **Memória de longo prazo**- foi estudada a pontuação do *Logical Memory Test - Delayed Recall*. Este teste avalia a capacidade de lembrar uma pequena passagem ou história. O examinador lê a história para o participante numa voz clara e, 30 minutos depois o participante é convidado a recontar a história. A pontuação é a mesma aplicada ao exame da memória a curto prazo variando de 0 a 25 pontos.
- **Memória episódica** – foram analisadas as prestações dos indivíduos no *Rey Auditory Verbal Learning Test (AVLT)*. Este teste de memória episódica avalia a capacidade de adquirir 15 palavras em cinco tentativas de aprendizagem imediata, de lembrar as palavras imediatamente após uma lista de interferência intermediária e de lembrar e reconhecer as palavras após um intervalo de atraso de 30 minutos. Para o presente estudo foi considerada a prestação na memória da lista após 30 minutos de teste interpolado (cronometrado a partir da conclusão da recordação da lista), sendo o participante solicitado a relembrar o máximo de palavras dessa lista. A pontuação deste teste corresponde ao total de palavras relembradas da lista de 15 itens e, como tal varia de 0 a 15.

A descrição individual de cada teste encontra-se extensivamente detalhada no site da ADNI.

## 4. Análise Estatística

Os dados demográficos e cognitivos do presente estudo foram analisados no *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), (versão 28.0).

A distribuição normal foi avaliada por meio da análise de histogramas. Recorreu-se ao teste *Chi-Squared* ( $\chi^2$ ) para analisar as variáveis categóricas (o género, a pontuação no CDR, bem como a clareza, espontaneidade e compreensão do discurso). Após a aplicação do teste  $\chi^2$  procedeu-se ao *Post-Hoc* para revelar as diferenças específicas entre os três grupos para cada variável categórica. Tais resultados *Post-Hoc* foram obtidos através da comparação dos valores  $p$  - (resultantes da multiplicação dos resíduos ajustados por si, seguida da aplicação da fórmula de significância *Sig. Chrisq* )- ao valor  $p$  obtido pela correção de Bonferroni. Foram consideradas haver diferenças estatisticamente significativas entre os grupos naqueles cujos valores  $p$  obtidos por este método fossem iguais ou inferiores ao valor corrigido.

Na presente investigação foi analisado o One Way ANOVA para a estatística inferencial de variáveis numéricas (como a idade, os anos de educação e as pontuações nos restantes exames cognitivos). Seguidamente, foi realizada a análise *Post-Hoc Games-Howell* para revelar a fonte da diferença no ANOVA.

Procedeu-se à construção de modelos de regressão linear e ordinal (para *outcomes* contínuos ou ordinais, respetivamente) considerando o fator “grupo SNAP” como preditor, em análise simples ou múltipla, esta última controlando para os potenciais confundidores género, idade e anos de escolaridade.

As diferenças entre as variáveis foram consideradas estatisticamente significativas quando  $p < 0,05$ , com correção de Bonferroni para comparações múltiplas.

## **5. Considerações Éticas**

Todos os procedimentos realizados neste estudo, envolvendo os participantes humanos, estavam de acordo com os padrões éticos do comitê de pesquisa institucional e/ou nacional e com a Declaração de Helsínquia de 1964, bem como a par das suas alterações posteriores ou padrões éticos comparáveis. O consentimento informado, por escrito, foi obtido de todos os participantes e/ou representantes autorizados e parceiros do estudo, antes que quaisquer procedimentos específicos do protocolo fossem realizados no estudo ADNI.

---

## **Capítulo III - Apresentação dos Resultados**

A Tabela 2 sintetiza os resultados do estudo, a seguir à qual se detalha a comparação entre grupos.

Tabela 2 - Características Demográficas e Cognitivas das três populações em estudo

	n CN (%)	n SNAP (%)	n DA (%)	ANOVA		
				F/ $\chi^2$	p-value	$\eta^2$
<b>Biomarcadores do Líquor</b>						
A $\beta$ <sub>1-42</sub> (pg/ml)	237.68±25.53	236.21±27.13	138.17±24.44	3108.80	<0.001	0.787
Tau fosforilada (pg/ml)	17.50±3.37	33.91±10.44	45.76±24.63	288.02	<0.001	0.255
Tau total (pg/ml)	50.45 ±14.46	72.57 ±31.05	106.34±57.57	212.43	<0.001	0.202
<b>Demográficas</b>						
Número	<b>375</b>	<b>295</b>	<b>1012</b>	----	----	----
Homens	192 (55.7%)	144 (50.9%)	556 (58.4%)	5.13	0.077	0.033
Idade (anos)	73.63 ± 7.89	71.99 ± 8.09	72.86 ± 7.19	3.51	0.030	0.005
Educação (anos)	15.97 ± 2.79	16.47 ± 2.61	15.89 ± 2.84	4.64	0.010	0.006
APOE4	50 (13.33%)	58 (19.66%)	639 (63.15%)	381.18	<0.001	0.452
<b>Status mental geral</b>						
MMSE	28.46 ± 1.56	28.49 ±1.80	26.82 ± 2.69	101.01	<0.001	0.107
CDR	0.28 ± 0.26	0.24 ± 0.27	0.46 ± 0.29	193.87	<0.001	0.294
<b>Orientação</b>						
ADAS-Cog7 (orientação)	0.26 ± 0.62	0.26±0.77	1.42 ± 1.93	110.01	<0.001	0.116
<b>Memória</b>						
WMS- LM Imediata	11.19 ± 3.90	12.54 ± 4.11	8.33 ± 4.62	133.10	<0.001	0.137
WMS- LM longo prazo	9.26 ± 4.13	10.99 ± 4.78	5.86 ± 4.93	166.11	<0.001	0.165
AVLT 30min	6.10 ± 3.66	6.64 ± 3.88	2.82 ± 3.35	202.54	<0.001	0.195
<b>Função visuo-espacial</b>						
Teste do relógio	4.59 ± 0.68	4.59 ± 0.69	4.14 ± 1.10	43.72	<0.001	0.050
<b>Linguagem</b>						
Nomeação (Boston Naming test)	27.46 ± 2.62	27.30 ± 3.70	25.69 ± 4.58	34.90	<0.001	0.040
ADAS-Cog10 (clareza do discurso)	0.05 ± 0.33	0.03 ± 0.22	0.22 ± 0.63	58.21	<0.001	0.170
ADAS-Cog11 (espontaneidade do discurso)	0.16 ± 0.47	0.14±0.44	0.47 ± 0.87	80.40	<0.001	0.199
ADAS-Cog12 (compreensão do discurso)	0.08 ± 0.40	0.06 ± 0.23	0.23 ± 0.65	42.80	<0.001	0.140
Fluência verbal	18.67 ± 4.80	19.58 ± 5.08	15.35 ± 5.40	105.47	<0.001	0.112
<b>Atenção</b>						
ADAS-Cog14 (cancelamento de n <sup>o</sup> )	0.42 ± 0.87	0.44 ± 0.80	1.18 ± 1.27	86.18	<0.001	0.094
TMT-part A	35.66 ± 13.66	35.26 ±11.72	50.73 ± 26.12	98.25	<0.001	0.105
<b>Função executiva</b>						
TMT-part B	90.30 ± 41.55	88.24 ± 43.59	142.97 ± 69.92	157.52	<0.001	0.159
ADAS-Cog3 (Praxis de construção)	0.46 ± 0.53	0.41 ± 0.56	0.63 ± 0.72	18.15	<0.001	0.021
ADAS-Cog6 (Praxis ideacional)	0.07 ± 0.27	0.05 ± 0.24	0.26 ± 0.64	28.24	<0.001	0.033

Os dados estão apresentados em médias ± desvio padrão ou em números (percentagens). Abreviaturas: CN, controlo normal; SNAP, Suspected-Non-Alzheimer's Pathophysiology; DA, Doença de Alzheimer; MMSE, Mini Mental State Examination; CDR, Clinical Dementia Rating ; ADAS-Cog, Alzheimer's Disease Assessment Scale – Cognitive; WMS-LM, Wechsler Memory Scale Logical Memory ; AVLT, Rey Auditory Verbal Learning Test; TMT, Trail Making test.

A amostra do estudo foi constituída por 1012 indivíduos com DA, 295 indivíduos SNAP e 375 indivíduos CN - grupos definidos em função da quantificação dos biomarcadores no LCR conforme explicitado anteriormente.

Relativamente aos níveis de proteína T-Tau, figura 3, as médias do teor desta proteína identificável no LCR destes participantes foram as seguintes: no CN a média foi  $50.45 \pm 14.46$ , no grupo SNAP foi de  $72.57 \pm 31.05$  e, no grupo DA  $106.34 \pm 57.57$  (95% de IC para as médias). Identificam-se diferenças estatísticas significativas quanto à composição de proteína T-Tau no LCR em função das três populações do estudo  $F(2,1679) = 212.43$ ,  $p < 0.001$ . O teste *Post-Hoc de Games-Howell* revelou haver diferenças estatisticamente significativas entre os três grupos ( $p < 0.001$ ).

Relativamente aos níveis de proteína P-Tau, figura 3, as médias desta proteína no LCR foram as seguintes: no grupo CN a média foi  $17.50 \pm 3.37$ , no grupo SNAP foi de  $33.91 \pm 10.44$  e, no grupo DA  $45.76 \pm 24.63$  (95% de IC para as médias). Verificam-se diferenças estatisticamente significativas nos níveis de P-Tau em função das três populações do estudo,  $F(2,1679) = 288.02$ ,  $p < 0.001$ . O teste *Post-Hoc de Games-Howell* revelou haver diferenças estatisticamente significativas entre os três grupos ( $p < 0.001$ ).

Quanto à quantificação de  $A\beta$  no LCR, figura 3, as médias da proteína por grupo foram: no CN  $237.68 \pm 25.53$ , no grupo SNAP  $236.21 \pm 27.13$  e, no grupo DA  $138.17 \pm 24.44$  (95% de IC para as médias). Verificam-se diferenças estatisticamente significativas quanto à composição de proteína  $A\beta$  no LCR em função das três populações do estudo,  $F(2,1679) = 3108.802$ ,  $p < 0.001$ . Aplicando o teste *Post-Hoc de Games-Howell* foram identificadas diferenças estatísticas entre os três grupos ( $p < 0.001$ ).

Em relação à positividade ao gene ApoE4, figura 3, o grupo CN apresenta a maior proporção de indivíduos com ausência do gene ApoE4 ( $p < 0.001$ ). Também os indivíduos SNAP apresentam uma proporção indivíduos com ausência do gene ApoE4 superior à  $H_0$  ( $p < 0.001$ ). Enquanto o grupo DA, tem uma menor proporção de indivíduos sem alelos ApoE4, distanciando-se significativamente da  $H_0$  ( $p < 0.001$ ). O grupo SNAP apresenta uma proporção de indivíduos ApoE4 heterozigóticos superior ao CN ( $p < 0.001$ ). Além disso, destaca-se que não se identificaram indivíduos CN, nem indivíduos SNAP, em homozigotia para o gene ApoE4, ( $p < 0.001$ ). Finalmente, o grupo DA apresenta a maior proporção de indivíduos heterozigóticos e homozigóticos em percentagens que superam a  $H_0$  ( $p < 0.001$ ).

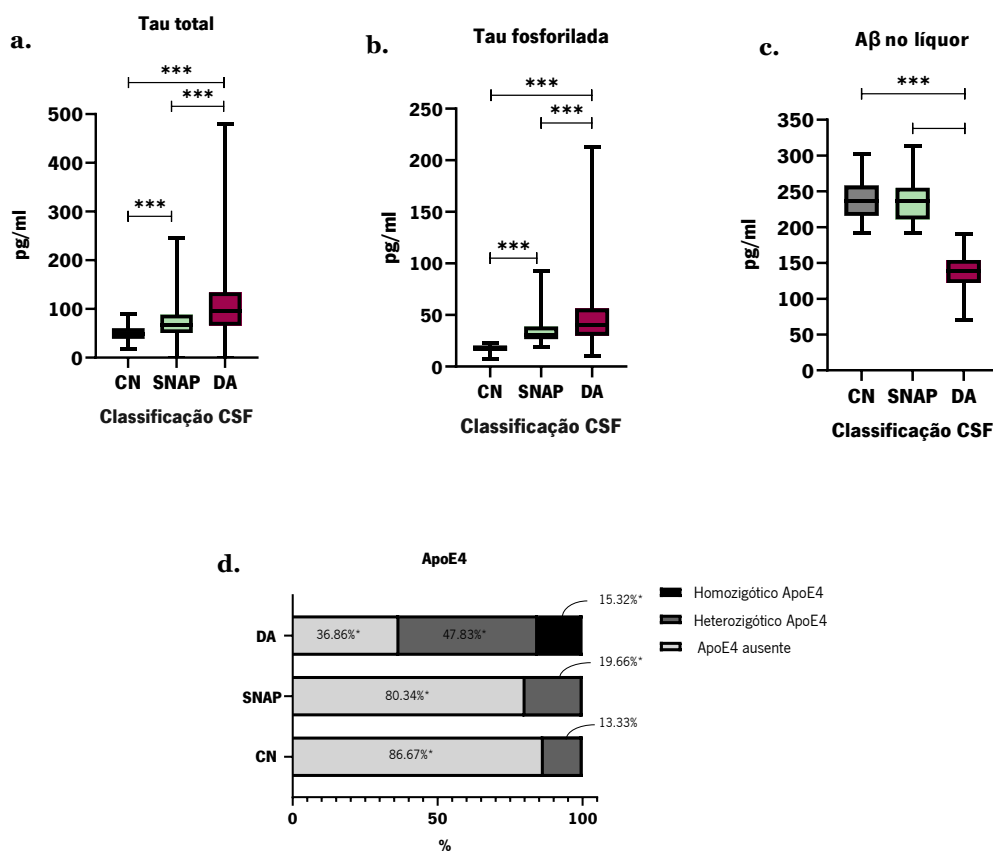


Figura 3| **a.** Comparação dos níveis de proteína Tau total no LCR. No grupo CN a média foi  $50.45 \pm 14.46$ , no grupo SNAP foi de  $72.57 \pm 31.05$  e, no grupo DA  $106.34 \pm 57.57$  (95% de IC para as médias),  $F(2,1679) = 212.43$ , \*\*\*  $p < 0.001$  em *post-hoc Games-Howell*. **b.** Comparação dos níveis de proteína Tau fosforilada no LCR. No grupo CN a média foi  $17.50 \pm 3.37$ , no grupo SNAP foi de  $33.91 \pm 10.44$  e, no grupo DA  $45.76 \pm 24.63$  (95% de IC para as médias),  $F(2,1679) = 288.02$ , \*\*\*  $p < 0.001$  em *post-hoc Games-Howell*. **c.** Comparação dos níveis de proteína Aβ no LCR. No grupo CN a média foi  $237.68 \pm 25.53$ , no grupo SNAP foi de  $236.21 \pm 27.13$  e, no grupo DA  $138.17 \pm 24.44$  (95% de IC para as médias),  $F(2,1679) = 3108.802$ , \*\*\*  $p < 0.001$  em *post-hoc Games-Howell*. **d.** Comparação das percentagens de positividade ao alelo ApoE4 nos três grupos de estudo. Verifica-se uma associação significativa entre as três populações,  $X^2(4) = 381.18$ ,  $p < 0.001$ .  $H_0$  (ApoE4 ausente) = 55.6 %,  $H_0$  (heterozigótico para ApoE4) = 35.2 %,  $H_0$  (homozigótico para ApoE4) = 9.2 %, \*\*\* ( $p < 0.001$ ).

Relativamente ao género, as percentagens de indivíduos do sexo masculino, figura 4, são 55.7% na população CN, 50.9% na população SNAP e 58.4% na população DA.

A idade média da população CN foi  $73.63 \pm 7.89$  anos, uma média de  $71.99 \pm 8.09$  anos na população SNAP e de  $72.86 \pm 7.86$  anos na população DA (figura 4). Verificam-se diferenças estatísticas significativas nas idades nos diferentes grupos,  $F(2,1529) = 3.505$ ,  $p < 0.05$ . Nos testes *Post-Hoc de Games-Howell* foram encontradas diferenças estatisticamente

significativas entre os grupos CN e SNAP, no qual a média de idades do grupo SNAP é significativamente menor à do grupo CN ( $p < 0.05$ ).

Relativamente aos anos de educação, o grupo SNAP apresenta uma média de  $16.47 \pm 2.61$  anos. A população CN apresentou uma média de  $15.97 \pm 2.79$  anos e a população DA  $15.89 \pm 2.84$ . Verificam-se diferenças estatisticamente significativas relativamente aos anos de educação nos grupos CN, SNAP e AD,  $F(2.1575) = 4.639$ ,  $p < 0.01$ . Nos testes *Post-Hoc de Games-Howell* foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos SNAP e DA, no qual a média de anos de escolaridade do grupo SNAP é estatisticamente superior à do grupo DA ( $P < 0.01$ ).

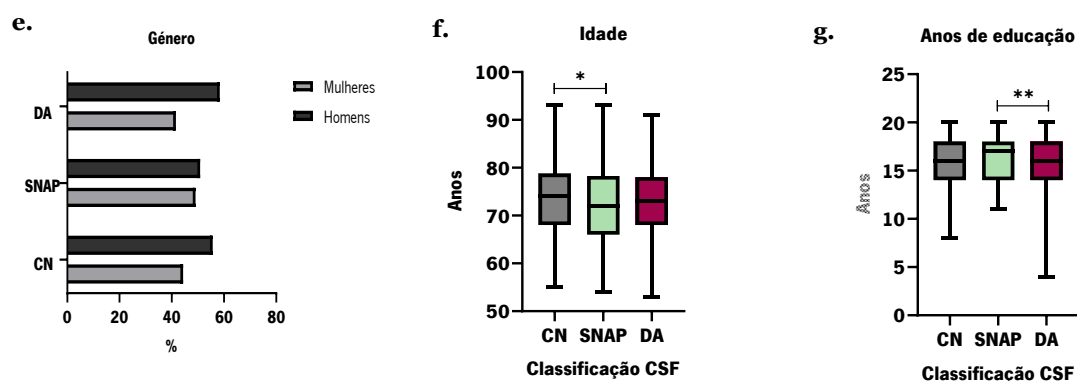


Figura 4 | e. Análise do género nas diferentes classificações CN, SNAP e DA. Não se verifica uma associação estatisticamente significativa entre as três populações e o género, ( $X^2(2) = 5.134$ ,  $P = 0.077$ ).  $H_0$  (homem) = 56.46% e  $H_0$  (mulher) = 43.54 %. f. Comparação da idade dos indivíduos CN, SNAP e DA. No grupo CN a média de idades foi  $73.63 \pm 7.89$ , no SNAP a média foi  $71.99 \pm 8.09$  e, na DA  $72.86 \pm 7.19$  (95% de IC para as médias),  $F(2.1529) = 3.505$ ,  $*p = 0.030$  em *post-hoc Games-Howell*. g. Comparação dos anos de educação nos indivíduos CN, SNAP e DA. No grupo CN a média de anos de escolaridade foi  $15.97 \pm 2.79$ , no SNAP a média foi  $16.47 \pm 2.61$  e, na DA  $15.89 \pm 2.84$  (95% de IC para as médias),  $F(2.1575) = 4.639$ ,  $**p = 0.010$  em *post-hoc Games-Howell*. | \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ .

Na performance dos indivíduos no *Mini Mental State Examination (MMSE)*, figura 5, obtiveram-se as seguintes médias das pontuações globais do teste: no CN uma média de  $28.46 \pm 1.56$  anos, na população SNAP uma média de  $28.49 \pm 1.80$  e, na população DA uma média de  $26.82 \pm 2.70$ . Verificam-se diferenças estatísticas significativas entre os grupos na prestação do *MMSE* em função das três populações do estudo  $F(2.1679) = 101.01$ , ( $p < 0.001$ ). Os testes *Post-Hoc de Games-Howell* não revelaram diferenças estatisticamente significativas entre o CN e a população SNAP ( $p = 0.976$ ). No entanto, no grupo DA a

pontuação *MMSE* é significativamente menor que nos grupos CN ( $p < 0.001$ ) e SNAP ( $p < 0.001$ ).

No *Clinical Dementia Rating* (CDR), figura 5, a população CN apresenta, de igual forma aos SNAP, uma proporção de indivíduos “sem comprometimento cognitivo” superior à  $H_0$  ( $p < 0.001$ ), contudo verifica-se que o grupo SNAP apresenta a maior proporção de indivíduos “sem comprometimento cognitivo” ( $p < 0.001$ ). Pelo contrário, o grupo DA apresenta uma proporção significativamente menor ( $p < 0.001$ ) de indivíduos “sem comprometimento cognitivo”. Relativamente ao estado de “comprometimento cognitivo questionável” verifica-se que os indivíduos DA assumem uma proporção significativamente superior que a  $H_0$  ( $p < 0.001$ ), ao invés do grupo SNAP, cuja proporção é a que mais se distancia da  $H_0$  nesta categoria ( $p < 0.001$ ). O grupo DA apresenta uma proporção de indivíduos com “demência ligeira” significativamente superior a  $H_0$  ( $p < 0.001$ ), ao contrário do SNAP ( $p < 0.001$ ) e CN ( $p < 0.001$ ), cujas proporções se distanciam firmemente da  $H_0$ .

No estudo da orientação, *ADAS-Cog 7*, figura 5, a média de itens incorretos foi  $0.26 \pm 0.62$  para os CN, igualmente  $0.26 \pm 0.77$  para os SNAP e  $1.42 \pm 1.93$  para os DA. Verificam-se diferenças estatísticas significativas entre os grupos na Orientação (*ADASCog 7*), em função das três populações do estudo  $F(2.1674) = 110.01$ , ( $p < 0.001$ ). Os testes Post-Hoc de Games-Howell não revelaram diferenças estatisticamente significativas entre o CN e a população SNAP ( $p = 1.000$ ). No entanto, no grupo DA a pontuação no teste é significativamente menor que nos grupos CN ( $p < 0.001$ ) e SNAP ( $p < 0.001$ ).

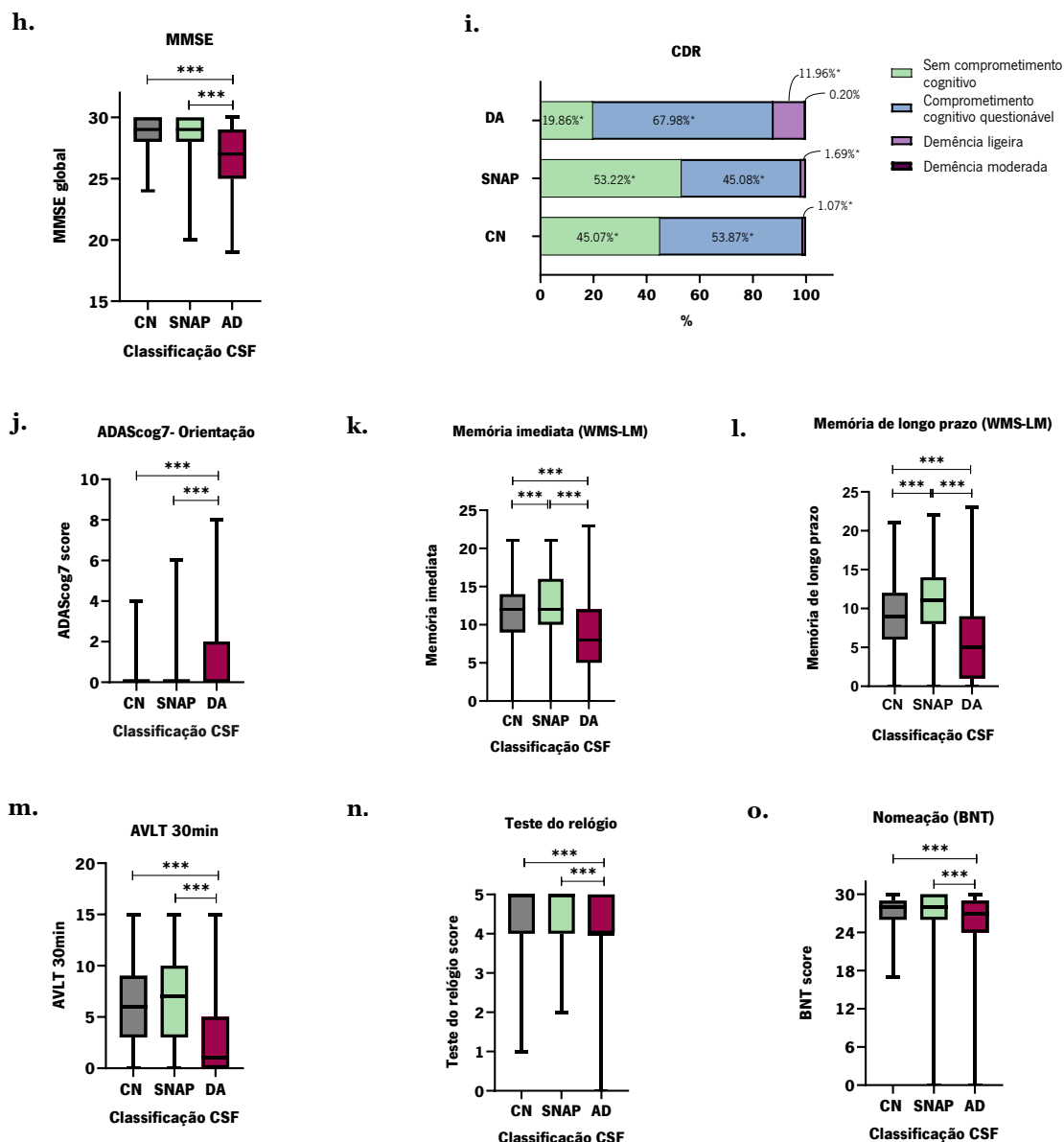


Figura 5 | **h.** Comparação da performance dos indivíduos CN, SNAP e DA no *Mini Mental State Examination*. Estão representadas as pontuações respectivas de cada grupo (pontuação total varia de 0 a 30). No grupo SNAP a média foi  $28.49 \pm 1.80$ , no CN a média foi  $28.46 \pm 1.56$  e, na DA  $26.82 \pm 2.70$  (95% de IC para as médias),  $F(2,1679) = 101.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  em post-hoc Games-Howell. **i.** *Clinical Dementia Rating* (CDR) e as classificações CN, SNAP e DA. Verifica-se uma associação significativa entre as três populações e o CDR, ( $\chi^2(6) = 193,87$ ,  $p < 0.001$ ).  $H_0$  (sem comprometimento cognitivo) = 31.33%,  $H_0$  (comprometimento cognitivo questionável) = 60.82%,  $H_0$  (demência ligeira) = 7.73% e  $H_0$  (demência moderada) = 0.12%, \*\*\*( $p < 0.001$ ). **j.** Comparação da performance dos indivíduos CN, SNAP e DA na *Orientação* (ADAScog 7). Estão representadas as pontuações respectivas de cada grupo (qualificada entre 0 a 8, tendo sido atribuído um ponto por cada resposta incorreta num total de 8 itens de avaliação). No grupo CN a média foi  $0.26 \pm 0.62$ , no grupo SNAP foi de  $0.26 \pm 0.77$  e, no grupo DA  $1.42 \pm 1.93$  (95% de IC para as médias),  $F(2,1674) = 110.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  em post-hoc Games-Howell. **k.** Comparação da performance dos indivíduos CN, SNAP e DA no teste da *Memória imediata* (Wechsler Memory Scale). Estão representadas as pontuações respectivas de cada grupo (qualificada entre 0 a 25). No grupo CN a média foi  $11.19 \pm 3.90$ , no grupo SNAP foi de  $12.54 \pm 4.11$  e, no grupo DA  $8.33 \pm 4.62$  (95% de IC para as médias),  $F(2,1678) = 133.10$ , \*\*\*  $p < 0.001$  em post-hoc Games-Howell. **l.** Comparação da performance dos indivíduos CN, SNAP e DA no teste da *Memória de longo prazo* (Wechsler Memory Scale). Estão representadas as pontuações respectivas de cada grupo (qualificada entre 0 a 25).

No grupo CN a média foi  $9.26 \pm 4.13$ , no grupo SNAP foi de  $10.99 \pm 4.78$  e, no grupo DA  $5.86 \pm 4.94$  (95% de IC para as médias),  $F(2.1678) = 166.11$ , \*\*\*  $p < 0.001$  em post-hoc Games-Howell. **m.** Comparação da performance dos indivíduos CN, SNAP e DA no teste da *Memória episódica*- Rey auditory verbal learning test 30 min (AVLT 30min). Estão representadas as pontuações respetivas de cada grupo (qualificada entre 0 a 15). No grupo CN a média foi  $6.10 \pm 3.66$ , no grupo SNAP foi de  $6.64 \pm 3.88$  e, no grupo DA  $2.82 \pm 3.35$  (95% de IC para as médias),  $F(2.1670) = 202.54$ , \*\*\*  $p < 0.001$  em post-hoc Games-Howell. **n.** Comparação da performance dos indivíduos CN, SNAP e DA no *Teste do relógio*. Estão representadas as pontuações respetivas de cada grupo (pontuação total varia de 0 a 5). No grupo CN a média foi  $4.59 \pm 0.68$ , no grupo SNAP foi de  $4.59 \pm 0.69$  e, no grupo DA  $4.14 \pm 1.10$  (95% de IC para as médias),  $F(2.1678) = 43.72$ , \*\*\*  $p < 0.001$  em post-hoc Games-Howell. **o.** Comparação da performance dos indivíduos CN, SNAP e DA no *Teste da Nomeação (Boston Naming Test)*. Estão representadas as pontuações respetivas de cada grupo (qualificada entre 0 a 30). No grupo CN a média foi  $27.46 \pm 2.62$ , no grupo SNAP foi de  $27.30 \pm 3.66$  e, no grupo DA  $25.69 \pm 4.58$  (95% de IC para as médias),  $F(2.1675) = 34.90$ , \*\*\*  $p < 0.001$  em post-hoc Games-Howell.

No exame da *Memória imediata (Wechsler Memory Scale)*, figura 5, obtiveram-se as seguintes pontuações: no grupo CN a média foi  $11.19 \pm 3.90$ , no grupo SNAP foi de  $12.54 \pm 4.11$  e, no grupo DA  $8.33 \pm 4.62$  (95% de IC para as médias). Verificam-se diferenças estatísticas significativas entre os grupos na prestação do teste em função das três populações do estudo  $F(2.1678) = 133.10$ , ( $p < 0.001$ ). Os testes Post-Hoc de Games-Howell revelaram diferenças estatísticas significativas entre as três populações de estudo, ( $p < 0.001$ ).

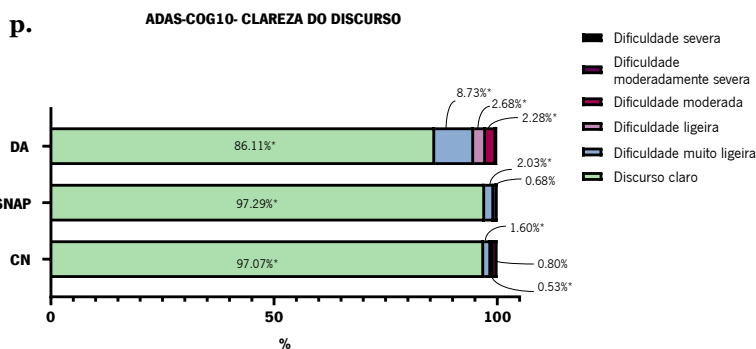
No estudo da *Memória longo prazo (Wechsler Memory Scale)*, figura 5, o grupo CN obteve a média  $9.26 \pm 4.13$ , o grupo SNAP  $10.99 \pm 4.78$  e, o grupo DA  $5.86 \pm 4.94$  (95% de IC para as médias). Verificam-se diferenças estatísticas significativas entre os grupos,  $F(2.1678) = 166.11$  ( $p < 0.001$ ). Os testes Post-Hoc de Games-Howell revelaram diferenças estatísticas significativas entre as três populações, ( $p < 0.001$ ).

Quanto à memória episódica - *Rey auditory verbal learning test 30 min (AVLT 30 min)*, figura 5 - as pontuações dos três grupos foram as seguintes: CN a média foi  $6.10 \pm 3.66$ , no grupo SNAP foi de  $6.64 \pm 3.88$  e, no grupo DA  $2.82 \pm 3.35$  (95% de IC para as médias). Apontam-se diferenças estatísticas significativas entre os grupos na prestação do teste em função das três populações do estudo  $F(2.1670) = 202.54$ , ( $p < 0.001$ ). Os testes Post-Hoc de Games-Howell revelaram não ter diferenças estatisticamente significativas entre o CN e a população SNAP ( $P = 0.162$ ). No entanto, o grupo DA apresenta uma pontuação no teste significativamente menor que os grupos CN ( $P < 0.001$ ) e SNAP ( $p < 0.001$ ).

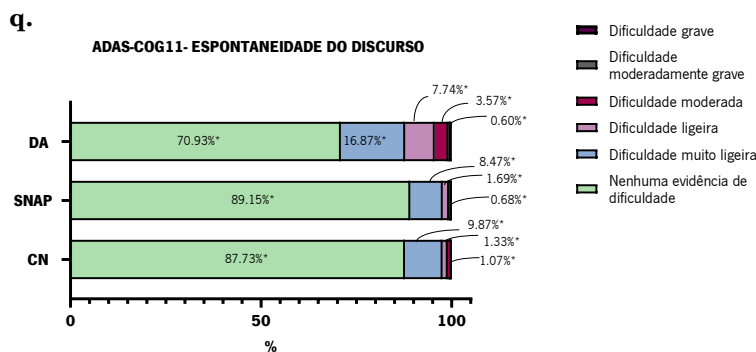
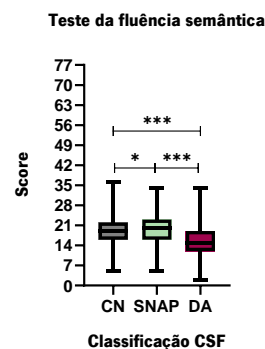
No *teste do relógio*, figura 5, as pontuações obtidas foram as seguintes: no grupo CN a média foi  $4.59 \pm 0.68$ , no grupo SNAP foi de  $4.59 \pm 0.69$  e, no grupo DA  $4.14 \pm 1.10$  (95% de IC para as médias). Verificam-se diferenças estatísticas significativas entre os grupos na prestação do exame  $F(2.1678) = 43.72$ , ( $p < 0.001$ ). Os testes Post-Hoc de Games-Howell não revelaram diferenças estatisticamente significativas entre o CN e a população SNAP ( $p$

=1.000). Pelo contrário, o grupo DA apresenta uma pontuação no teste significativamente menor que os grupos CN ( $p < 0.001$ ) e SNAP ( $p < 0.001$ ).

Relativamente ao *Teste da Nomeação (Boston Naming Test)*, figura 5, verificam-se diferenças estatísticas significativas entre os grupos na prestação do teste,  $F(2,1675) = 34.90$ , ( $p < 0.001$ ). Os testes Post-Hoc de Games-Howell não revelaram diferenças estatisticamente significativas entre o CN e a população SNAP ( $p = 0.816$ ). Contudo, no grupo DA a pontuação do teste foi significativamente menor que nos grupos CN ( $p < 0.001$ ) e SNAP ( $p < 0.001$ ).



S.



t.

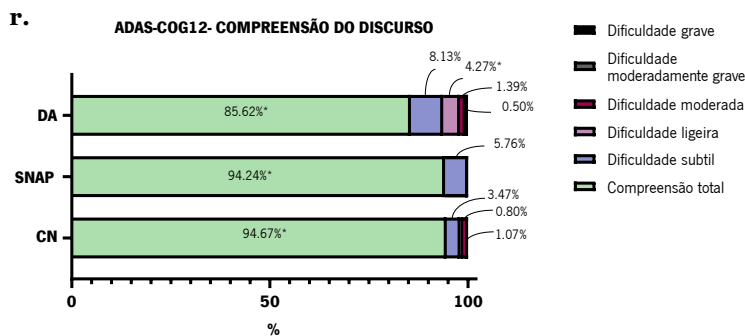
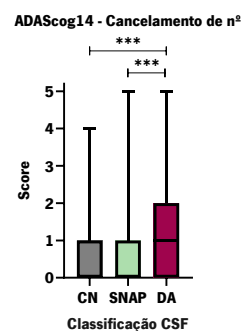


Figura 6| **p.** Avaliação da *Clareza do discurso* e as classificações CN, SNAP e DA. Verifica-se uma associação significativa entre as três populações e a clareza da linguagem falada, ( $X^2(10)= 58,21, p<0.001$ ).  $H_0$  (discurso claro) = 90.5%,  $H_0$  (dificuldade muito ligeira) =5.95%,  $H_0$  (dificuldade ligeira) =1.85%,  $H_0$  (dificuldade moderada) =1.55%,  $H_0$  (dificuldade moderadamente severa) =0.06% e  $H_0$  (dificuldade severa) =0.06%, \*\*\*( $p <0.001$ ). **q.** Avaliação da *Espontaneidade do discurso* e as classificações CN, SNAP e DA. Verifica-se uma associação significativa entre as três populações e a fluidez do discurso, ( $X^2(10)= 80.40, p <0.001$ ).  $H_0$  (nenhuma evidência de dificuldade) =77.89 %,  $H_0$  (dificuldade muito ligeira) =13.83 %,  $H_0$  (dificuldade ligeira com circunlóquio perceptível) = 5.24%,  $H_0$  (dificuldade moderada) =2.50 %,  $H_0$  (dificuldade moderadamente grave) = 0.36 % e  $H_0$  (dificuldade grave) = 0.18%, \*\*\* $p <0.001$ . **r.** Avaliação da *Compreensão do discurso* e as classificações CN, SNAP e DA. Verifica-se uma associação significativa entre as três populações e a compreensão do discurso, ( $X^2(10)= 42.80, p <0.001$ ).  $H_0$  (compreensão totalmente preservada) = 89.15%,  $H_0$  (compreensão com dificuldade sutil) = 6.67%,  $H_0$ (dificuldade ligeira) = 2.74%,  $H_0$ (dificuldade moderada) = 1.07%,  $H_0$  (dificuldade moderadamente grave) = 0.30 %,  $H_0$  (dificuldade grave) = 0.06%, \*\*\*( $p <0.001$ ). **s.** Comparação da performance dos indivíduos CN, SNAP e DA no teste da *Fluência semântica na categoria “animais” (Categorical fluency test)*. Estão representadas as pontuações respectivas de cada grupo (qualificada entre 0 a 77). No grupo CN a média foi  $18.67 \pm 4.80$ , no grupo SNAP foi de  $19.58 \pm 5.08$  e, no grupo DA  $15.35 \pm 5.40$  (95% de IC para as médias),  $F(2,1679) =105.47, *** p < 0.001$  em *post-hoc Games-Howell*. **t.** Comparação da performance dos indivíduos CN, SNAP e DA no *Cancelamento numérico (ADAScog 14)*. Estão representadas as pontuações respectivas de cada grupo (qualificada entre 0 e 5). No grupo CN a média foi  $0.47 \pm 0.74$ , no grupo SNAP foi de  $0.44 \pm 0.80$  e, no grupo DA  $1.18 \pm 1.27$  (95% de IC para as médias),  $F(2,1663) = 86.18, *** p < 0.001$  em *post-hoc Games-Howell*.

Quanto à prestação dos três grupos no teste *ADAS-Cog10- Clareza do discurso*, figura 6, o grupo CN apresenta uma proporção de indivíduos com “discurso claro” significativamente superior à  $H_0$  ( $p <0.001$ ), assim como os SNAP ( $p <0.001$ ). Ao passo que os indivíduos DA têm uma menor proporção nesta categoria, distanciando-se significativamente da  $H_0$  ( $p < 0.001$ ). O grupo DA apresenta a maior proporção de indivíduos com “dificuldade muito ligeira” ( $p <0.001$ ). Contrariamente, os SNAP e os CN, apresentam uma proporção significativamente menor da  $H_0$  ( $p <0.001$  em ambos) nesta categoria, destacando-se que há subtilmente mais indivíduos SNAP com “dificuldade muito ligeira” ( $p <0.01$ ) comparativamente aos CN. Finalmente, o grupo DA apresenta a maior proporção de indivíduos com discurso com “dificuldade ligeira” significativamente superior à  $H_0$  ( $p <0.001$ ).

No *ADAS-cog11- Espontaneidade do discurso*, figura 6, o grupo CN e o grupo SNAP apresentam uma proporção de indivíduos com discurso “sem nenhuma evidência de dificuldade” superior à  $H_0$  ( $p <0.001$  em ambos). Enquanto os indivíduos DA apresentam uma menor proporção nesta categoria distanciando-se significativamente da  $H_0$  ( $p <0.001$ ). O grupo DA apresenta a maior proporção de indivíduos com “dificuldade muito ligeira” ( $p <0.001$ ), enquanto os grupos CN e SNAP, apresentam uma proporção significativamente menor da  $H_0$  ( $p <0.001$  em ambos). Finalmente, o grupo DA é o que apresenta maior proporção de indivíduos com discurso com “dificuldade ligeira” (circunlóquio perceptível ou substituição por sinônimo), ( $p <0.001$ ), assim como, é o grupo com a maior proporção de indivíduos com discurso com “dificuldade moderada” ( $p <0.001$ ).

No *ADAS-Cog12- Compreensão do discurso*, figura 6, o grupo CN apresenta a maior proporção de indivíduos com “compreensão total” do discurso ( $p < 0.001$ ). Também os indivíduos SNAP representam esta categoria numa proporção superior à  $H_0$  ( $p < 0.001$ ). Enquanto o grupo DA apresenta uma proporção inferior na qualidade de “compreensão total”, distanciando-se significativamente da  $H_0$  ( $p < 0.001$ ). De esta forma, destaca-se que não se identificaram indivíduos SNAP com “dificuldade ligeira”, ( $p < 0.001$ ). Finalmente, o grupo DA apresenta a maior proporção de indivíduos com “dificuldade ligeira” ( $p < 0.001$ ).

Quanto à avaliação da *Fluência semântica na categoria “animais” (Categorical fluency test)*, figura 6, obtiveram-se as seguintes pontuações: no grupo CN a média foi  $18.67 \pm 4.80$ , no grupo SNAP foi de  $19.58 \pm 5.08$  e, no grupo DA  $15.35 \pm 5.40$  (95% de IC para as médias). Verificam-se diferenças estatísticas significativas entre os grupos na prestação do teste,  $F(2.1679) = 105.47$ , ( $p < 0.001$ ). Os testes *Post-Hoc de Games-Howell* revelaram diferenças estatisticamente significativas entre o CN e a população SNAP ( $p < 0.05$ ), assim como entre o grupo DA e os restantes grupos CN ( $p < 0.001$ ) e SNAP ( $p < 0.001$ ).

Na performance do teste *ADAS-Cog14 - Cancelamento numérico*, figura 6, obtiveram-se as seguintes pontuações: no grupo CN a média foi  $0.47 \pm 0.74$ , no grupo SNAP foi de  $0.44 \pm 0.80$  e, no grupo DA  $1.18 \pm 1.27$  (95% de IC para as médias). Destacam-se diferenças estatísticas significativas entre os grupos em função das três populações do estudo  $F(2.1663) = 86.18$ , ( $p < 0.001$ ). Os testes *Post-Hoc de Games-Howell* não revelaram diferenças estatisticamente significativas entre o CN e a população SNAP ( $p = 0.859$ ). No entanto, no grupo DA a pontuação do teste foi significativamente menor que nos grupos CN ( $P < 0.001$ ) e SNAP ( $P < 0.001$ ).

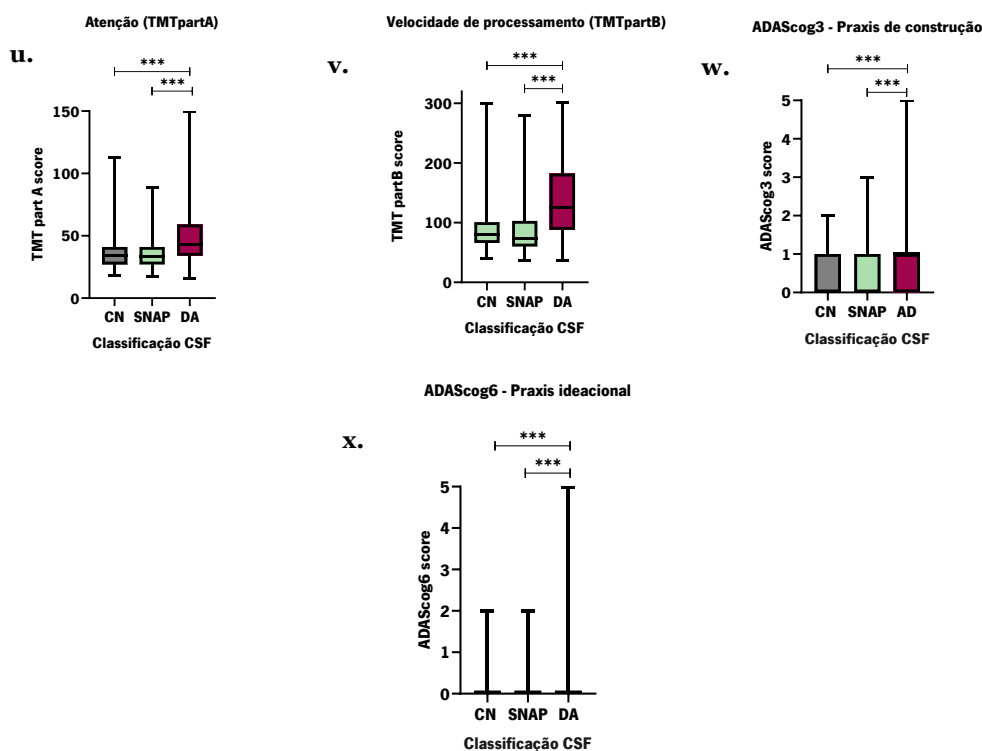


Figura 7| **u.** Comparação da performance dos indivíduos CN, SNAP e DA no teste da Atenção- Trail Making Test Part A (TMT-part A). Estão representadas as pontuações respectivas de cada grupo (qualificada entre 0 a 150 segundos). No grupo CN a média foi  $35.66 \pm 13.66$ , no grupo SNAP foi de  $35.26 \pm 11.72$  e, no grupo DA  $50.73 \pm 26.12$  (95% de IC para as médias),  $F(2.1677) = 98.25$ , \*\*\*  $p < 0.001$  em *post-hoc Games-Howell*. **v.** Comparação da performance dos indivíduos CN, SNAP e DA na avaliação da Velocidade de Processamento (TMT-part B). Estão representadas as pontuações respectivas de cada grupo (qualificada entre 0 a 300 segundos). No grupo CN a média foi  $90.34 \pm 41.55$ , no grupo SNAP foi de  $88.24 \pm 43.56$  e, no grupo DA  $142.97 \pm 69.92$  (95% de IC para as médias), estudo  $F(2.1664) = 157.59$ , \*\*\*  $p < 0.001$  em *post-hoc Games-Howell*. **w.** Comparação da performance dos indivíduos CN, SNAP e DA na Praxis de construção (ADAScog3). Estão representadas as pontuações respectivas de cada grupo (qualificada entre 0 a 5). No grupo CN a média foi  $0.46 \pm 0.53$ , no grupo SNAP foi de  $0.41 \pm 0.56$  e, no grupo DA  $0.63 \pm 0.72$  (95% de IC para as médias),  $F(2.1675) = 18.15$ , \*\*\*  $p < 0.001$  em *post-hoc Games-Howell*. **x.** Comparação da performance dos indivíduos CN, SNAP e DA na Praxis ideacional (ADAScog6). Estão representadas as pontuações respectivas de cada grupo (qualificada entre 0 a 5). No grupo CN a média foi  $0.07 \pm 0.27$ , no grupo SNAP foi de  $0.05 \pm 0.24$  e, no grupo DA  $0.26 \pm 0.64$  (95% de IC para as médias),  $F(2.1674) = 28.24$ , \*\*\*  $p < 0.001$  em *post-hoc Games-Howell*.

No teste da atenção *Trail Making Test- Part A (TMT-Part A)*, figura 7, os desempenhos foram os seguintes: no CN a média foi  $35.66 \pm 13.66$ , no grupo SNAP foi de  $35.26 \pm 11.72$  e, no grupo DA  $50.73 \pm 26.12$  (95% de IC para as médias). Verificam-se diferenças estatísticas significativas entre os grupos em função das três populações do estudo  $F(2.1677) = 98.25$ ,  $p < 0.001$ . Os testes *Post-Hoc de Games-Howell* não revelaram diferenças estatisticamente significativas entre o CN e a população SNAP ( $p = 0.912$ ). No entanto, no grupo DA a pontuação do teste foi significativamente menor que nos grupos CN ( $p < 0.001$ ) e SNAP ( $p < 0.001$ ).

Quanto ao exame de *Velocidade de Processamento (TMT-part B)*, figura 7, exibem-se os seguintes resultados: no CN a média foi  $90.34 \pm 41.55$ , no grupo SNAP foi de  $88.24 \pm 43.56$  e, no grupo DA  $142.97 \pm 69.92$  (95% de IC para as médias). Verificam-se diferenças estatísticas significativas entre os grupos na prestação da *Velocidade de Processamento (TMT-part B)*, em função das três populações do estudo  $F(2.1664) = 157.59$ ,  $p < 0.001$ . Nos testes *Post-Hoc de Games-Howell* não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre o CN e a população SNAP ( $p = 0.809$ ). No entanto, no grupo DA a pontuação no teste foi significativamente menor que nos grupos CN ( $p < 0.001$ ) e SNAP ( $p < 0.001$ ).

Relativamente à *Praxis de Construção (ADAS-Cog3)*, figura 7, as médias das pontuações foram as seguintes: grupo CN a média foi  $0.46 \pm 0.53$ , no grupo SNAP foi de  $0.41 \pm 0.56$  e, no grupo DA  $0.63 \pm 0.72$  (95% de IC para as médias). Verificam-se diferenças estatísticas significativas entre os grupos na *Praxis de Construção (ADASCog3)* em função das três populações do estudo  $F(2.1675) = 18.15$ , ( $p < 0.001$ ). Os testes *Post-Hoc de Games-Howell* revelaram não ter diferenças estatisticamente significativas entre o CN e a população SNAP ( $p = 0.529$ ). No entanto, no grupo DA a pontuação do teste foi significativamente menor que nos grupos CN ( $p < 0.001$ ) e SNAP ( $p < 0.001$ ).

No exame *Praxis Ideacional (ADASCog6)*, figura 7, os resultados obtidos foram os seguintes: grupo CN a média foi  $0.07 \pm 0.27$ , no grupo SNAP foi de  $0.05 \pm 0.24$  e, no grupo DA  $0.26 \pm 0.64$  (95% de IC para as médias). Verificam-se diferenças estatísticas significativas entre os grupos em função das três populações do estudo  $F(2.1674) = 28.24$ , ( $p < 0.001$ ). Os testes *Post-Hoc de Games-Howell* não revelaram diferenças estatisticamente significativas entre o CN e a população SNAP ( $p = 0.697$ ). No entanto, no grupo DA a pontuação do teste foi significativamente menor que nos grupos CN ( $p < 0.001$ ) e SNAP ( $p < 0.001$ ).

## 1. Regressão Linear e Ordinal

Inesperadamente, o grupo SNAP apresentou uma performance cognitiva significativamente melhor que o grupo CN nos seguintes testes: *MMSE*, *CDR*, *Memória Imediata (WMS-LM)*, *Memória de Longo Prazo (WMS-LM)*, *Nomeação (Boston Naming Test)*, *Clareza do Discurso (ADASCog10)*, *Espontaneidade do Discurso (ADASCog11)*, *Compreensão do Discurso (ADASCog12)*, *Fluência Semântica*, *Cancelamento de Números (ADASCog14)*, *Teste da Atenção (TMT-part A)*, *Velocidade de Processamento (TMT-part B)*, *Praxis de Construção (ADASCog3)* e *Praxis Ideacional (ADASCog6)*.

Admitindo-se a possibilidade das variáveis género, idade e educação serem possíveis confundidores dos resultados, procedeu-se à análise da regressão linear ou ordinal (conforme o teste cognitivo em análise), utilizando o fator “SNAP” como preditor, em análise univariada e multivariada com controlos para os possíveis confundidores supracitados (Tabela 3).

Tabela 3 - Grupo SNAP como preditor de performance cognitiva.

Variável dependente	Análise univariada		Análise multivariada (ajustada para o sexo, idade e anos de escolaridade)	
	$\beta$ [95% IC]	p	$\beta$ [95% IC]	p
MMSE	0.008 [-0.228 – 0.283]	0.832	-0.012 [-0.299 – 0.222]	0.771
WMS- LM Imediata	0.165 [0.734 – 1.953]	<0.001	0.168 [0.689 – 1.931]	< 0.001
WMS- LM longo prazo	0.191 [1.058 – 2.411]	<0.001	0.196 [1.003 – 2.370]	< 0.001
AVLT 30min	0.071[- 0.037 – 1.112]	0.067	0.012 [-0.509 – 0.685]	0.772
Nomeação (Boston naming test)	0.010 [-0.484 – 0.633]	0.794	0.006 [-0.567 – 0.652]	0.891
Clareza do discurso (ADAS-Cog10)#	-0.199 [-1.192 – 0.794]	0.694	-0.722 [-1.980 – 0.535]	0.260
Espontaneidade do discurso (ADAS-Cog11)#	0.175 [-0.319 – 0.670]	0.487	0.170 [-0.353 – 0.694]	0.487

Demographic and Cognitive Characterization of SNAP

Compreensão dos discurso (ADAS-Cog12)#	-0.132 [-0.834 – 0.570]	0.712	-0.132 [-0.834 – 0.570]	0.712
Fluência semântica	0.092 [0.159 – 1.664]	0.018	0.048 [-0.278 – 1.178]	0.225
ADAS-Cog14 (cancelamento de nº)	0.009 [-0.112 – 0.144]	0.807	-0.048 [-0.051 – 0.204]	0.237
TMT-part A	-0.015 [-2.362 – 1.562]	0.689	0.043 [-0.824 – 2.928 ]	0.271
TMT-part B	-0.024 [-8.549 – 4.430]	0.553	0.037 [-3.266 – 9.124]	0.353
ADAS-Cog3 (Praxis de construção)	-0.042 [-0.129 – 0.037]	0.278	-0.049 [-0.138 – 0.034]	0.237
ADAS-Cog6 (Praxis ideacional)	-0.031 [-0.055 – 0.023]	0.426	-0.015 [-0.048 – 0.033]	0.721

Coefficientes  $\beta$  e respetivos valores de p de modelos de regressão linear preditores das diferentes pontuações de avaliação cognitiva. São apresentados os parâmetros analíticos preditores univariados (grupo SNAP = 1 como variável independente, pontuação cognitiva como variável dependente) e multivariados para as mesmas pontuações cognitivas (grupo SNAP = 1 como variável independente, com controlo para o género, idade e anos de escolaridade). \*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001. IC, intervalo de confiança. #- variáveis categóricas.

A partir de esta última análise, pertencer ao grupo SNAP é preditor significativo univariado nos Testes da Memória Imediata, Memória de Longo Prazo e no Tteste da Fluência Semântica. Quando controlado para idade, género e anos de escolaridade, o valor preditor deixa de ser estatisticamente significativo, sugerindo que as diferenças iniciais (univariada) se deviam possivelmente ao efeito confundidor das restantes variáveis agora consideradas. Assim verifica-se que ser do grupo SNAP se mantem como preditor significativo nos testes da Memória Imediata e a de Longo Prazo, sugerindo que ou é realmente um fator que influencia esses resultados, ou que o efeito se deve a outros confundidores não avaliados.

A **idade** revelou ser um preditor significativo nos seguintes testes: *Rey Auditory Verbal Learning* (AVLT 30min), Teste da Atenção (*TMT-partA*), Teste da Velocidade de Processamento (*TMT-partB*), Teste de Cancelamento Numérico (*ADASCog14*) e Fluência Verbal.

A variável **anos de educação** foi preditor significativo nos seguintes testes: *TMT-partB* e *TMT-partA*, Teste da Praxis de Construção (*ADASCog3*), Memória Imediata e de Longo Prazo. Finalmente o **género** foi preditor significativo no Teste da Fluência Semântica e no Teste da Nomeação.

---

## **Capítulo IV - Discussão**

Ainda que o envolvimento da proteína Tau seja condição central da fisiopatologia SNAP, verificou-se que há uma acumulação de proteína Tau, quer total, quer fosforilada, na população DA e superior ao verificado na população SNAP (DA:  $\bar{x}$ P-Tau=45.76 pg/ml e  $\bar{x}$ T-Tau=106.34 pg/ml vs. SNAP:  $\bar{x}$ P-Tau= 33.91 pg/ml e  $\bar{x}$ T-Tau=72.57 pg/ml). Esse resultado é expectável, pois sabe-se que a A $\beta$  tem, indubitavelmente, um efeito deletério comportando-se como um “gatilho” para a disseminação e maior acúmulo de proteína Tau, do qual resulta um efeito sinérgico da coexistência de ambas proteínas na progressão do *continuum* da doença de Alzheimer (Bloom, 2014; He et al., 2018). Relativamente à concentração média de A $\beta$  quantificada no LCR, verifica-se que os grupos CN e SNAP contêm aproximadamente os mesmos valores,  $\bar{x}$ CN= 237.68  $\pm$  25.53 pg/ml e  $\bar{x}$ SNAP= 236.21  $\pm$  27.13 pg/ml, facto que sustenta a individualidade de SNAP enquanto condição A $\beta$  negativa.

Em termos demográficos conclui-se que SNAP não aparenta ter uma tendência de género. Esta amostra SNAP apresenta uma idade média ligeiramente inferior aos dois restantes grupos, bem como uma média de um ano de escolaridade superior aos CN e DA. Verificou-se que a positividade da isoforma *APOE\** $\epsilon$ 4 está menos representada na população SNAP, quando comparada à população DA. Há claramente uma proporção de indivíduos DA com o alelo *APOE\** $\epsilon$ 4, quer em homozigotia, quer em heterozigotia, muito superior aos grupos SNAP e CN. Estas observações são congruentes com o facto da presença de alelos *APOE\** $\epsilon$ 4 ser um importante fator de risco para patologia A $\beta$  (Morris et al., 2011; P. et al., 2010).

Constatou-se, de forma transversal em todos os exames cognitivos aplicados aos participantes neste estudo, que a condição neurológica SNAP parece não apresentar uma performance cognitiva tão severa quanto a DA, o que insinua o carácter menos sintomático desta entidade. Em concordância com esta conclusão, estudos prévios demonstraram que a amiloidose cerebral, um marcador patognomónico da fisiopatologia da DA e ausente na condição SNAP, é de facto um fator de risco para o declínio cognitivo e para a progressão de estágios pré-clínicos para estágios sintomáticos da DA (Rowe et al., 2013; Van Harten et al., 2013; Villemagne et al., 2011; Visser et al., 2009).

De forma inesperada, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre a população CN e SNAP, exceto nos testes de *Memória Imediata*, *Memória de Longo Prazo* e no *Teste de Fluência Semântica*, nos quais, surpreendentemente, o grupo SNAP obteve melhores pontuações que o CN. Tais resultados obrigaram à realização do cálculo de regressões lineares e ordinais para discernir possíveis confundidores (género, idade e anos de educação), que pudessem influenciar os resultados. Ainda assim, ser do grupo SNAP mostrou ser um preditor significativo na memória imediata

e de longo prazo. Apesar de aparentemente incongruente este padrão de resultados alinha-se com estudos anteriores, nos quais se verifica que a cognição dos grupos SNAP progride de forma semelhante aos grupos de controlo normal, em medidas de memória, função executiva, linguagem, atenção, cognição global, MMSE e CDR (Burnham et al., 2016; Vos et al., 2013). Como concluído nos estudos prévios supracitados, a neurodegeneração isolada não parece conferir um fator de risco estatisticamente diferente dos grupos sem amiloidose e sem neurodegeneração (CN) para o declínio cognitivo

Assumindo a possível existência de fatores confundidores neste estudo não avaliados e, estando ciente que os indivíduos SNAP incluídos neste estudo têm níveis de escolaridade elevados (o que poderá influenciar a performance cognitiva), conclui-se que SNAP constitui uma condição neurológica sem o impacto cognitivo deletério que a DA acarreta.

## 1. Conceito PART

Há um paralelismo indissociável e pertinente abordar entre SNAP e o conceito PART. Recentemente em 2014, Crary et al. propuseram um novo termo “Primary Age Related Tauopathy (PART)” para descrever uma patologia que é frequentemente observada em cérebros autopsiados de indivíduos idosos. O que mais intrigou John F. Crary, foi que um número exorbitante de cérebros autopsiados sem evidência de qualquer vestígio de placas A $\beta$  chegavam, para serem analisados, com o diagnóstico clínico clássico de Doença de Alzheimer. A única alteração patológica identificável nestes cérebros era a acumulação de emaranhados neurofibrilares hiperfosforilados insolúveis de proteína Tau no lobo temporal medial (NFT- neuronal fibrillary tangles). Como abordado anteriormente, a DA tem o mesmo padrão de acumulação de Tau e, mesmo em indivíduos “normais”, é natural identificarem-se emaranhados neurofibrilares de Tau na região hipocampal (Elobeid et al., 2012). No entanto, *o sui generis* da condição PART é a deposição anormalmente elevada de NFT sem a presença de placas A $\beta$  observada num amplo espectro de indivíduos - desde idosos cognitivamente normais a indivíduos com demência. Estes transtornos têm vindo a ser referidos como “tangle-predominant senile dementia” (TPSD), “tangle-only dementia”, entre outros termos (Crary et al., 2014).

Jellinger et al., em 2015, afirmam que claros paralelos existem entre SNAP e PART em diversas áreas. Em primeiro lugar, estima-se que PART se desenvolva em indivíduos idosos de idade avançada, enquanto SNAP é comumente identificável aos 65 anos. Em segundo lugar, em ambos o gene ApoE4 está sub-representado. Em terceiro lugar, o perfil cognitivo de SNAP e de PART compartilha algumas semelhanças e varia desde “sem comprometimento cognitivo” até “comprometimento cognitivo moderado”, com apenas uma minoria exibindo demência profunda. No entanto, a alta prevalência de doenças cerebrais comórbidas em idosos tornam as correlações cognitivas desafiadoras nesta população e todo o espectro clínico-patológico de PART ainda não foi caracterizado sistematicamente (Crary et al., 2014). Ainda assim, a investigação científica cresce nesse sentido, e é um facto que um subconjunto de indivíduos PART apresentava, retrospectivamente, um comprometimento clínico severo na ausência de qualquer outro substrato reconhecível para a demência (Hickman et al., 2020).

Embora a experiência de autópsia seja naturalmente impossível de realizar nos SNAP, o envolvimento proeminente do lobo temporal medial, documentado nos casos SNAP, sugere que as alterações patológicas PART-like possam estar subjacentes num subconjunto significativo de pessoas com SNAP.

## 2. Limitações do Estudo

As proteínas LCR das amostras arquivadas na ADNI foram medidas com recurso à plataforma Multiplex xMAP Luminex. Esta técnica demonstrou ser, pelo estudo de Olsson et al. (2005), a tecnologia que fornece sensibilidades e especificidades diagnósticas para distinguir a DA de outras doenças neurológicas que são comparáveis aos já disponíveis métodos ELISA. Os *cutoffs* de anormalidade dos níveis de proteínas foram definidos em limiares de acordo com estudos anteriores (Li et al., 2020; Shaw et al., 2009). No entanto, não há um consenso universal nos verdadeiros limiares de anormalidade, o que pode enviesar as conclusões deste estudo e de outros publicados.

Ademais, alguns indivíduos tinham os seus valores de A $\beta$  e Tau limítrofes e, como tal, não podemos rejeitar a hipótese de haver uma possível evolução nos mecanismos patofisiológicos envolvidos, de maneira que meses ou anos mais tarde esses mesmos sujeitos pertencessem a outra categoria.

Além disso, não estamos eximidos de haver um viés de seleção, naturalmente implícito na inclusão dos participantes. Ainda que os critérios de inclusão e exclusão definidos pela ADNI tenham por objetivo garantir que não há outras possíveis patologias responsáveis pelos achados cognitivos, não conseguimos assegurar que os indivíduos controlo normal sejam totalmente “neutros”, isto é, isentos de processos patológicos em formação e que por algum motivo são utentes seguidos pela Neurologia. Por outro lado, os indivíduos SNAP incluídos neste estudo, têm níveis de escolaridade elevados, o que poderá influenciar estes scores cognitivos. Por fim, acresce a natureza subjetiva da avaliação cognitiva nos testes neuropsicológicos.

## Síntese conclusiva do estudo

É legítimo atribuímos mais identidade a uma condição com características muito próprias, na qual se verifica que há de facto uma acumulação de Tau em níveis superiores ao normal sem amiloidose concomitante. O mais interessante é o atingimento incisivo de estruturas cerebrais muito concretas e sobrepostas às atingidas na DA, sem que isso acarrete um prejuízo cognitivo tão marcado como o manifestado nesta última. Neste estudo de investigação conclui-se que a condição SNAP revela um perfil cognitivo benigno onde o risco de doença cognitiva/clínica em SNAP é significativamente menor do que em indivíduos classificados como A $\beta$  positivos.

No entanto, a condição SNAP, definida por A-T+N-, A-T-N+ e A-T+N+, é um grupo muito heterogéneo. Pode representar apenas um grande “rótulo” que inclui todas as doenças que conduzem a uma perda sináptica nas estruturas temporais, tais como a proteínopatia TDP-43, a esclerose hipocampal, consequência da doença cerebrovascular (Wong et al., 2019), ou PART. Põe-se, inclusive, a hipótese de SNAP ser um estadio intermédio das doenças neurodegenerativas que cursam com deposição de tau. Deste modo, o rastreio precoce, potencialmente através de técnicas imagiológicas, poderá permitir a identificação desta entidade e a sua detalhada subcategorização.

Recomendaria que novas investigações nesta temática fossem levadas a cabo com a implementação de uma uniformização de critérios de diagnóstico dos biomarcadores.

## Referências

- Bloom, G. S. (2014). Amyloid- $\beta$  and tau: The trigger and bullet in Alzheimer disease pathogenesis. *JAMA Neurology*, *71*(4), 505–508. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.5847>
- Burnham, S. C., Bourgeat, P., Doré, V., Savage, G., Brown, B., Laws, S., Maruff, P., Salvado, O., Ames, D., Martins, R. N., Masters, C. L., Rowe, C. C., & Villemagne, V. L. (2016). Clinical and cognitive trajectories in cognitively healthy elderly individuals with suspected non-Alzheimer's disease pathophysiology (SNAP) or Alzheimer's disease pathology: a longitudinal study. *The Lancet Neurology*, *15*(10), 1044–1053. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)30125-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)30125-9)
- Cairns, N. J., Ph, D., Xie, X., Blazey, T. M., Holtzman, D. M., Aisen, P. S., Ghetti, B., Klunk, W. E., Mcdade, E., Rossor, M. N., Schofield, P. R., Ph, D., Sc, D., & Sperling, R. A. (2013). *Bateman et al Biomarker Changes AD 2012*. *367*(9), 795–804. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1202753.Clinical>
- Caroli, A., Prestia, A., Galluzzi, S., Ferrari, C., Van Der Flier, W. M., Ossenkoppele, R., Van Berckel, B., Barkhof, F., Teunissen, C., Wall, A. E., Carter, S. F., Schöll, M., Choo, I. H., Grimmer, T., Redolfi, A., Nordberg, A., Scheltens, P., Drzezga, A., & Frisoni, G. B. (2015). Mild cognitive impairment with suspected nonamyloid pathology (SNAP): Prediction of progression. *Neurology*, *84*(5), 508–515. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001209>
- Chiaravalloti, A., Barbagallo, G., Martorana, A., Castellano, A. E., Ursini, F., & Schillaci, O. (2019). Brain metabolic patterns in patients with suspected non-Alzheimer's pathophysiology (SNAP) and Alzheimer's disease (AD): is [18F] FDG a specific biomarker in these patients? *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, *46*(9), 1796–1805. <https://doi.org/10.1007/s00259-019-04379-4>
- Crary, J. F., Trojanowski, J. Q., Schneider, J. A., Abisambra, J. F., Abner, E. L., Alafuzoff, I., Arnold, S. E., Attems, J., Beach, T. G., Bigio, E. H., Cairns, N. J., Dickson, D. W., Gearing, M., Grinberg, L. T., Hof, P. R., Hyman, B. T., Jellinger, K., Jicha, G. A., Kovacs, G. G., ... Nelson, P. T. (2014). Primary age-related tauopathy (PART): a common pathology associated with human aging. *Acta Neuropathologica*, *128*(6), 755–766. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1349-0>
- Dodich, A., Mendes, A., Assal, F., Chicherio, C., Rakotomiaramananana, B., Andryszak, P., Festari, C., Ribaldi, F., Scheffler, M., & Schibli, R. (2020). *The A / T / N model applied through imaging biomarkers in a memory clinic*. 247–255.
- Elobeid, A., Soininen, H., & Alafuzoff, I. (2012). Hyperphosphorylated tau in young and middle-aged subjects. *Acta Neuropathologica*, *123*(1), 97–104. <https://doi.org/10.1007/s00401-011-0906-z>
- Green, R. C., Harvey, D., Jack, C. R., Jagust, W., Liu, E., John, C., Petersen, R. C., Saykin, A. J., Schmidt, M. E., Shaw, L., & Judith, A. (2012). ADNI: A review of papers published since its inception. *Alzheimer's & Dementia*, *8*(10), 30–32. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.09.172.The>
- He, Z., Guo, J. L., McBride, J. D., Narasimhan, S., Kim, H., Changolkar, L., Zhang, B., Gathagan, R. J., Yue, C., Dengler, C., Stieber, A., Nitla, M., Coulter, D. A., Abel, T., Brunden, K. R., Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M. Y. (2018). Amyloid- $\beta$  plaques enhance Alzheimer's brain tau-seeded pathologies by facilitating neuritic plaque tau aggregation. *Nature Medicine*, *24*(1), 29–38. <https://doi.org/10.1038/nm.4443>
- Hickman, R. A., Flowers, X. E., & Wisniewski, T. (2020). Primary Age-Related Tauopathy

- (PART): Addressing the Spectrum of Neuronal Tauopathic Changes in the Aging Brain. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 20(9), 16–19.  
<https://doi.org/10.1007/s11910-020-01063-1>
- Jack, C. R., Bennett, D. A., Blennow, K., Carrillo, M. C., Dunn, B., Haeberlein, S. B., Holtzman, D. M., Jagust, W., Jessen, F., Karlawish, J., Liu, E., Molinuevo, J. L., Montine, T., Phelps, C., Rankin, K. P., Rowe, C. C., Scheltens, P., Siemers, E., Snyder, H. M., ... Silverberg, N. (2018). NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's and Dementia*, 14(4), 535–562.  
<https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.02.018>
- Jack, C. R., Knopman, D. S., Chételat, G., Dickson, D., Fagan, A. M., Frisoni, G. B., Jagust, W., Mormino, E. C., Petersen, R. C., Sperling, R. A., Van Der Flier, W. M., Villemagne, V. L., Visser, P. J., & Vos, S. J. B. (2016). Suspected non-Alzheimer disease pathophysiology-concept and controversy. *Nature Reviews Neurology*, 12(2), 117–124. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2015.251>
- Jack, C. R., Knopman, D. S., Weigand, S. D., Wiste, H. J., Vemuri, P., Lowe, V., Kantarci, K., Gunter, J. L., Senjem, M. L., Ivnik, R. J., Roberts, R. O., Rocca, W. A., Boeve, B. F., & Petersen, R. C. (2012). An operational approach to National Institute on Aging-Alzheimer's Association criteria for preclinical Alzheimer disease. *Annals of Neurology*, 71(6), 765–775. <https://doi.org/10.1002/ana.22628>
- Jack, C. R., Wiste, H. J., Weigand, S. D., Therneau, T. M., Knopman, D. S., Lowe, V., Vemuri, P., Mielke, M. M., Roberts, R. O., Machulda, M. M., Senjem, M. L., Gunter, J. L., Rocca, W. A., & Petersen, R. C. (2017). Age-specific and sex-specific prevalence of cerebral  $\beta$ -amyloidosis, tauopathy, and neurodegeneration in cognitively unimpaired individuals aged 50–95 years: a cross-sectional study. *The Lancet Neurology*, 16(6), 435–444. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30077-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30077-7)
- Jellinger, K. A., Alafuzoff, I., Attems, J., Beach, T. G., Cairns, N. J., Crary, J. F., Dickson, D. W., Hof, P. R., Hyman, B. T., Jack, C. R., Jicha, G. A., Knopman, D. S., Kovacs, G. G., Mackenzie, I. R., Masliah, E., Montine, T. J., Nelson, P. T., Schmitt, F., Schneider, J. A., ... Wisniewski, T. (2015). PART, a distinct tauopathy, different from classical sporadic Alzheimer disease. *Acta Neuropathologica*, 129(5), 757–762.  
<https://doi.org/10.1007/s00401-015-1407-2>
- Knopman, D. S., Jack, C. R., Wiste, H. J., Weigand, S. D., Vemuri, P., Lowe, V., Kantarci, K., Gunter, J. L., Senjem, M. L., Ivnik, R. J., Roberts, R. O., Boeve, B. F., & Petersen, R. C. (2012). Short-term clinical outcomes for stages of NIA-AA preclinical Alzheimer disease. *Neurology*, 78(20), 1576–1582.  
<https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182563bbe>
- Li, Z., Li, K., Luo, X., Zeng, Q., Zhao, S., Zhang, B., Zhang, M., & Chen, Y. (2020). Distinct Brain Functional Impairment Patterns Between Suspected Non-Alzheimer Disease Pathophysiology and Alzheimer's Disease: A Study Combining Static and Dynamic Functional Magnetic Resonance Imaging. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 12(November), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.550664>
- Morris, J. C., Roe, C. M., Xiong, C., Fagan, A. M., Goate, A. M., Holtzman, D. M., & Mintun, M. A. (2011). APOE Predicts A $\beta$  but not Tau Alzheimer's Pathology in Cognitively Normal Aging. *Annals of Neurology*, 67(1), 122–131.  
<https://doi.org/10.1002/ana.21843>.APOE
- Olsson, A., Vanderstichele, H., Andreasen, N., De Meyer, G., Wallin, A., Holmberg, B., Rosengren, L., Vanmechelen, E., & Blennow, K. (2005). Simultaneous measurement of  $\beta$ -amyloid(1-42), total Tau, and phosphorylated Tau (Thr181) in cerebrospinal fluid by the xMAP technology. *Clinical Chemistry*, 51(2), 336–345.  
<https://doi.org/10.1373/clinchem.2004.039347>

- P., V., H.J., W., S.D., W., D.S., K., L.M., S., J.Q., T., P.S., A., M., W., & R.C., P. (2010). Effect of apolipoprotein E on biomarkers of amyloid load and neuronal pathology in Alzheimer disease. *Annals of Neurology*, *67*(3), 308–316. <https://doi.org/10.1002/ana.21953>.Effect
- Rowe, C. C., Bourgeat, P., Ellis, K. A., Brown, B., Lim, Y. Y., Mulligan, R., Jones, G., Maruff, P., Woodward, M., Price, R., Robins, P., Tochon-Danguy, H., O’Keefe, G., Pike, K. E., Yates, P., Szoeker, C., Salvado, O., Macaulay, S. L., O’Meara, T., ... Villemagne, V. L. (2013). Predicting Alzheimer disease with  $\beta$ -amyloid imaging: Results from the Australian imaging, biomarkers, and lifestyle study of ageing. *Annals of Neurology*, *74*(6), 905–913. <https://doi.org/10.1002/ana.24040>
- Shaw, L. M., Vanderstichele, H., Knapik-Czajka, M., Clark, C. M., Aisen, P. S., Petersen, R. C., Blennow, K., Soares, H., Simon, A., Lewczuk, P., Dean, R., Siemers, E., Potter, W., Lee, V. M. Y., & Trojanowski, J. Q. (2009). Cerebrospinal fluid biomarker signature in alzheimer’s disease neuroimaging initiative subjects. *Annals of Neurology*, *65*(4), 403–413. <https://doi.org/10.1002/ana.21610>
- Soto, C. (2003). Unfolding the role of protein misfolding in neurodegenerative diseases. *Nature Reviews Neuroscience*, *4*(1), 49–60. <https://doi.org/10.1038/nrn1007>
- Van Harten, A. C., Smits, L. L., Teunissen, C. E., Visser, P. J., Koene, T., Blankenstein, M. A., Scheltens, P., & Van Der Flier, W. M. (2013). Preclinical AD predicts decline in memory and executive functions in subjective complaints. *Neurology*, *81*(16), 1409–1416. <https://doi.org/10.1212/WNL.ob013e3182a8418b>
- Villemagne, V. L., Pike, K. E., Chételat, G., Ellis, K. A., Mulligan, R. S., Bourgeat, P., Ackermann, U., Jones, G., Szoeker, C., Salvado, O., Martins, R., O’Keefe, G., Mathis, C. A., Klunk, W. E., Ames, D., Masters, C. L., & Rowe, C. C. (2011). Longitudinal assessment of A $\beta$  and cognition in aging and Alzheimer disease. *Annals of Neurology*, *69*(1), 181–192. <https://doi.org/10.1002/ana.22248>
- Visser, P. J., Verhey, F., Knol, D. L., Scheltens, P., Wahlund, L. O., Freund-Levi, Y., Tsolaki, M., Minthon, L., Wallin, Å. K., Hampel, H., Bürger, K., Pirtila, T., Soininen, H., Rikkert, M. O., Verbeek, M. M., Spuru, L., & Blennow, K. (2009). 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. *The Lancet Neurology*, *8*(7), 619–627. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70139-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70139-5)
- Vos, S. J. B., Xiong, C., Visser, P. J., Jasielec, M. S., Hassenstab, J., Grant, E. A., Cairns, N. J., Morris, J. C., Holtzman, D. M., & Fagan, A. M. (2013). Preclinical Alzheimer’s disease and its outcome: A longitudinal cohort study. *The Lancet Neurology*, *12*(10), 957–965. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70194-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70194-7)
- Wong, B. Y. X., Yong, T. T., Lim, L., Tan, J. Y., Ng, A. S. L., Ting, S. K. S., Hameed, S., Ng, K. P., Zhou, J. H., & Kandiah, N. (2019). Medial Temporal Atrophy in Amyloid-Negative Amnesic Type Dementia Is Associated with High Cerebral White Matter Hyperintensity. *Journal of Alzheimer’s Disease*, *70*(1), 99–106. <https://doi.org/10.3233/JAD-181261>

## Anexo 1 – tabela suplementar

### SUPPLEMENTARY TABLE | CHARACTERISTICS OF INDIVIDUALS WITH SNAP IN DIFFERENT STUDY COHORTS

#### Individuals Who Are Clinically Normal

Study	Study and population characteristics	Biomarkers used for classification	Number (%) of individuals with SNAP/ number in the cohort	Age in the SNAP group (years)	Number (%) of men in the SNAP group	Number (%) of APOE* $\epsilon$ 4 carriers in the SNAP group	Clinical outcomes	Follow-up time across the cohort	Reference
Mayo Clinic Study of Aging	Population-based, clinically normal for age individuals	Amyloid PET, and $^{18}\text{F}$ -FDG-PET, or hippocampal volume	103 (23%)/450	79 (IQR 76–84)	62 (60%)	12 (13%)	NA	NA	Jack <i>et al.</i> 2012 <sup>1</sup>
Mayo Clinic Study of Aging	Population-based, clinically normal individuals	Amyloid PET, and $^{18}\text{F}$ -FDG-PET, or hippocampal volume	69 (23%)/296	81 (IQR76–84)	43 (62%)	8 (12%)	CN to MCI or dementia: St 0: 5%, St 1: 11%, St 2: 21%, St 3: 43%, SNAP: 10%	1.3 years (range 1.1–5.1 years)	Knopman <i>et al.</i> 2012 <sup>2</sup>
Washington University	Community-dwelling, clinically normal individuals	CSF amyloid- $\beta_{42}$ and tau	72 (23%)/311	73.6 (SD 5.8)	30 (40%)	22 (31%)	CDR 0 to $\geq$ 0.5 AD dementia: St 0: 2%, St 1: 11%, St 2: 26%, St 3: 56%, SNAP: 5%	3.9 years (range 1–15 years)	Vos <i>et al.</i> 2013 <sup>3</sup>
Washington University	Community-dwelling, clinically normal individuals	CSF amyloid- $\beta_{42}$ and tau	NA	NA	NA	NA	CDR 0 to $\geq$ 0.5, survival HR with A-N- as a reference: A+N-: 2.6 A+N+: 8.4 SNAP: 1.1	3.7 years (SD 1.5 years)	Roe <i>et al.</i> 2013 <sup>4</sup>

Demographic and Cognitive Characterization of SNAP

Berkeley Aging Cohort	Community-dwelling, clinically normal individuals	Amyloid PET, and <sup>18</sup> F-FDG-PET, hippocampal volume and MRI analysis of cortical regions of interest	19 (26%)/72	NA	NA	NA	NA	NA	Wirth <i>et al.</i> 2013 <sup>5</sup>
Harvard Aging Brain Study	Community-dwelling, clinically normal individuals	Amyloid PET, and <sup>18</sup> F-FDG-PET, or hippocampal volume	38 (23%)/166	79 (75–82)	248 (63%)	7 (19%)	Cognitive decline: St 0 < SNAP < A+N+	2.1 years (IQR 1.9–2.3 years)	Mormino <i>et al.</i> 2014 <sup>6</sup>
ADNI	Clinical trial sites, clinically normal individuals	CSF amyloid- $\beta_{42}$ , and either CSF tau or hippocampal volume	54 (23%)/238	NA	NA	NA	CN to MCI or dementia, survival HR with St 0 as a reference: St 1: 2.6 St 2: 1.8, St 3: 11.3, SNAP: 2.4	6 yrs (IQR 3.0–7.0)	Toledo <i>et al.</i> 2014 <sup>7</sup>
St Luc University Hospital Brussels	Memory clinic, clinically normal individuals	Amyloid PET, and <sup>18</sup> F-FDG-PET or hippocampal volume	5 (16%)/35	NA	NA	NA	NA	NA	Ivaniou <i>et al.</i> 2014 <sup>8</sup>
St Luc University Hospital Brussels	Memory clinic, subjective memory complaints	Amyloid PET, and <sup>18</sup> F-FDG-PET, or hippocampal volume	3 (14%)/21	NA	NA	NA	NA	NA	Ivaniou <i>et al.</i> 2014 <sup>8</sup>
Amsterdam Dementia Cohort	Memory clinic,	CSF amyloid- $\beta_{42}$ and tau	31 (23%)/132	NA	NA	NA	CN to MCI or dementia: St 0: 3%, St 1: 18%,	1.8 years (SD 1.3 years)	Van Harten <i>et al.</i> 2013 <sup>9</sup>

Demographic and Cognitive Characterization of SNAP

	subjective memory complaints						St 2: 60%, SNAP: 10%		
--	------------------------------	--	--	--	--	--	----------------------	--	--

**Individuals With Mild Cognitive Impairment**

Study	Study and population characteristics	Biomarkers used for classification	Number (%) of individuals with SNAP/ number in the cohort	Age in the SNAP group (years)	Number (%) of men in the SNAP group	Number (%) of APOE* $\epsilon$ 4 carriers in the SNAP group	Clinical outcomes	Follow-up time across the cohort	Reference
Three-site European consortium	Memory clinics, individuals with MCI	CSF amyloid- $\beta_{42}$ , hippocampal volume, $^{18}\text{F}$ -FDG-PET	15 (20%)/73	NA	NA	NA	MCI to dementia: A-N-: 5% A+N-: 27% A+N+: 100% SNAP: 47%	Progressors*: MCI 23.3 months (range 2–76 months) Stable MCI 31.8 months (range 12–84 months)	Prestia <i>et al.</i> 2013 <sup>10</sup>
Mayo Clinic Study of Aging	Population-based, individuals with MCI	Amyloid PET, and $^{18}\text{F}$ -FDG-PET, or hippocampal volume	36 (29%)/126	82 (IQR 78–85)	28 (78%)	4 (11%)	MCI to dementia: A-N-: 8% A+N-: 0% A+N+: 16% SNAP: 21%	15 months	Petersen <i>et al.</i> 2013 <sup>11</sup>
ADNI	Clinical trial sites, individuals with MCI	Amyloid PET, and $^{18}\text{F}$ -FDG-PET, or hippocampal volume	10 (17%)/58	77 (IQR 73–83)	7 (70%)	4 (40%)	MCI to dementia: A-N-: 11% A+N-: 0% A+N+: 42% SNAP: 25%	12 months	Petersen <i>et al.</i> 2013 <sup>11</sup>
Clinical trial, seven European sites	Memory clinics, individuals with MCI	Amyloid PET, medial temporal atrophy	7 (35%)/20	NA	NA	NA	NA	NA	Duara <i>et al.</i> 2013 <sup>12</sup>

Demographic and Cognitive Characterization of SNAP

ADNI	Clinical trial sites, individuals with AD dementia	Amyloid PET, and <sup>18</sup> F-FDG-PET, CSF amyloid- $\beta_{42}$ or hippocampal volume	6 (7%)/92	NA	NA	NA	NA	NA	Lowe <i>et al.</i> 2013 <sup>13</sup>
ADNI and four-site European consortium	Clinical trial sites and memory clinics, individuals with MCI	CSF amyloid- $\beta_{42}$ , hippocampal volume, <sup>18</sup> F-FDG-PET	34 (17%)/201	70.6 (SD 9.2)	23 (68%)	10 (31%)	Progressors*: A-N-: 11% A+N-: 34% A+N+: 71% SNAP: 56%	26.4 months (SD 16.8 months) in the SNAP group	Caroli <i>et al.</i> 2015 <sup>14</sup>
ADNI and multi-site European consortium	Memory clinics, individuals with MCI	CSF amyloid- $\beta_{42}$ and tau, medial temporal atrophy, or <sup>18</sup> F-FDG-PET	220 (29%)/776	69.4 (SD 8.3)	116 (53%)	62 (32%)	Progression at last follow-up: To AD dementia: 21% To non-AD dementia: 10%	2.5 years (SD 1.3 years)	Vos <i>et al.</i> 2015 <sup>15</sup>

\*Progressor defined as: losing more than 3 points between first and last MMSE, having dementia at follow-up or receiving a score <24 at last MMSE.

Abbreviations: A, -amyloid- $\beta$ ; ADNI, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative; CDR, Clinical Dementia Rating; CN, clinically normal; CSF, cerebrospinal fluid; IQR, interquartile range; MCI, mild cognitive impairment; MMSE, Mini-Mental State Examination; N, neurodegeneration; NA, not available; St, National Institute on Aging–Alzheimer's Association preclinical AD stage.

1. Jack, C. R. Jr *et al.* An operational approach to National Institute of Aging–Alzheimer's Association criteria for preclinical Alzheimer disease. *Ann. Neurol.* **71**, 765–775 (2012).
2. Knopman, D. S. *et al.* Short-term clinical outcomes for stages of NIA–AA preclinical Alzheimer disease. *Neurology* **78**, 1576–1582 (2012).
3. Vos, S. J. *et al.* Preclinical Alzheimer's disease and its outcome: a longitudinal cohort study. *Lancet Neurol.* **12**, 957–965 (2013).
4. Roe, C. M. *et al.* Amyloid imaging and CSF biomarkers in predicting cognitive impairment up to 7.5 years later. *Neurology* **80**, 1784–1791 (2013).
5. Wirth, M. *et al.* Associations between Alzheimer disease biomarkers, neurodegeneration, and cognition in cognitively normal older people. *JAMA Neurol.* **70**, 1512–1519 (2013).
6. Mormino, E. C. *et al.* Synergistic effect of  $\beta$ -amyloid and neurodegeneration on cognitive decline in clinically normal individuals. *JAMA Neurol.* **71**, 1379–1385 (2014).
7. Toledo, J. B. *et al.* Neuronal injury biomarkers and prognosis in ADNI subjects with normal cognition. *Acta Neuropathol. Commun.* **2**, 26 (2014).
8. Ivanoiu, A. *et al.* Classification of non-demented patients attending a memory clinic using the new diagnostic criteria for Alzheimer's disease with disease-related biomarkers. *J. Alzheimers Dis.* **43**, 835–847 (2014).
9. van Harten, A. C. *et al.* Preclinical AD predicts decline in memory and executive functions in subjective complaints. *Neurology* **81**, 1409–1416 (2013).
10. Prestia, A. *et al.* Prediction of dementia in MCI patients based on core diagnostic markers for Alzheimer disease. *Neurology* **80**, 1048–1056 (2013).
11. Petersen, R. C. *et al.* Mild cognitive impairment due to Alzheimer disease in the community. *Ann. Neurol.* **74**, 199–208 (2013).
12. Duara, R. *et al.* Amyloid positron emission tomography with (18)F-flutemetamol and structural magnetic resonance imaging in the classification of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* **9**, 295–301 (2013).
13. Lowe, V. J. *et al.* Application of the National Institute on Aging–Alzheimer's Association AD criteria to ADNI. *Neurology* **80**, 2130–2137 (2013).
14. Caroli, A. *et al.* Mild cognitive impairment with suspected nonamyloid pathology (SNAP): prediction of progression. *Neurology* **84**, 508–515 (2015).
15. Vos, S. J. *et al.* Prevalence and prognosis of Alzheimer's disease at the mild cognitive impairment stage. *Brain* **138**, 1327–1338 (2015).