

BIOTRANS

Programa de Pós-Graduação em
Biomedicina Translacional

Mestrado e Doutorado



UNIVERSIDADE DO GRANDE RIO

“PROFESSOR JOSÉ DE SOUZA HERDY”

LUIZ FELIPE DA SILVA FIGUEIREDO

BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS NA DOENÇA DE ALZHEIMER

DUQUE DE CAXIAS

2017

LUIZ FELIPE DA SILVA FIGUEIREDO

BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS NA DOENÇA DE ALZHEIMER

Dissertação de Mestrado apresentado ao
Programa de Pós-Graduação em
Biomedicina Translacional da
Universidade do Grande Rio, como
requisito para obtenção do título de
Mestre em Ciências Biomédicas.

Orientador Dr. Jerson Laks

DUQUE DE CAXIAS

2017

Figueiredo, Luiz Felipe da Silva
Biomarcadores Inflamatórios na Doença de Alzheimer / Luiz Felipe da
Silva Figueiredo. – Duque de Caxias, 2017.
113 f. : il

Orientador: Jerson Laks.
Dissertação (Mestrado – Mestrado em Biomedicina Translacional) –
Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”, 2017.

1. Alzheimer. 2. Idosos. 3. Biomarcadores. 4. Citocinas. 5.
Neuroinflamação. I. Laks, Jerson. II. Título.

LUIZ FELIPE DA SILVA FIGUEIREDO

BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS NA DOENÇA DE ALZHEIMER

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Biomedicina Translacional da Universidade do Grande rio, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Biomedicina Translacional.

Aprovada em 05 de Setembro de 2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jerson Laks – Orientador

Profa. Dra. Cláudia Maria Pereira

Prof. Dr. Paulo André da Silva

Profa. Dra. Patricia Maria Lourenço Dutra

Dedico esse trabalho às minhas avós Célia e Carminha que me influenciaram a mergulhar no mundo da geriatria e gerontologia.

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiro a Deus, por iluminar minha vida em todos os momentos e decisões importantes.

A minha família, principalmente aos meus pais Claudio e Regina por me ensinarem o poder dos estudos e sabedoria e a determinação de correr atrás dos sonhos.

A minha noiva Adélia por estar ao meu lado em todos os momentos, pelo apoio incondicional em todas as decisões e por embarcar comigo nos sonhos e projetos de vida.

Ao meu orientador Jerson Laks, por todo ensinamento científico e de vida nesses anos de trabalho juntos. Aos amigos do Laboratório de Neurociência do Exercício (LANEX), na pessoa da Andrea Deslandes por estar sempre disponível em ajudar de todas as formas e pelos amigos feitos dentro desse laboratório.

Aos amigos do Laboratório de genética (LabGen) (UNIGRANRIO) por ajudarem na logística e desenvolvimento deste trabalho. Ao programa de pós-graduação em Biomedicina Translacional (BioTrans) pela oportunidade de realizar este projeto.

Aos amigos do Laboratório de Imunopatologia (LIP) da Faculdade de Ciências Médicas da UERJ, na pessoa da Dra. Luciana Rodrigues e Raquel, que foram fundamentais nas análises laboratoriais deste trabalho.

RESUMO

O aumento da longevidade tem sido evidenciado nos últimos anos. Apesar do crescimento da expectativa de vida, aspectos relacionados à saúde do idoso ainda necessitam da atenção das políticas públicas. Uma destas questões é a crescente prevalência de doenças comuns no idoso, como a Doença de Alzheimer (DA). Alguns marcadores inflamatórios estão presentes na doença de Alzheimer e parecem ter relação com a fisiopatologia da doença, no entanto, pouco se sabe sobre biomarcadores associados a essa doença. O presente estudo teve como objetivo avaliar marcadores imunológicos em idosos com DA. Realizou-se coleta de uma amostra de 45 indivíduos acima de 60 anos que foram divididos em 2 grupos (Grupo Alzheimer(21)=75,9±7,4 anos e Grupo Controle(24)=75,3±7,5 anos), atendidos pelo Programa de Assistência Integrada da Saúde do Idoso de Duque de Caxias e do Instituto de Psiquiatria da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Foram coletados Escala de Demência Clínica, Mini Exame do Estado Mental, Teste de Sentar e Levantar, Escala de Lawton e Brody e uma amostra de 5ml de sangue para análise dos biomarcadores inflamatórios. As citocinas inflamatórias foram analisadas utilizando os kits *Human Inflammatory Cytokines Kit* e *Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit* através do método *Cytometric Bead Assay*. Os dados foram comparados entre grupos com e sem doença de Alzheimer e a análise estatística constou de médias e desvios padrão ou proporções quando adequado, teste t student e de Mann-Whitney com alfa de 95%. As correlações de Spearman e Pearson foram feitas para cada uma das citocinas e as variáveis sociodemográficas e de gravidade da doença. Encontrou-se uma maior concentração das citocinas IL-12, IL-10 e IL-1β para pacientes DA. A citocina IL-10 se correlacionou positivamente com a idade, CDR e com capacidades físico-funcionais, e se correlacionou negativamente com MEEM. A idade se correlacionou com as citocinas TNF-α, IL-10 e IL-4. O teste de sentar e levantar se correlacionou com IL-4. Conclui-se que o sistema imunológico se encontra alterado na DA, com elevações de citocinas como IL-12, IL-10 e IL1β. Estas citocinas também indicam a capacidade cognitiva e funcional dos pacientes de DA, por se correlacionar com estas variáveis.

Palavras-Chave: Alzheimer; Citocinas; Biomarcador; Idoso; Capacidade Funcional

ABSTRACT

The increase in longevity has been shown in recent years. Despite the growth in life expectancy, health-related characteristics of the elderly still need the attention of public policies. One issue is the increasing prevalence of diseases commonly found in the elderly, such as Alzheimer's Disease (AD). Some inflammatory markers are present in Alzheimer's disease and seem to be related to the pathophysiology of this disease. However, little is known about biomarkers associated with these diseases. This study aims to evaluate immunological markers in AD patients. We carried out an evaluation of a sample of 45 elderly divided into 2 groups (Alzheimer Group(21)=75,9±7,4 years and Control Group(24)=75,3±7,5 years), resident in Duque de Caxias and Rio de Janeiro, assisted by the integrated Program Assistance for the Elderly Health and by the Institute of Psychiatry of the Federal University of Rio de Janeiro. We evaluated Clinical Dementia Rating, Mini mental Stage Exam, 30 second Chair Stand, Lawton and Brody Scale and one sample of 5 ml of blood for analysis of biomarkers. The cytokine was analyzed using Human Inflammatory Cytokines Kit and Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit by Cytometric Bead Assay methods. The data were compared between groups. Data were shown on average and standard deviation or proportions when appropriate. The T Student and Mann-Whitney tests with $p < 0,05$ were used for statistical analyzed. Spearman and Pearson correlation used for cytokines, sociodemographic variables and disease severity. The results showed higher levels of IL-12, IL-10 and IL-1 β for Alzheimer's group. IL-10 was correlated with age, CDR and functional capacity and negative correlated with MEEM. The age was correlated with TNF- α , IL-10, IL-4. The TSL was correlated with IL-4. We conclude that the immune system is altered in AD, with elevations of cytokines such as IL-12, IL-10 and IL-1 β . These cytokines also indicate the cognitive and functional capacity of AD patients because they correlate with these variables.

Key-Words: Alzheimer, Cytokine, Biomarker, Elderly, Functional capacity

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| FIGURA 1 POPULAÇÃO DE 80 ANOS OU MAIS OBSERVADA E PROJETADA, POR SEXO (1960-2050)..... | 16 |
| FIGURA 2 IMAGEM DE PET PARA BIOMARCADOR AMILOIDE..... | 20 |
| FIGURA 3 IMAGEM DE RNM DE PACIENTE SEM E COM COMPROMETIMENTO COGNITIVO. | 21 |
| FIGURA 4 IMAGEM DE METABOLISMO CEREBRAL POR PET. | 21 |
| FIGURA 5 BIOMARCADORES NO PROCESSO DA PATOLOGIA DE ALZHEIMER. | 22 |
| FIGURA 6 VIAS NÃO-AMILOIDOGÊNICAS E AMILOIDOGÊNICAS DO APP..... | 23 |
| FIGURA 7 AGREGAÇÃO DE MONÔMEROS DE BAMILOIDE E FORMAÇÃO DA PLACA SENIL..... | 24 |
| FIGURA 8 EMARANHADOS NEUROFIBRILARES. | 25 |
| FIGURA 19 MÉDIAS DO GRUPO CONTROLE E ALZHEIMER PARA IL-17. | 40 |
| FIGURA 20. MÉDIAS DO GRUPO CONTROLE E ALZHEIMER PARA IFN- γ | 41 |
| FIGURA 21 MÉDIAS DO GRUPO CONTROLE E ALZHEIMER PARA IL-4. | 42 |
| FIGURA 22. MÉDIAS DO GRUPO CONTROLE E ALZHEIMER PARA IL-2. | 43 |
| FIGURA 23. MÉDIAS DO GRUPO CONTROLE E ALZHEIMER PARA IL-12. | 44 |
| FIGURA 24. MÉDIAS DO GRUPO CONTROLE E ALZHEIMER PARA TNF-A..... | 45 |
| FIGURA 25 MÉDIAS DO GRUPO CONTROLE E ALZHEIMER PARA IL-10. | 46 |
| FIGURA 26. MÉDIAS DO GRUPO CONTROLE E ALZHEIMER PARA IL-6. | 47 |
| FIGURA 27 MÉDIAS DO GRUPO CONTROLE E ALZHEIMER PARA IL-1B..... | 48 |
| FIGURA 28 MÉDIAS DO GRUPO CONTROLE E ALZHEIMER PARA IL-8. | 49 |
| FIGURA 9 FLUXOGRAMA DOS ESTUDOS SELECIONADOS..... | 62 |
| FIGURA 10. FORREST PLOT DEMONSTRANDO O RESULTADO DA META-ANALISE DE EFEITO ALEATÓRIO DA IL-6. | 70 |
| FIGURA 11. FORREST PLOT DEMONSTRANDO O RESULTADO DA META-ANALISE DE EFEITO ALEATÓRIO DA TNF-A..... | 71 |
| FIGURA 12. FORREST PLOT DEMONSTRANDO O RESULTADO DA META-ANALISE DE EFEITO ALEATÓRIO DA IL-18. | 72 |
| FIGURA 13. FORREST PLOT DEMONSTRANDO O RESULTADO DA META-ANALISE DE EFEITO ALEATÓRIO DA TGF-B..... | 73 |

| | |
|--|----|
| FIGURA 14. FOREST PLOT DEMONSTRANDO RESULTADO DA META-ANALISE DE EFEITO ALEATÓRIO DA IL-1A..... | 74 |
| FIGURA 15. FOREST PLOT DEMONSTRANDO RESULTADO DA META-ANALISE DE EFEITO ALEATÓRIO DA IL-1B..... | 75 |
| FIGURA 16. FOREST PLOT DEMONSTRANDO RESULTADO DA META-ANALISE DE EFEITO ALEATÓRIO DA IL-10. | 76 |
| FIGURA 17. FOREST PLOT DEMONSTRANDO RESULTADO DA META-ANALISE DE EFEITO ALEATÓRIO DA IL-12. | 77 |
| FIGURA 18. FORREST PLOT DA CITOCINA IL-10 APÓS RETIRADA DO ESTUDO DE (WANG ET AL., 2014)..... | 78 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| TABELA 1 TAXAS DE MORTALIDADE ENTRE IDOSOS SEGUNDO CAUSAS SELECIONADAS, POR 100 MIL HABITANTES..... | 17 |
| TABELA 4 CLASSIFICAÇÃO CDR | 32 |
| TABELA 5 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA | 38 |
| TABELA 6 NÍVEL PERIFÉRICO DE CITOCINA ENTRE OS GRUPOS..... | 39 |
| TABELA 7 TABELA DE CORRELAÇÕES CITOCINAS E CAPACIDADE COGNITIVA E FÍSICA | 50 |
| TABELA 8 CORRELAÇÃO DOS TESTES MEEM E TSL COM O TESTE DE LAWNTON E BRODY | 52 |
| TABELA 2 DESCRIÇÕES DOS ESTUDOS SELECIONADOS..... | 63 |
| TABELA 3 CITOCINAS ANALISADAS EM LIQUOR..... | 67 |

LISTA DE ANEXOS

| | |
|--|-----|
| ANEXO 1 - META-ANÁLISE | 60 |
| ANEXO 2 - CLINICAL DEMENTIA RATING (CDR) | 79 |
| ANEXO 3 - MINI EXAME DE ESTADO MENTAL (MEEM) | 89 |
| ANEXO 4 - TESTE DE SENTAR E LEVANTAR (TSL)..... | 90 |
| ANEXO 5 ESCALA DE ATIVIDADE DE VIDA DIÁRIA (EAVD)..... | 91 |
| ANEXO 6 PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP | 96 |
| ANEXO 7 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)..... | 103 |

LISTA DE ABREVIações E SÍMBOLOS

| | |
|--------------|---|
| DA | Doença de Alzheimer |
| CDR | Clinical Dementia Rating – Escala de Clínica de Demência |
| MEEM | Mini Exame de Estado Mental |
| TSL | Teste de Sentar e Levantar |
| GA | Grupo Alzheimer |
| GC | Grupo Controle |
| ml | Mililitros |
| IL | Interleucina |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| IPEA | Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada |
| CCL | Comprometimento Cognitivo Leve |
| APOE4 | Apolipoproteína E4 |
| NINCDS-ADRDA | National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and The Alzheimer's Disease and Related Disorders Association |
| A β | Peptídeo de proteína amiloide β |
| PET | Tomografia por Emissão de Pósitrons |
| RNM | Ressonância Magnética |
| APP | Proteína Precursora Amiloide |
| GFAP | Proteína Glial Fibrilar Ácida |
| TNF | Fator de Necrose Tumoral |
| IFN | Interferon |
| DSM | Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders |
| DeCS | Descritores em Ciências da Saúde |
| MeSH | Medical Subject Headings |
| WMD | Diferença absoluta entre médias |
| TE | Tamanho de Efeito |
| EES | Escala de sonolência de Epworth |
| LOAD | Alzheimer's de início tardio |
| AIVD | Atividade Instrumental de Vida Diária |
| ABVD | Atividade Básica de Vida Diária |
| pg | Picograma |
| TCLE | Termo de Consentimento Livre e Esclarecido |

| | |
|--------------|---------------------------------------|
| HAS | Hipertensão Arterial Sistêmica |
| IMC | Índice de Massa Corporal |
| TGF- β | Fator de Transformação do Crescimento |

SUMÁRIO

| | |
|-------------------------------------|-----|
| INTRODUÇÃO: | 16 |
| JUSTIFICATIVA: | 27 |
| OBJETIVO GERAL: | 28 |
| OBJETIVOS ESPECÍFICOS: | 28 |
| METODOLOGIA: | 28 |
| RESULTADOS PRELIMINARES- HIPÓTESES: | 37 |
| ANEXOS | 60 |
| REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA | 105 |

INTRODUÇÃO:

O número de idosos cresce em todo o mundo, e no Brasil esse cenário não é diferente. No Brasil, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), através do censo de 2010, estima que existam mais de quatro milhões e oitocentos mil indivíduos entre 65 e 69 anos e mais de nove milhões e duzentas mil pessoas com 70 anos ou mais (Ibge, 2010). O relatório do Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA) em 2016 (Alcântara *et al.*, 2016) relata que o número de pessoas muito idosas, de 80 anos ou mais, está em constante crescimento podendo chegar a 13,4 milhões em 2050 (Alcântara *et al.*, 2016). Estes dados podem ser vistos na Figura 1.

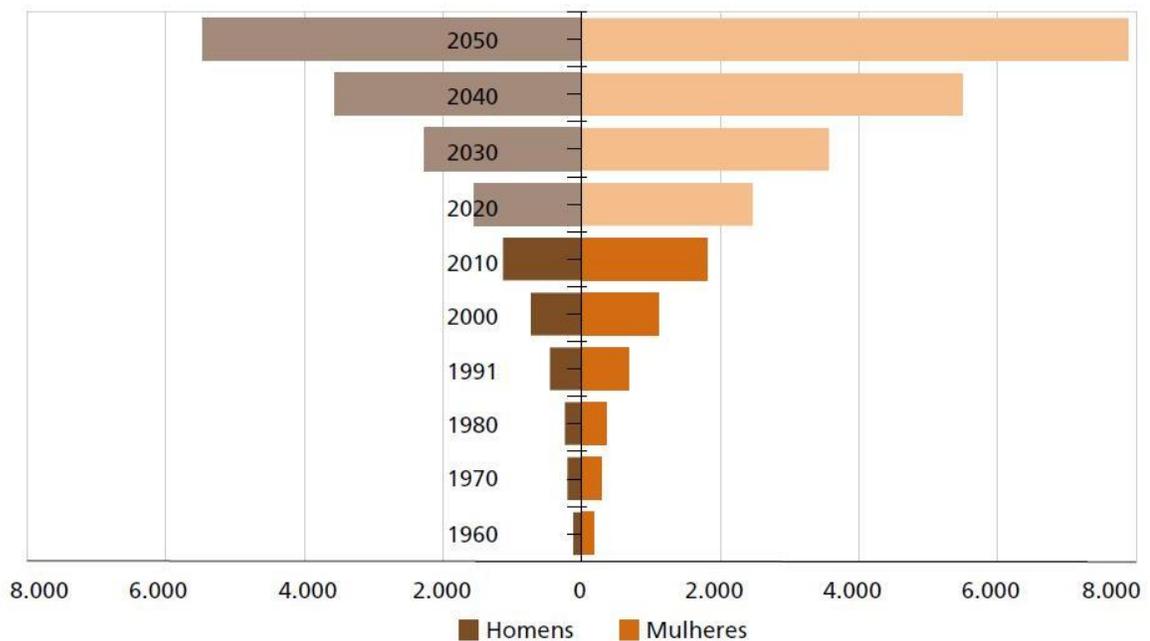


Figura 1 População de 80 anos ou mais observada e projetada, por sexo (1960-2050). Legenda: Figura mostra a distribuição da população com mais de 80 anos, entre homens e mulheres. Observe o aumento expressivo com o passar dos anos. Fonte: Alcântara et al., 2016.

Com o aumento da expectativa de vida e um maior número de idosos com idade avançada, sobe também o número de pessoas com doenças crônicas e

neurodegenerativas, como a Doença de Alzheimer (DA). Nos EUA, a DA ocupa a sexta colocação como causa de morte em idosos. A DA também tem grande impacto sobre cargas de doenças no Brasil (Schmidt *et al.*, 2011), mostrando um aumento expressivo de mortalidade por transtornos mentais com o passar dos anos (Tabela 1) (Alcântara *et al.*, 2016).

Tabela 1 Taxas de Mortalidade entre idosos segundo causas selecionadas, por 100 mil habitantes.

| Capítulo CID-10 ² | Taxa de mortalidade | | | Variação (%) | |
|------------------------------------|---------------------|---------|---------|--------------|-------|
| | Ano | 1996 | 2000 | | 2010 |
| População total | | | | | |
| Doenças do aparelho circulatório | | 1.560,9 | 1.370,4 | 1.230,9 | -21,1 |
| Neoplasias | | 529,0 | 530,7 | 573,4 | 8,4 |
| Doenças do aparelho respiratório | | 516,3 | 453,7 | 462,2 | -10,5 |
| Causas mal definidas | | 762,9 | 628,3 | 255,2 | -66,5 |
| Doenças do aparelho digestivo | | 158,7 | 152,0 | 159,0 | 0,2 |
| Causas externas | | 108,0 | 94,3 | 114,7 | 6,2 |
| Doenças infecciosas e parasitárias | | 113,6 | 101,0 | 105,9 | -6,8 |
| Transtornos mentais | | 8,5 | 13,0 | 27,7 | 225,9 |
| Doenças do sistema nervoso | | 29,8 | 34,8 | 83,9 | 181,5 |

Legenda: Taxas de mortalidade segundo causa em idosos. Observe que a mortalidade por transtornos mentais aumenta com o passar dos anos. Fonte: Adaptado de (Alcântara *et al.*, 2016).

Estima-se que, no Brasil, 1,6 milhões de pessoas tenham demência. A demência, síndrome que é consequência da DA em aproximadamente 60% dos casos, tem prevalência em todo mundo em torno de 8-10%, sendo que na América Latina é de 8,4%. Estudos brasileiros indicam prevalência de 7,1% e 8,12% na população acima de 65 anos (Nitrini *et al.*, 2009; Prince *et al.*, 2013; Prince; *et al.*, 2015).

Doença de Alzheimer

A DA foi descrita inicialmente por Dr. Alois Alzheimer, em 1906, após análise do tecido cerebral de sua paciente com um quadro psicótico e de declínio

cognitivo rápido. Ela faleceu com uma então doença mental incomum na qual à autópsia, o Dr. Alzheimer encontrou um aglomerado anormal que se definiu mais tarde como placas amiloides, e feixes de emaranhados neurofibrilares. Esta paciente apresentava sintomas como problemas de memória, de linguagem, de compreensão, comportamento imprevisível e desorientação (Rodgers, 2008).

A DA é caracterizada clinicamente por perda progressiva da memória e outras capacidades cognitivas (Meraz-Rios *et al.*, 2013). Além disso, há acometimento na funcionalidade e atividades de vida diária. O principal sintoma, que pode aparecer logo na fase inicial, é a perda de memória recente (Dubois *et al.*, 2010). O curso da DA dura em média de 10 a 12 anos e passa por três fases (Jack *et al.*, 2010; Jack *et al.*, 2013): 1 – Fase pré-sintomática, fase onde o indivíduo não apresenta sintomas, porém já ocorrem as alterações fisiopatológicas; 2 – Fase prodrômica que, comumente, se refere ao comprometimento cognitivo leve (CCL), início dos sintomas cognitivos leves, como perda de memória episódica, ou recente, mas não se enquadra nos critérios sindrômicos de demência; e 3 – Fase de evolução da demência na DA, na qual o impacto cognitivo é grande e passa a afetar a capacidade funcional do indivíduo também (Jack *et al.*, 2010).

A DA pode se desenvolver de duas formas, a primeira, em pessoas com menos de 65 anos, caracterizada como DA precoce, a segunda, em pessoas com mais de 65 anos, denominada como DA tardia. Por ser considerada uma doença multifatorial, a DA possui fatores de risco modificáveis e não-modificáveis. A idade é considerada como principal fator de risco não-modificável, bem como o histórico familiar com presença de DA e a predisposição genética (APOE4)(Corder *et al.*, 1993).

No entanto, existem vários fatores de risco modificáveis que podem aumentar ou diminuir o risco do desenvolvimento da DA. Uma meta-análise de 2015 (Xu *et al.*, 2015) demonstrou fatores de risco modificáveis associados com a DA. Estado de saúde e comorbidades podem influenciar e aumentar o risco de desenvolver DA, como fragilidade, disfunção na velocidade da marcha, aterosclerose com diminuição do fluxo carotídea, assim como a depressão. Os

hábitos alimentares e a qualidade dos alimentos e nutrientes aparecem como outro fator de risco modificável. O estudo demonstra que alto consumo de vitaminas E e C reduz o risco de desenvolver DA, bem como o consumo de café e peixes atenuando o risco. O uso de algumas medicações, como anti-inflamatórios não hormonais ou estatinas, podem favorecer a redução do risco de desenvolvimento de DA. Mudanças no estilo de vida, como aumentar o nível de atividade física e manter uma estimulação cognitiva, também têm papel importante para a redução do risco. Ter um bom nível educacional, ou ter uma boa reserva cognitiva (ter bastante estimulação quando jovem), parece ter efeito positivo na manutenção da capacidade cognitiva reduzindo as chances de desenvolver DA.

O diagnóstico da DA ainda é realizado clinicamente, isto é, não existe por ora um teste único ou um biomarcador que diagnostique, por si só, a DA. É preciso usar uma variedade de ferramentas para que se consiga realizar o diagnóstico com melhor precisão. É preciso coletar o histórico de saúde, familiar e pessoal do indivíduo, possíveis mudanças de humor e comportamento que alguns familiares tenham percebido (uma anamnese completa, enfim), conduzir testes cognitivos e exames físico, neurológicos e exames de sangue e de imagem cerebral para descartar outras causas possíveis de demência, como tumor ou certas deficiências de vitaminas. Este processo de diagnóstico deve ser realizado com cuidado, pode demorar dias ou semanas para que se completem todos os exames e o médico seja capaz de interpretá-los (Macedo Montaña e Ramos, 2005; Mckhann *et al.*, 2011).

Atualmente o protocolo mais utilizado para o diagnóstico é o do *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and The Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA)*(Mckhann *et al.*, 1984; Mckhann *et al.*, 2011), que utiliza testes físicos, neurológicos, exames de sangue e neuroimagem, além do histórico pessoal e familiar para então chegar ao diagnóstico de Alzheimer. O diagnóstico definitivo só é feito com certeza pelo exame histopatológico *post-mortem*. Com o paciente em vida, é possível diagnosticar DA como provável quando a evolução tem início insidioso, sintomatologia gradual, déficit inicial significativo na história e nos

exames e neuroimagem já revelando atrofia cortical em especial na região hipocampal bilateralmente. O diagnóstico de DA possível é feito em estágios muito iniciais ou quando há evolução atípica, quando ainda não há neuroimagem positiva para atrofia em regiões de interesse, ou quando o paciente apresenta demência com início do declínio cognitivo súbito, respectivamente (Mckhann *et al.*, 1984; Mckhann *et al.*, 2011).

Existem alguns biomarcadores que podem ajudar no momento do diagnóstico. O peptídeo de β -amiloide ($A\beta$), pode ser detectado em líquido cefalorraquidiano (líquor) em sua isoforma de $A\beta$ -42 ou no exame de tomografia por emissão de pósitrons (PET), conforme mostra a figura 2. Também no líquido há o aumento de proteínas TAU total ou TAU fosforilada. Um terceiro modo de se detectar biomarcadores da DA é através da Tomografia por Emissão de Pósitron (PET), na qual se pode constatar hipometabolismo ou atrofia estruturais detectadas mais tardiamente também pela ressonância magnética (RNM), conforme mostra as figuras 3 e 4.

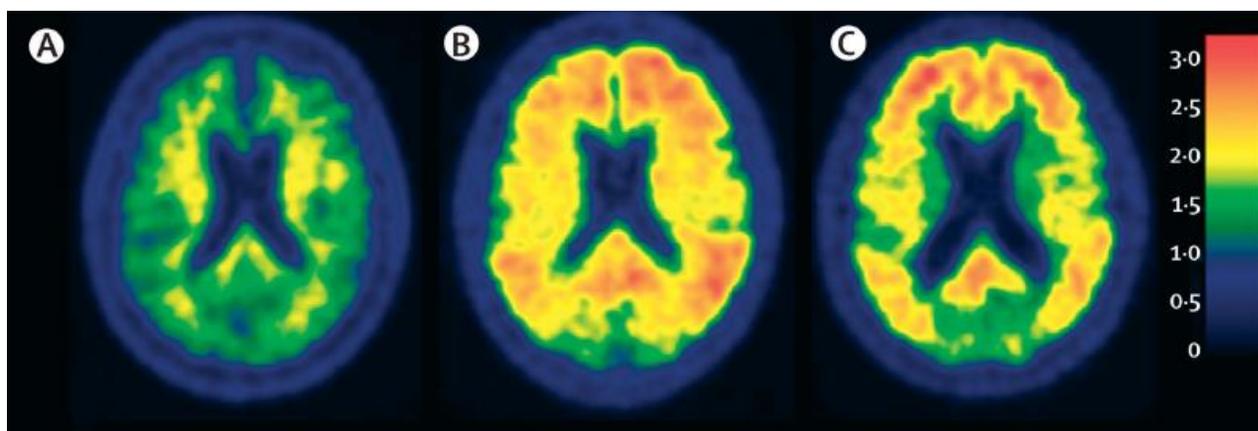


Figura 2 Imagem de PET para biomarcador Amiloide. Figura adaptada de (Jack *et al.*, 2010).
Legenda: Figura demonstra imagens de PET para detecção de biomarcador de $A\beta$. A=paciente sem declínio cognitivo e sem evidências de $A\beta$. B=paciente cognitivamente normal, mas com evidências de $A\beta$. C=indivíduo com demência e evidências de $A\beta$.

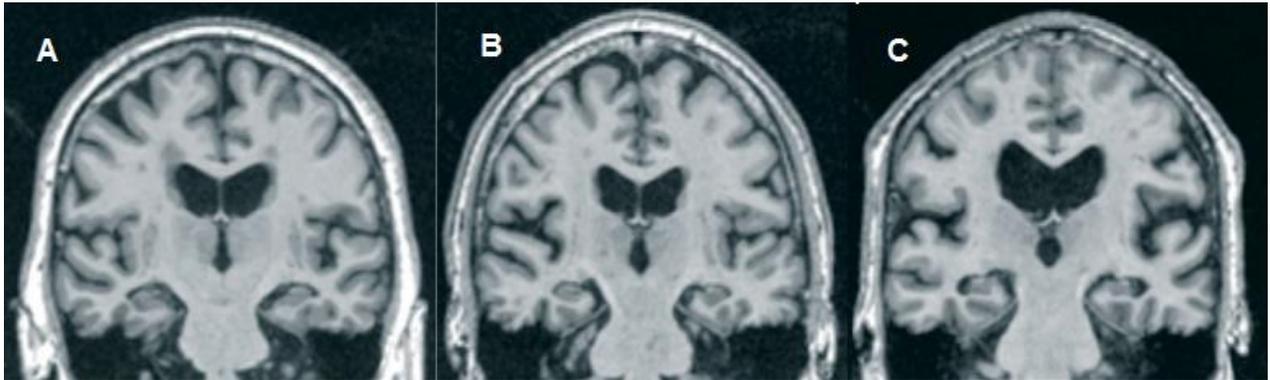


Figura 3 Imagem de RNM de paciente sem e com comprometimento cognitivo. Figura adaptada de (Jack *et al.*, 2010). Legenda: Figura demonstra imagem obtida por RNM. A=paciente sem comprometimento cognitivo e sem evidências de A β na figura 2. B=paciente sem comprometimento cognitivo e com alteração de A β na figura 2. C=paciente com comprometimento cognitivo e alteração de A β na figura2.

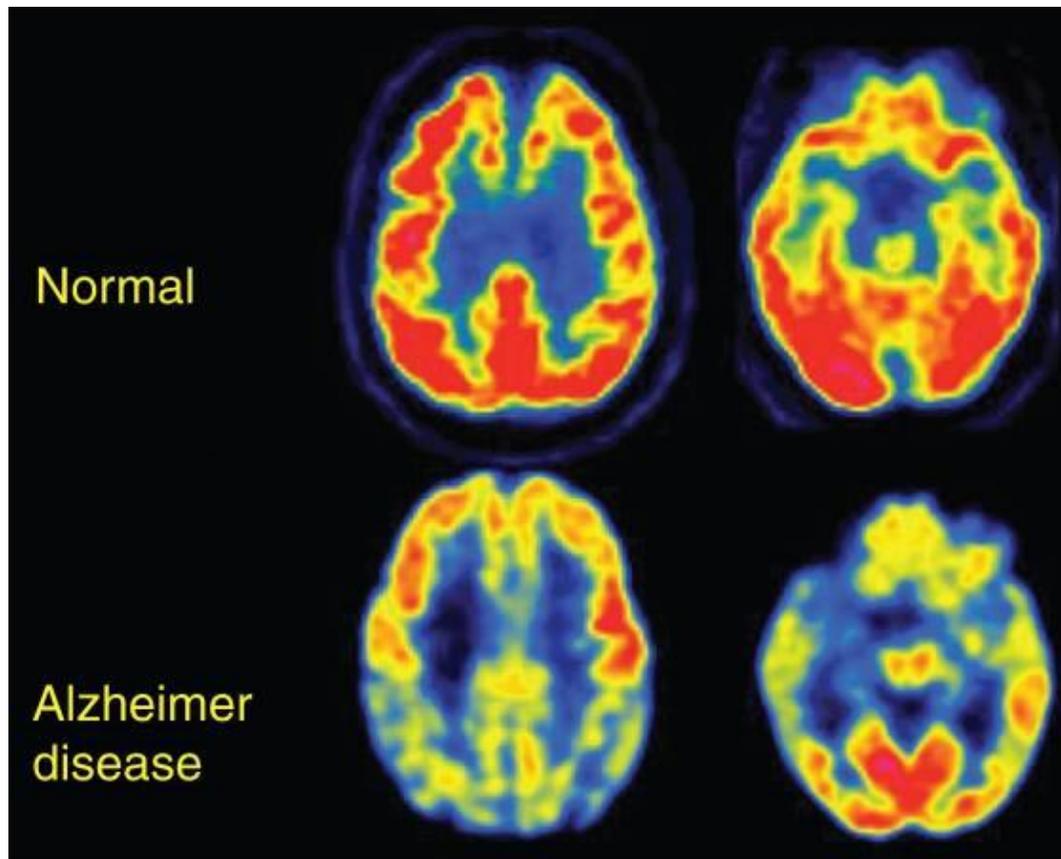


Figura 4 Imagem de metabolismo cerebral por PET. Figura adaptada de (Johnson *et al.*, 2012). Figura demonstra metabolismo cerebral detectado por PET em paciente sem declínio

cognitivo, que apresenta um aumento do metabolismo (cores amarelo e vermelho) e em paciente com Alzheimer, demonstrando hipometabolismo (cor azul).

Histopatologicamente, a DA é caracterizada por 2 tipos de lesão, a presença de placas senis e emaranhados neurofibrilares (Hyman e Trojanowski, 1997; Meraz-Rios *et al.*, 2013). Esses processos, no entanto, e em especial o acúmulo de *Beta* Amiloide, podem ser verificados até 25 anos antes dos primeiros sintomas, época na qual alguns marcadores já aparecem alterados (Jack *et al.*, 2010; Bateman *et al.*, 2012; Jack *et al.*, 2013). A figura 5 mostra a cascata de eventos desde a fase pré-clínica até o estágio demencial mais grave.

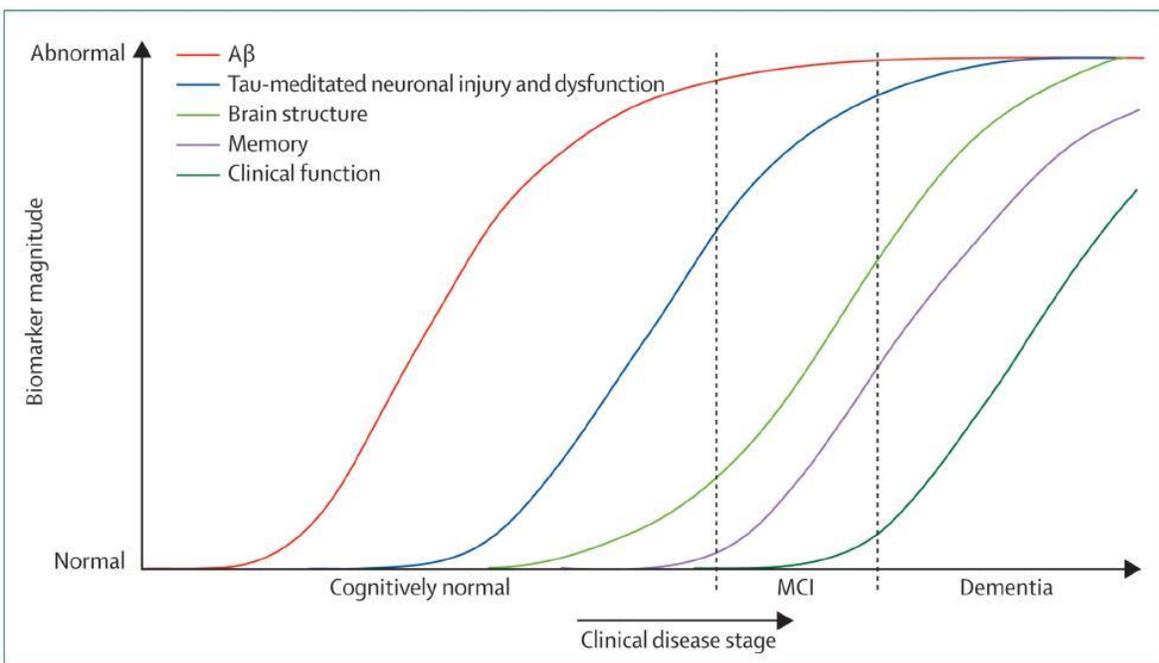


Figura 5 Biomarcadores no processo da patologia de Alzheimer. Legenda: Dinâmica dos biomarcadores durante o desenvolvimento da doença de Alzheimer, tanto na fase prodrômica, quanto ao avançar da demência. Observe que alguns biomarcadores sofrem alterações mesmo com o paciente cognitivamente intacto. Fonte: Adaptado de(Jack *et al.*, 2010).

As placas senis são compostas por acúmulo extracelular de peptídeos β -amiloide, que são derivados da clivagem não fisiológica da proteína precursora amiloide (APP- *Amyloid Precursor Protein*). A APP é uma proteína

transmembrana, que regula funções fisiológicas da célula, principalmente no sistema nervoso central, participando na sinaptogênese e plasticidade sináptica (Chow *et al.*, 2010). Ao sofrer a clivagem, essa proteína pode seguir dois caminhos diferentes: 1) via não amiloidogênica, processo no qual a clivagem inicial é realizada por uma enzima α -secretase, e posteriormente por outra enzima, a γ -secretase, então liberando um peptídeo solúvel, a sAPP α , que possui função neurotrófica e neuroprotetora; 2) via amiloidogênica, no qual a APP sofre a clivagem inicial por outra enzima, a β -secretase, para então posteriormente ser clivada pela γ -secretase, liberando o monômero β -amiloide (A β) (Figura 3). Esses monômeros se unem formando dímeros, que por sua vez se agregam em oligômeros, que se agregam dando origem às fibrilas, que se aglomerando formam então as placas senis (Figura 6) (Dubois *et al.*, 2010; Karran *et al.*, 2011; Viegas *et al.*, 2011; Heppner *et al.*, 2015). Estes dados são mostrados na figura 6 e 7.

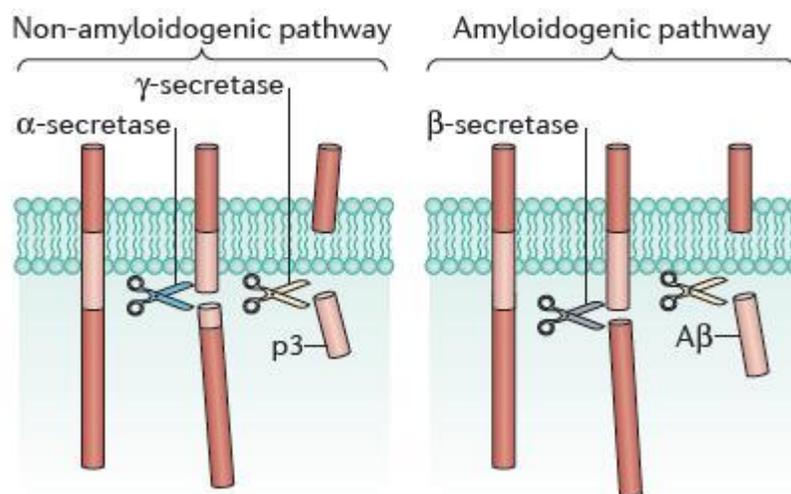


Figura 6 Vias Não-Amiloidogênicas e Amiloidogênicas do APP. Legenda: Proteína precursora amiloide seguindo as 2 vias possíveis: 1) fisiológica ou não amiloidogênica; 2) não fisiológica ou amiloidogênica, formando os peptídeos de β amiloide. Fonte: Adaptado de (Heppner *et al.*, 2015)

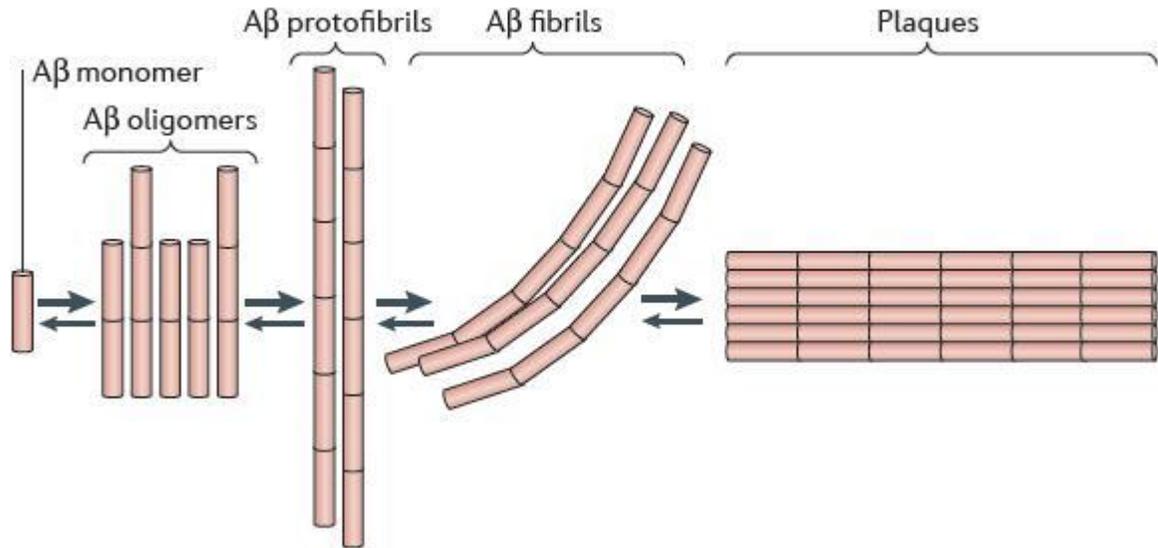


Figura 7 Agregação de monômeros de β amilóide e formação da placa senil. Legenda: Figura mostra a agregação amiloidogênica dos monômeros até a formação das placas senis. Fonte: Adaptado de (Heppner et al., 2015)

Os emaranhados neurofibrilares são formados pela hiperfosforilação da proteína TAU, que é uma proteína estabilizadora dos microtúbulos dos neurônios (Figura 8). Quando hiperfosforiladas, as proteínas TAU perdem a capacidade de estabilizar os microtúbulos, impedindo, assim, o aporte de nutrientes e de neurotransmissores. Os emaranhados neurofibrilares, intraneuronais, por fim levam à apoptose por colapso da célula, em processo de apoptose (Dubois et al., 2010; Karran et al., 2011; Viegas et al., 2011).

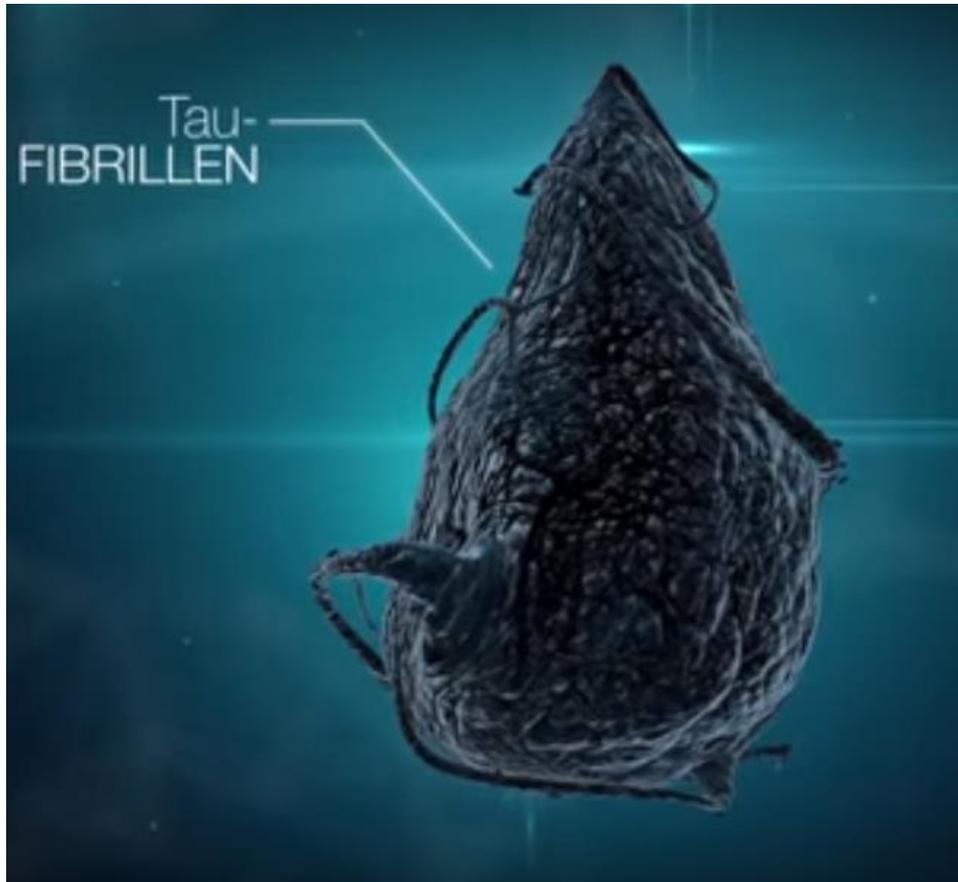


Figura 8 Emaranhados neurofibrilares. Fonte: <https://www.alzheimer-forschung.de/>. Acessado em 17/07/2016 às 23:30.

A presença de sítios de placas de β amiloide atrai microglia e astrócitos, responsáveis por mediar a resposta inflamatória (Heneka *et al.*, 2015). A micróglia é considerada a representação do sistema imunológico no SNC, pois são células que possuem antígenos, realizam fagocitose e liberam fatores citotóxicos (Hanisch e Kettenmann, 2007; Morales *et al.*, 2014). Outras células responsáveis pela resposta imune no SNC são os astrócitos, os astrócitos estão em maior quantidade no SNC e desempenham diversas funções, tais como sinaptogênese, formação e manutenção da barreira hematoencefálica, ser parte de modelo de neurotransmissão, regulação metabólica e manutenção do equilíbrio iônico (Morales *et al.*, 2014). Estudos demonstraram que as micróglias desempenham um papel de remoção de peptídeos de $A\beta$ em cultura, e também são ativadas por protofibrilas de $A\beta$, desencadeando resposta inflamatória (Hardy e Selkoe, 2002; Morales *et al.*, 2014).

Os astrócitos são as células mais abundantes no SNC e desempenham inúmeras funções, desde a manutenção da sinapses, até a resposta na mediação inflamatória com secreção de citocinas (Gomes *et al.*, 2013; Meraz-Rios *et al.*, 2013). São responsáveis por reagir especificamente aos eventos patológicos, através de reação complexa, como a astrogliose, visando a neuroproteção e a recuperação do tecido neural lesionado. Uma reatividade hipertrófica dos astrócitos é observada ao redor de placas senis em estudos *post-mortem* de paciente com Alzheimer (Medeiros e Laferla, 2013; Heneka *et al.*, 2015) e astrócitos ativados podem realizar fagocitose e degradar peptídeos amiloides, podendo contribuir para a remoção de acúmulos de A β (Meraz-Rios *et al.*, 2013). Esta atividade geralmente ocorre após a ativação da microglia e é caracterizada por um aumento da expressão de, por exemplo, proteína glial fibrilar ácida (GFAP) (Olabarria *et al.*, 2011). O aumento dessas e de outras expressões astrocíticas causam uma disfunção na atividade fisiológica dos astrócitos (Meraz-Rios *et al.*, 2013). Em pacientes com DA é possível encontrar astrogliose com expressão de GFAP e S100 que estão relacionadas com manutenção da barreira hematoencefálica (Sastre *et al.*, 2008; Verkhratsky *et al.*, 2010).

Recentes evidências indicam vários tipos de interações entre o sistema imune e o sistema nervoso central na patogênese da DA (Forlenza *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2012; Heneka *et al.*, 2015; Heppner *et al.*, 2015). Tanto a microglia quanto os astrócitos secretam citocinas, como Interleucina 1 β (IL-1 β), fator de necrose tumoral - α (TNF- α), óxido nítrico e outras moléculas com potencial citotóxico após exposição de A β , para reparo dos danos estruturais dos neurônios (Heneka *et al.*, 2015). Do ponto de vista fisiopatológico, a neuroinflamação pode ser considerada parte da tríade neuropatológica que caracteriza a DA (sendo as outras duas, as placas senis e os emaranhados neurofibrilares).

As interleucinas pró-inflamatórias mais comumente citadas especificamente são a IL-6 e IL-1 e TNF- α (Tobinick *et al.*, 2006; Shaftel *et al.*, 2008). Esses biomarcadores também estão relacionados com a redução da massa muscular (sarcopenia) e do tecido ósseo. É provável que isso seja uma consequência de um

acúmulo de déficits nos diversos sistemas orgânicos, provocados por um evento agudo ou como consequência de uma situação crônica no idoso (Pereira; *et al.*, 2011; Mendesa; *et al.*, 2016).

Apesar de o processo de produção de citocinas ser encarado como uma tentativa de combate ao processo fisiopatológico primário, algumas citocinas favorecem ainda mais a neuroinflamação e a neurotoxicidade. O IL-1 β , por exemplo, desempenha um papel de aumentar a expressão da enzima β -secretase, que, por sua vez, gerará um acúmulo maior de peptídeos de β -amiloide. Estudos demonstram que pacientes com DA possuem seis vezes mais superexpressão de IL-1 β e que o polimorfismo desta citocina aumenta o risco de desenvolver DA (Lee *et al.*, 2009). A IL-6, além de aumentar a expressão de APP- β , contribui também para induzir a fosforização da TAU (Quintanilla *et al.*, 2004). O TNF- α induz também a expressão da enzima β -secretase (Meraz-Rios *et al.*, 2013) e produz estresse oxidativo quanto exposto a peptídeos de A β (Lee *et al.*, 2009). A concentração de citocinas anti-inflamatórias também está alterada em pacientes com Alzheimer (Lee *et al.*, 2009; Meraz-Rios *et al.*, 2013). IL-10 pode ser induzido por IL-6 como resposta anti-inflamatória (Petersen e Pedersen, 2006), visto que a IL-10 teria o papel de inibir TNF- α (Dursun *et al.*, 2015). Estudos encontraram o Interferon- γ (IFN- γ) aumentado em resposta à deposição de A β , o que, por sua vez, aumenta ainda mais a produção das placas em modelos de ratos transgênicos para DA (Browne *et al.*, 2013).

JUSTIFICATIVA:

Na DA ainda existem lacunas quanto à identificação de marcadores que possam auxiliar no diagnóstico diferenciado da doença. Os estudos até o momento mostram uma grande variabilidade entre eles, além de diferenças metodológicas que dificultam uma conclusão sobre a relação entre as citocinas e a doença de Alzheimer.

As citocinas parecem ter um papel importante no desenvolvimento e progressão da doença, tendo relação com os processos fisiopatológicos, bem como com o caráter inflamatório presente na doença. A detecção diferenciada na

pessoa com DA e a correlação desses biomarcadores com as características clínico-comportamentais podem auxiliar para o diagnóstico diferenciado.

OBJETIVO GERAL:

Medir níveis dos biomarcadores imunológicos na doença de Alzheimer, no sangue periférico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Desenvolver uma meta-análise sobre a relação das citocinas com a Doença de Alzheimer
- Identificar a presença de biomarcadores inflamatórios na doença de Alzheimer
- Correlacionar os biomarcadores inflamatórios com:
 - A gravidade da doença
 - A capacidade cognitiva dos idosos
 - A capacidade funcional dos idosos
 - A capacidade física dos idosos

METODOLOGIA:

O presente projeto foi realizado em parceria com o projeto intitulado “ANÁLISE DE FATORES GENÉTICOS ENVOLVIDOS NO DESENVOLVIMENTO DE DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS DURANTE O PROCESSO DE ENVELHECIMENTO”, coordenado pelo prof. Pedro Hernán Cabello do Laboratório de genética humana da Universidade do Grande Rio.

META-ANÁLISE

Desenvolvemos uma meta-análise para demonstrar a relação das citocinas com a DA (anexo 1). Para a metodologia desta meta-análise utilizamos o protocolo PRISMA.

Protocolo e Registro

O protocolo desta revisão foi registrado no PROSPERO (CRD42017062617) disponível em http://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/display_record.asp?ID=CRD42017062617.

Para esta revisão, as análises seguiram o guideline PRISMA (Liberati *et al.*, 2009).

Elegibilidade dos estudos

Foram selecionados apenas os estudos originais e controlados, publicados em inglês ou português até Abril 2017. Apenas estudos originais, em humanos, que mensuravam níveis de citocinas em sangue periférico e/ou liquor cefalorraquidiano de pacientes de DA foram incluídos. Estudos que estimulavam respostas inflamatórias por intervenções foram excluídos. Como critério de inclusão o diagnóstico de DA deveria ser baseado no *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV)* ou *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA)*.

Busca nas bases de dados

Para as buscas dos artigos utilizamos como palavras-chave, em português: *Alzheimer, Citocinas, neuroinflamação*; em inglês: *Alzheimer disease, cytokines, neuroinflammation*, os seus sinônimos foram identificados utilizando o MeSHTerms (para as palavras em inglês) e o DeCS (para as palavras em português). As bases de dados para as seleções dos artigos foram *PubMed, Scielo e Web of Science (ISI)*, bem como artigos identificados nas listas de referências de outras revisões e/ou de estudos originais relacionados ao tema.

Seleção dos estudos

Os estudos foram selecionados por 2 pesquisadores independentes e comparados posteriormente, os desacordos foram analisados por um terceiro pesquisador independente. A seleção respeitou 3 etapas: 1º leitura dos títulos; 2º resumos; 3º artigos na íntegra. Na segunda etapa os artigos deveriam informar as citocinas analisadas e que a amostra era de pacientes de DA. Na terceira etapa foram observados os principais resultados e extraídos os dados numéricos das amostras e citocinas analisadas.

Extração dos dados

Os resultados para análise foram retirados como médias e desvio-padrão de cada citocina analisada tanto no grupo DA quanto no controle. Os resultados em mediana ou sem os dados de dispersão foram requeridos aos respectivos autores, outros casos em que os resultados não estivessem em média ou desvio-padrão também foram requeridos aos autores.

Análise estatística

Para efeito estatístico destes resultados foi calculada a diferença absoluta entre médias (WMD) com efeito randomizado considerando a heterogeneidade entre os estudos (Sousa e Ribeiro, 2009; Rodrigues e Ziegelmann, 2011). Caso não fosse possível realizar a diferença absoluta entre médias, era então calculado o tamanho de efeito (TE) da diferença entre média, segundo Hopkins (Hopkins, 2016), que classifica TE como Trivial ($>0,0$), Pequeno ($\geq 0,2$), Moderado ($\geq 0,6$), Grande ($\geq 1,2$), Muito Grande ($\geq 2,0$) e Perfeito (≥ 4).

DELINEAMENTO DO ESTUDO ORIGINAL

O estudo desenvolvido é do tipo observacional, transversal, mediante análises do tipo caso-controle. Foram selecionados idosos pertencentes ao Programa de Atenção Integrada da saúde do Idoso do Município de Duque de Caxias e do Centro de Doença de Alzheimer do Instituto de Psiquiatria da Universidade Federal do Rio de Janeiro. A caracterização física, médico-psicológica foi obtida a partir de dados constantes de prontuários e de entrevista com paciente e acompanhante ou familiar, o estadiamento da doença foi medido pelo Clinical Dementia Rating (CDR) (Hughes *et al.*, 1982), a capacidade cognitiva pelo teste de MiniExame do Estado Mental (Minimental) (MEEM) (Folstein *et al.*, 1975), a capacidade funcional será analisada pela escala de Lawton & Brody (Lawton e Brody, 1969) e a capacidade física pelo teste de sentar e levantar (Jones *et al.*, 1999) os dados serão analisados juntamente com os resultados laboratoriais para inferir as possíveis relações (Anexos os testes a avaliações).

AMOSTRA

Foi realizado um cálculo amostral considerando não se saber o tamanho da população, pois os estudos diferenciam em muito o tamanho da amostra de acordo com a citocina estudada. Neste caso foi considerada população desconhecida. O tamanho da amostra ideal para o nosso estudo é de 400 idosos. Os idosos foram selecionados do Programa de Atenção Integrada da saúde do Idoso do Município de Duque de Caxias e do Centro de Doença de Alzheimer do Instituto de Psiquiatria da Universidade Federal do Rio de Janeiro, que serão divididos em 2 grupos, Grupo Alzheimer e Grupo Controle. Os pacientes com doença de Alzheimer deverão ter o diagnóstico realizado por um profissional qualificado, seguindo os critérios da National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) (Mckhann *et al.*, 1984; Mckhann *et al.*, 2011).

Os pacientes com DA foram diagnosticados segundo os critérios NINCDS-ADRDA (Mckhann *et al.*, 2011), sem outra patologia ou comorbidade que influencie no sistema imunológico, não tendo tampouco o relato de sofrer de nenhum acometimento bucal ou de saúde geral nos últimos 6 meses. Esses dados foram captados pelos dados presentes no prontuário e em entrevista com o paciente e familiar realizado por dois alunos de mestrado, que realizaram os demais testes também.

No grupo controle os idosos seguiram os seguintes critérios de inclusão, para a participação do projeto. Não possuir nenhuma doença ou comorbidade que influencie no sistema imunológico e não ter tido acometimento da saúde geral nem da saúde bucal nos últimos 6 meses.

TESTES E ESCALAS

A gravidade da doença foi caracterizada pelo Clinical Dementia Rating (CDR) (Hughes *et al.*, 1982; Maia *et al.*, 2006) (anexo 1), realizado por um profissional treinado no procedimento. Esta escala verifica o estágio da gravidade da demência. Avaliam-se 6 domínios cognitivos e no final o indivíduo é classificado em 4 estágios de demência, do cognitivamente questionável até demência severa, mais o cognitivamente intacto (Tabela 4), esta escala já foi validada para versão em português. (Macedo Montaña e Ramos, 2005).

Tabela 2 Classificação CDR

| Dano | Nenhum (0) | Questionável (0,5) | Leve (1) | Moderado (2) | Grave (3) |
|-----------------------------------|---|---|---|---|---|
| Memória | Sem perda de memória ou perda leve e inconstante. | Esquecimento constante, recordação parcial de eventos. | Perda de memória moderada, mais para eventos recentes, atrapalha as atividades de vida diária | Perda grave de memória, apenas assunto altamente aprendido é recordado. | Perda de memória grave. Apenas fragmentos são recordados. |
| Orientação | Completa Orientação | Completamente orientado com dificuldade leve em relação ao tempo. | Dificuldade moderada com relação ao tempo, orientado em áreas familiares. | Dificuldade grave com relação ao tempo, desorientado quase sempre no espaço. | Apenas orientado em relação a pessoas. |
| Julgamento e solução de problemas | Resolve problemas diários, como problemas financeiros; julgamento preservado. | Dificuldade leve para solucionar problemas, similaridades e diferenças. | Dificuldade moderada em lidar com problemas, similaridades e diferenças, julgamento social mantido. | Dificuldade séria em lidar com problemas, similaridades e diferenças, julgamento social danificado. | Incapaz de fazer julgamento ou resolver problemas. |
| Relações Comunitárias | Função independente no trabalho, compras, grupos sociais. | Leve dificuldade nestas tarefas. | Não é independente nestas atividades, parece normal em uma inspeção | Não há independência fora de casa, parece bem o bastante para ser levado fora de casa. | Não há independência fora de casa, parece doente o bastante para ser levado fora de casa. |

| | | | | | |
|-------------------|---|--|--|--|--|
| | | | casual. | | |
| Lar e Passatempos | Vida em casa, passatempos e interesses intelectuais mantidos. | Vida em casa, passatempos, interesses intelectuais levemente prejudicados. | Prejuízo suave em tarefas em casa, tarefas mais difíceis, passatempo e interesses abandonados. | Apenas tarefas simples são preservadas, interesses muito restritos e pouco mantidos. | Sem função significativa em casa. |
| Cuidados Pessoais | Completamente capaz de cuidar-se | Completamente capaz de cuidar-se. | Necessita de ajuda. | Requer assistência ao vestir-se, para higiene. | Muita ajuda para cuidados pessoais, incontinências frequentes. |

Legenda: Tabela mostra as classificações do CDR e os impactos funcionais que cada fase da doença deve apresentar. Fonte:

Adaptado de (Macedo Montañó e Ramos, 2005)

A capacidade cognitiva foi avaliada pelo Mini Exame do Estado Mental (anexo 2). Este exame foi criado por (Folstein *et al.*, 1975) e é um dos mais utilizados no mundo para avaliação da capacidade cognitiva. É composto por 11 itens, que são divididos em duas seções: 1) respostas verbais, orientação, memória e atenção; e 2) leitura e escrita. A pontuação total vai de 0 a 30, quanto maior a pontuação, melhor a capacidade cognitiva. Para este projeto usamos a versão apresentada por (Bertolucci *et al.*, 1994).

Avaliamos a capacidade física pelo teste de sentar e levantar (Jones *et al.*, 1999) (anexo 3). O participante é posicionado sentado no meio da cadeira, com os pés planos no chão e as mãos cruzadas na altura do tórax. No sinal de "vai" o participante fica em pé e em seguida volta à posição sentada. Após um aquecimento e familiarização, administra-se o teste. A pontuação é o número de levantamentos concluídos em 30 segundos. Este teste possui uma alta confiabilidade ($r = 0,89$) e foi validado com o teste de uma repetição máxima (1RM) da extensão do joelho e quadril executada no aparelho leg press ($r = 0,77$) (Jones *et al.*, 1999).

Utilizamos a escala de Lawton-Brody (Lawton e Brody, 1969) (anexo 4) para avaliar a capacidade funcional dos idosos. Este instrumento avalia o nível de independência no que se refere à realização das atividades instrumentais (AIVD) e atividades básicas (ABVD).

PROCEDIMENTOS

Durante a triagem foram analisados os prontuários dos idosos para identificação dos itens que se enquadrem aos critérios de inclusão. Após a pré-seleção, foi realizada uma entrevista com os idosos selecionados, os idosos com doença de Alzheimer, a entrevista foi realizada com o acompanhante do mesmo. A entrevista constou no preenchimento de uma anamnese e em seguida a realização dos testes para determinar a gravidade da demência, capacidade cognitiva, física e funcional.

Posteriormente à verificação dos testes, foi realizada uma coleta de 5ml de sangue por um profissional especializado e capacitado. A amostra foi então encaminhada ao Laboratório de Genética da UNIGRANRIO (LABGEN), onde foi

processada e armazenada em uma geladeira -80^o até o dia da análise. O processamento da amostra foi realizado no Laboratório de Imunofisiologia do Exercício e no Laboratório de Imunopatologia da Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ). Os níveis séricos dos marcadores inflamatórios foram determinados através de Citometria de Fluxo, pelo método *Cytometric Bead Assay* (CBA; BD Biosciences, San Jose, Califórnia, EUA).

A concentração de biomarcadores inflamatórios circulantes foi determinada pelo método *Cytometric Bead Assay* (CBA; BD Biosciences, San Jose, Califórnia, EUA) utilizando dois kits, a saber: i) *Human Inflammatory Cytokines Kit*, para a detecção das citocinas TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 e IL-12p70 *Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit*, para a detecção das citocinas IL-2, IL-4, IFN- γ e IL-17, seguindo as recomendações do fabricante.

Resumidamente, cinquenta microlitros das amostras de soro, bem como o padrão para cada uma das citocinas avaliadas foram incubados com microesferas de captura (de tamanho e padrões de fluorescência conhecidos) recobertas com anticorpos específicos para as respectivas citocinas, e com os anticorpos de detecção conjugados com ficoeritrina (PE) por 3 horas à temperatura ambiente, protegido da luz. Após este período de incubação, as amostras foram lavadas por centrifugação a 200 x g por 5 minutos com tampão fornecido pelo kit. O sobrenadante foi desprezado e as amostras ressuspensas em 300 μ L de tampão de lavagem. A curva-padrão compreendeu as seguintes diluições: 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 e 1:256, apresentando concentrações que variaram de 20 a 5.000 pg/mL, conforme orientação do fabricante. Foi realizada a aquisição de 2.000 eventos/microesferas em citômetro de fluxo FACSCanto II (Becton, Dickinson and Company, BD Bioscience).

Os resultados foram gerados a partir de análises realizadas utilizando-se o programa FCAP Array versão 3.0 (BD Bioscience) para calcular a concentração de cada citocina tendo como base a curva-padrão já descrita.

O projeto foi aprovado pelo o comitê de ética em pesquisa (CEP) da Unigranrio, no. CAEE 57332116.7.0000.5283, no. do parecer: 1.642.928 (anexo 5). Todos os

indivíduos que concordarem em participar do estudo, assinarão o termo de consentimento livre esclarecido (TCLE) (anexo 6).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados sociodemográficos e clínicos dos grupos foram descritos em média e desvio-padrão (m; dp), sempre quando possível. Foi utilizado o teste de qui quadrado e o teste t student quando necessário para a comparação dos dados sociodemográficos. Foi realizada a análise estatística para a comparação dos níveis dos biomarcadores inflamatórios entre o grupo Alzheimer e o grupo controle. Os testes de Mann-Whitney e teste t student foram utilizados quando necessários para os dados paramétricos e não paramétricos, respectivamente, para a comparação dos biomarcadores. Os biomarcadores foram comparados utilizando (m; dp). A correlação dos marcadores inflamatórios com as variáveis cognitivas e físicas-funcionais foi avaliada utilizando os testes de *Spearman* e de *Pearson*, para os dados não paramétricos e paramétricos, respectivamente. Foi adotado $p < 0,05$ para significância estatística. Foi utilizado a classificação de Cohen para a intensidade das correlações (Hopkings, 2016).

RESULTADOS:

Foram incluídos no estudo 45 idosos participantes, entre eles 24 idosos controles (GC) e 21 idosos com diagnóstico de DA (GA). Ocorreu uma predominância feminina nos dois grupos. Ambos os grupos tinham aproximadamente a mesma idade. O grupo controle obteve, como esperado, maior pontuação no MEEM comparado ao grupo Alzheimer. A maior parte do grupo Alzheimer possui mais de 8 anos de estudos, enquanto no grupo controle grande parte possui menos que 8 anos de estudo. Quanto aos números de comorbidades nos participantes, a maioria possuía apenas uma comorbidade ou então nenhuma. Entre as comorbidades, a Hipertensão Arterial sistêmica (HAS) foi a mais encontrada, conforme demonstra a tabela 3.

Nas avaliações físicas ambos os grupos apresentaram IMC sem diferença estatisticamente significativa. Não foi encontrada diferença significativa para o teste de sentar e levantar (TSL). No entanto, para a capacidade funcional em todos os níveis, quando foi avaliada a capacidade funcional total, básica ou instrumental, o grupo controle apresentou uma maior capacidade funcional conforme mostra a tabela 3.

Foram avaliadas 10 citocinas inflamatórias (IL-17, IFN- γ , IL-4, IL-2, IL-12, TNF- α , IL-10, IL-6, IL-1 β e IL-8), conforme mostram as figuras 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 e 18. Apenas as citocinas IL-10 e IL-1 β apresentaram normalidade em suas curvas. Três citocinas foram encontradas aumentadas em pacientes com DA comparados ao controle (IL-12; IL-10 e IL-1 β), conforme mostra a tabela 4. Foi encontrada também uma tendência de aumento da IL-8 e de diminuição da IL-2 para pacientes com DA.

Tabela 3 Características da amostra

| | Alzheimer | Controle | p |
|---|------------------|-----------------|----------|
| | M(±DP) | M(±DP) | |
| N (M/F)⁺ | 21 (9/12) | 24 (4/20) | 0,06 |
| %Feminino | 57,1% | 83,3% | - |
| Idade[#] | 75,9 (7,4) | 75,3 (7,5) | 0,7 |
| MEEM[#] | 17,9 (5,7) | 25,4 (4,0) | <0,001* |
| CDR | - | - | - |
| 0 | - | 75% | - |
| 0,5 | - | 25% | - |
| 1 | 52,4% | - | - |
| 2 | 42,9% | - | - |
| 3 | 4,8% | - | - |
| Escolaridade | | | |
| Analfabeto (%) | 9,5% | 8,3% | - |
| <8 anos de estudos (%) | 28,6% | 58,3% | - |
| >8 anos de estudos (%) | 61,9% | 33,3% | - |
| Nº de comorbidades | | | |
| 0 | 23,8% | 33,3% | - |
| 1 | 57,1% | 33,3% | - |
| 2 | 14,3% | 29,2% | - |
| 3+ | 4,8% | 4,2% | - |
| HAS (%) | 42,9% | 33,3% | - |
| Diabetes (%) | 9,5% | 16,7% | - |
| IMC^{**} | 27,1 (4,7) | 27,6 (5,3) | 0,7 |
| TSL^{**} | 10,0 (4,3) | 10,1 (4,9) | 0,6 |
| Lawton Total^{**} | 37,3 (21,9) | 8,8 (11,5) | 0,00* |
| Lawton Basica^{**} | 6,0 (4,2) | 0,3 (1,0) | 0,00* |
| Lawton Instrumental^{**} | 31,2 (20,0) | 8,5 (10,9) | 0,00* |
| Visita ao Dentista | 19% | 41% | |
| Tratamento Dentário | 4,8% | 12,5% | |

Legenda: M=média; DP= Desvio Padrão; MEEM= Mini Exame do Estado Mental; IMC=Índice de Massa Corporal; TSL= Teste de Sentar e Levantar; += Teste de Chi-quadrado; #=teste t; **=teste de Mann-Whitney U, *=p<0,05.

Tabela 4 Nível periférico de citocina entre os grupos.

| | Alzheimer | Controle | p |
|---|------------------|-----------------|----------|
| | M(±DP) | M(±DP) | |
| IL_17⁺⁺ | 22,9 (16,5) | 27,4 (19,7) | 0,3 |
| IFN-γ⁺⁺ | 1,1 (0,8) | 1,3 (0,9) | 0,3 |
| IL_4⁺⁺ | 0,5 (1,0) | 0,7 (1,8) | 0,9 |
| IL_2⁺⁺ | 0,3 (0,9) | 0,6 (1,1) | 0,06 |
| IL_12⁺⁺ | 2,1 (1,2) | 1,4 (0,8) | 0,01* |
| TNF-α⁺⁺ | 2,1 (1,8) | 1,5 (1,8) | 0,1 |
| IL_10⁺ | 5,6 (1,2) | 4,3 (1,4) | 0,02* |
| IL_6⁺⁺ | 11,4 (14,5) | 7,7 (5,0) | 0,7 |
| IL_1β⁺ | 2,3 (1,0) | 1,6 (1,0) | 0,03* |
| IL_8⁺⁺ | 72,3 (89,3) | 48,5 (42,6) | 0,07 |

Legenda: M=média; DP= Desvio Padrão; +=teste t (curva normal); ++=teste de Mann-Whitney U; *= $p < 0,05$.

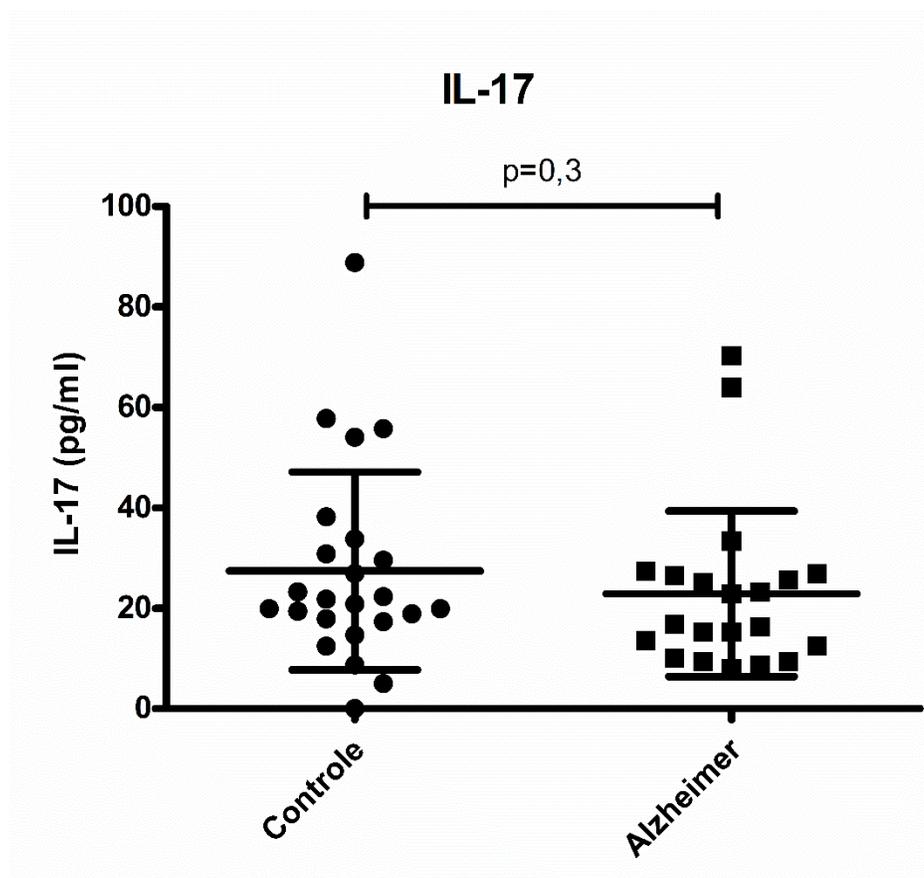


Figura 9 Médias do grupo controle e Alzheimer para IL-17.

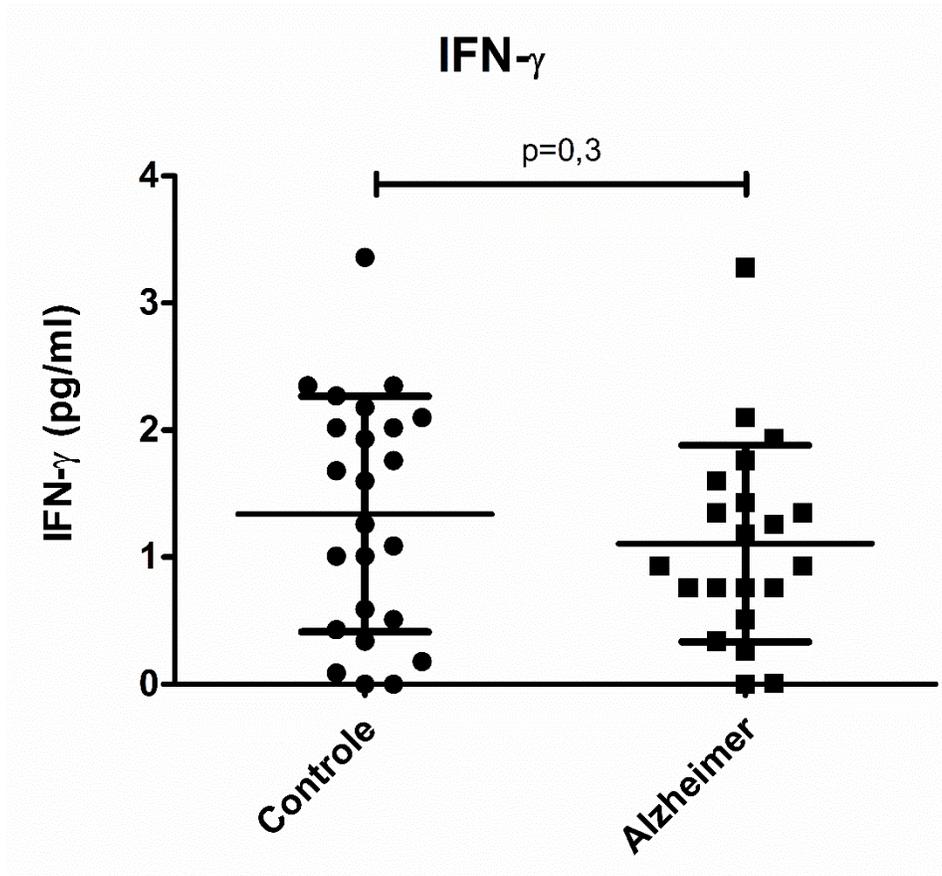


Figura 10. Médias do grupo controle e Alzheimer para IFN- γ .

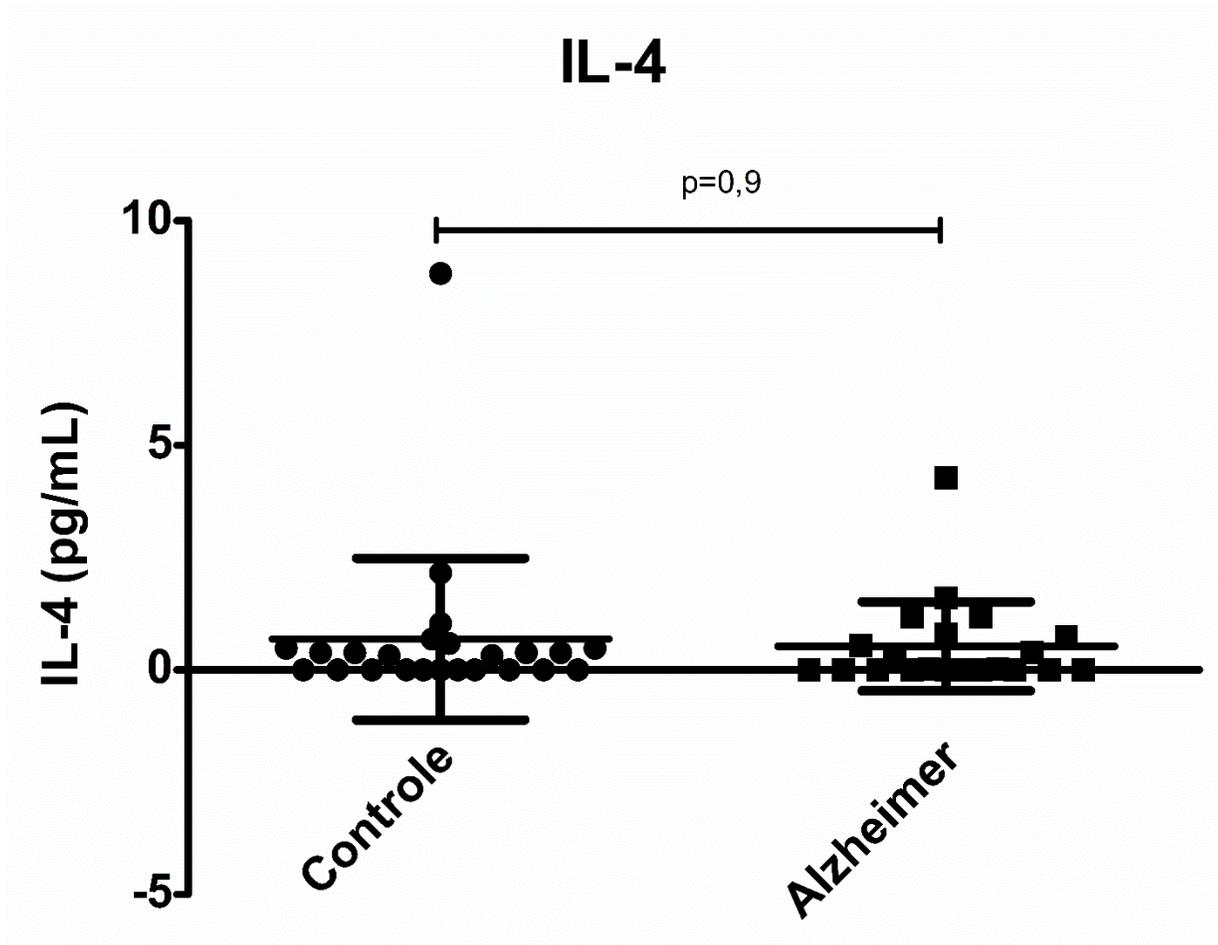


Figura 11 Médias do grupo controle e Alzheimer para IL-4.

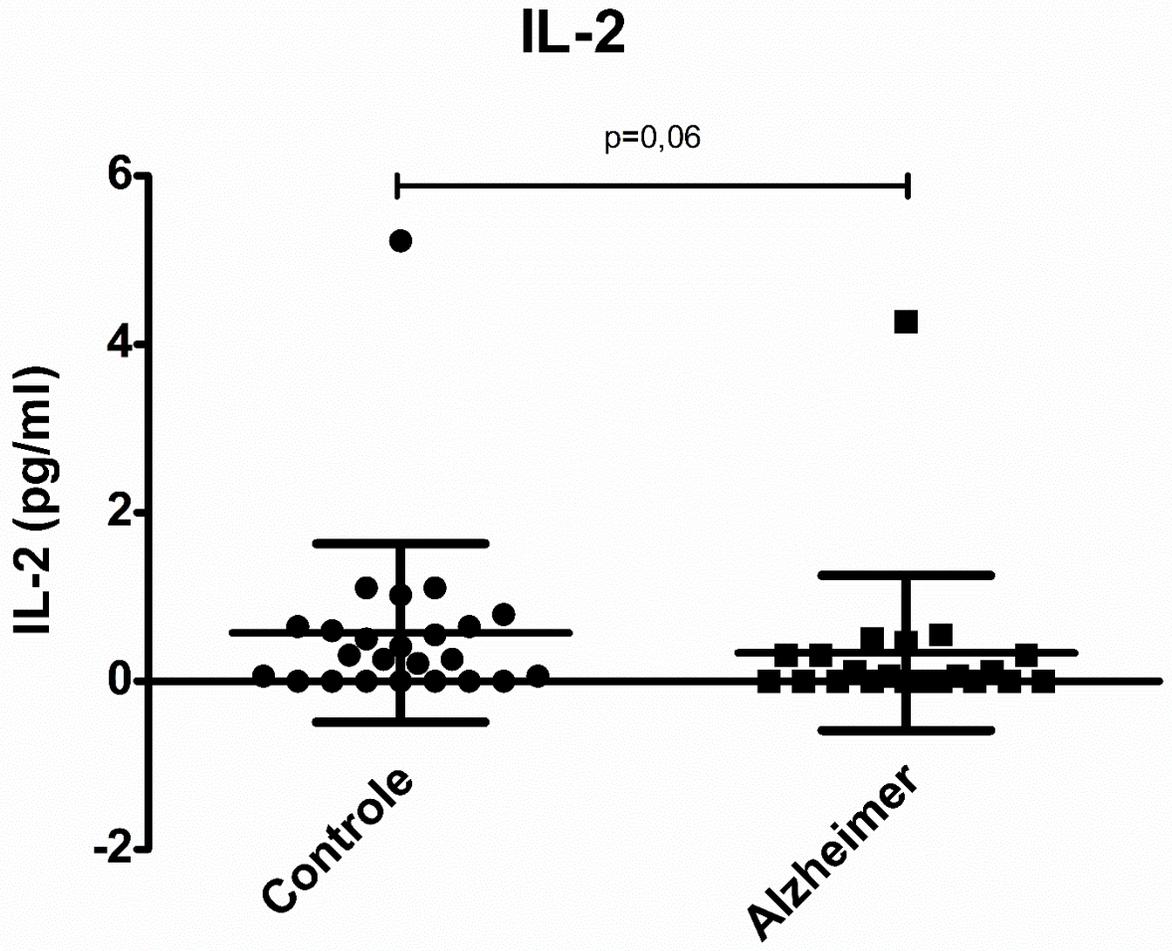


Figura 12. Médias do grupo controle e Alzheimer para IL-2.

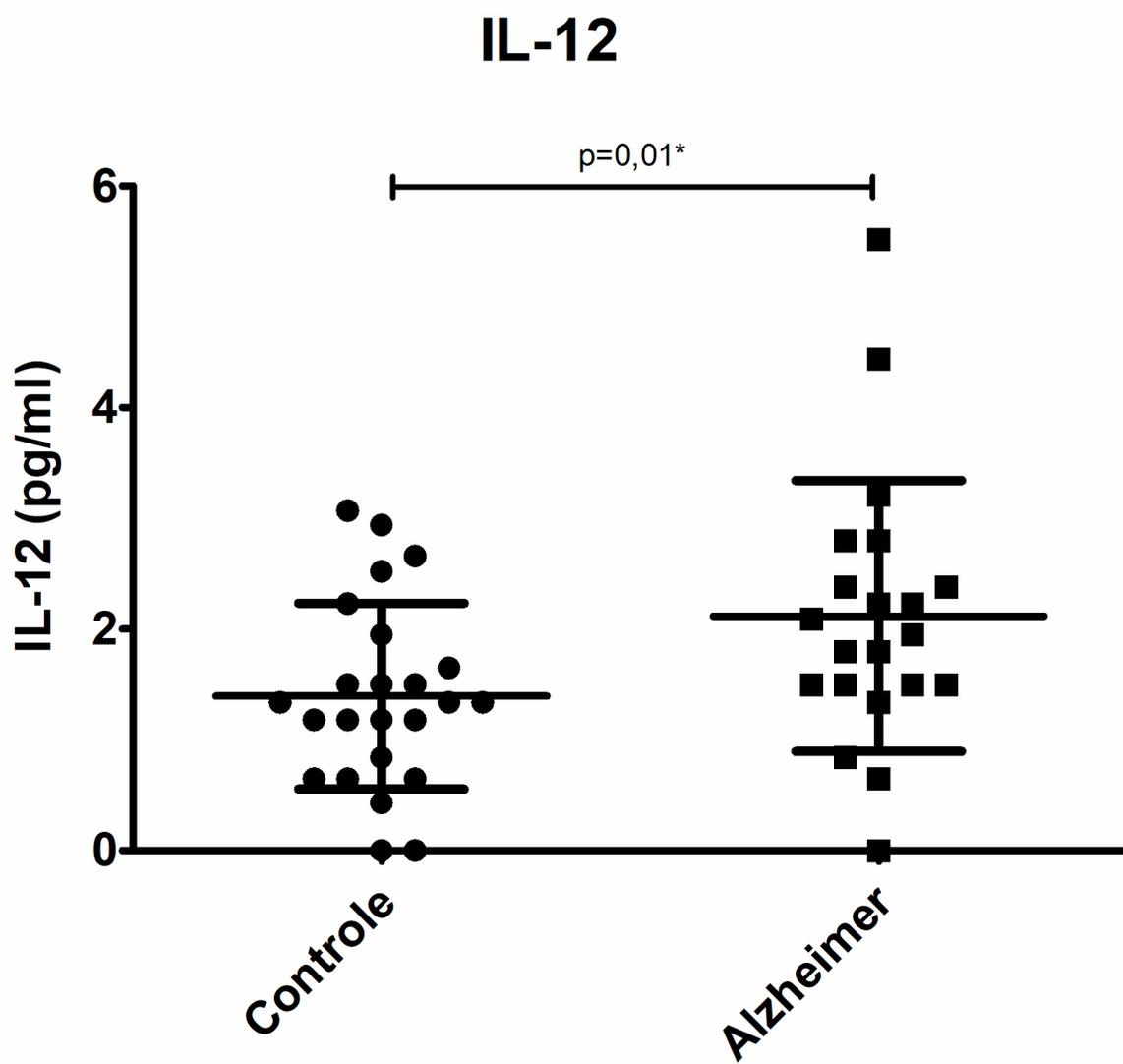


Figura 13. Médias do grupo controle e Alzheimer para IL-12.

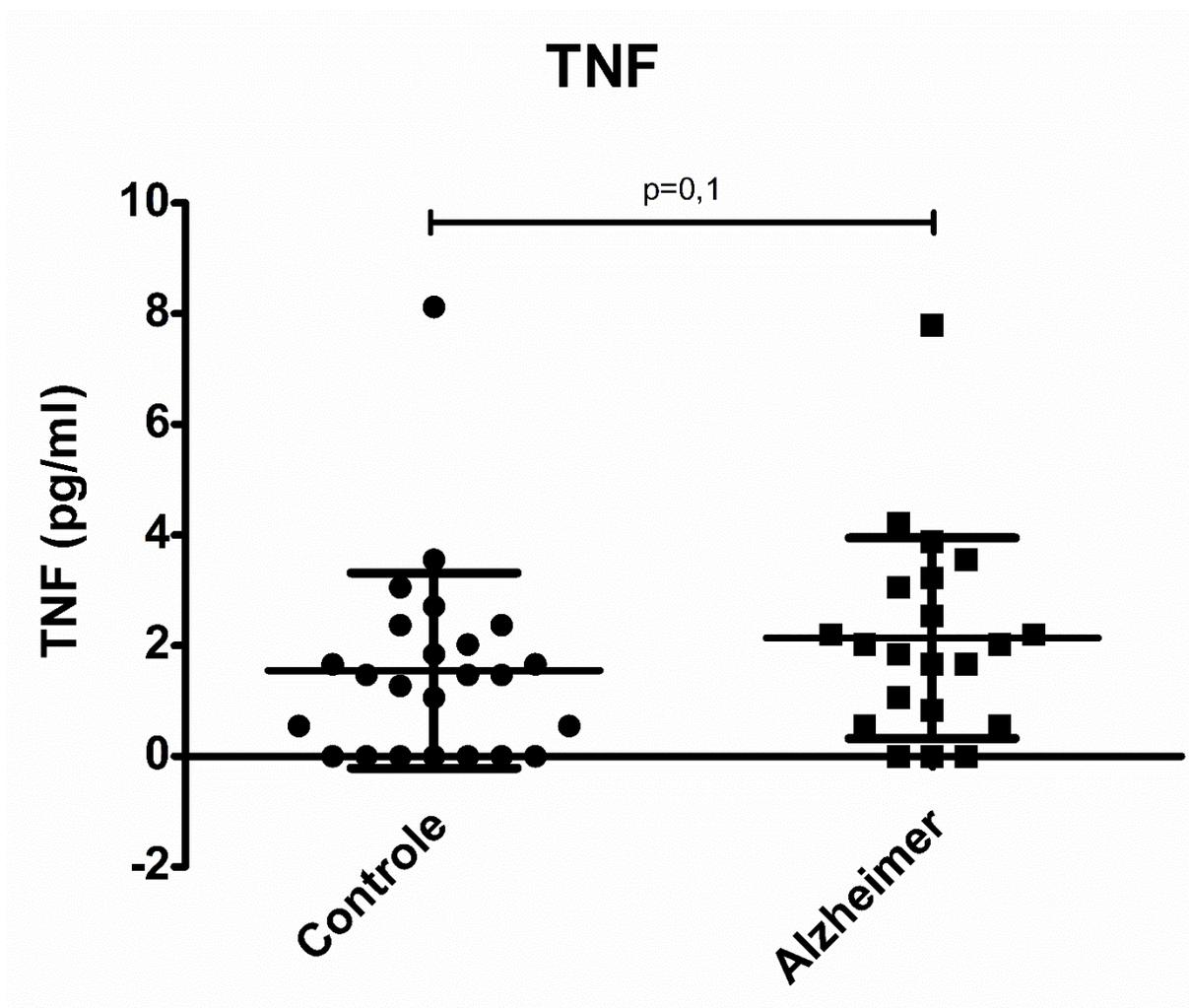


Figura 14. Médias do grupo controle e Alzheimer para TNF- α .

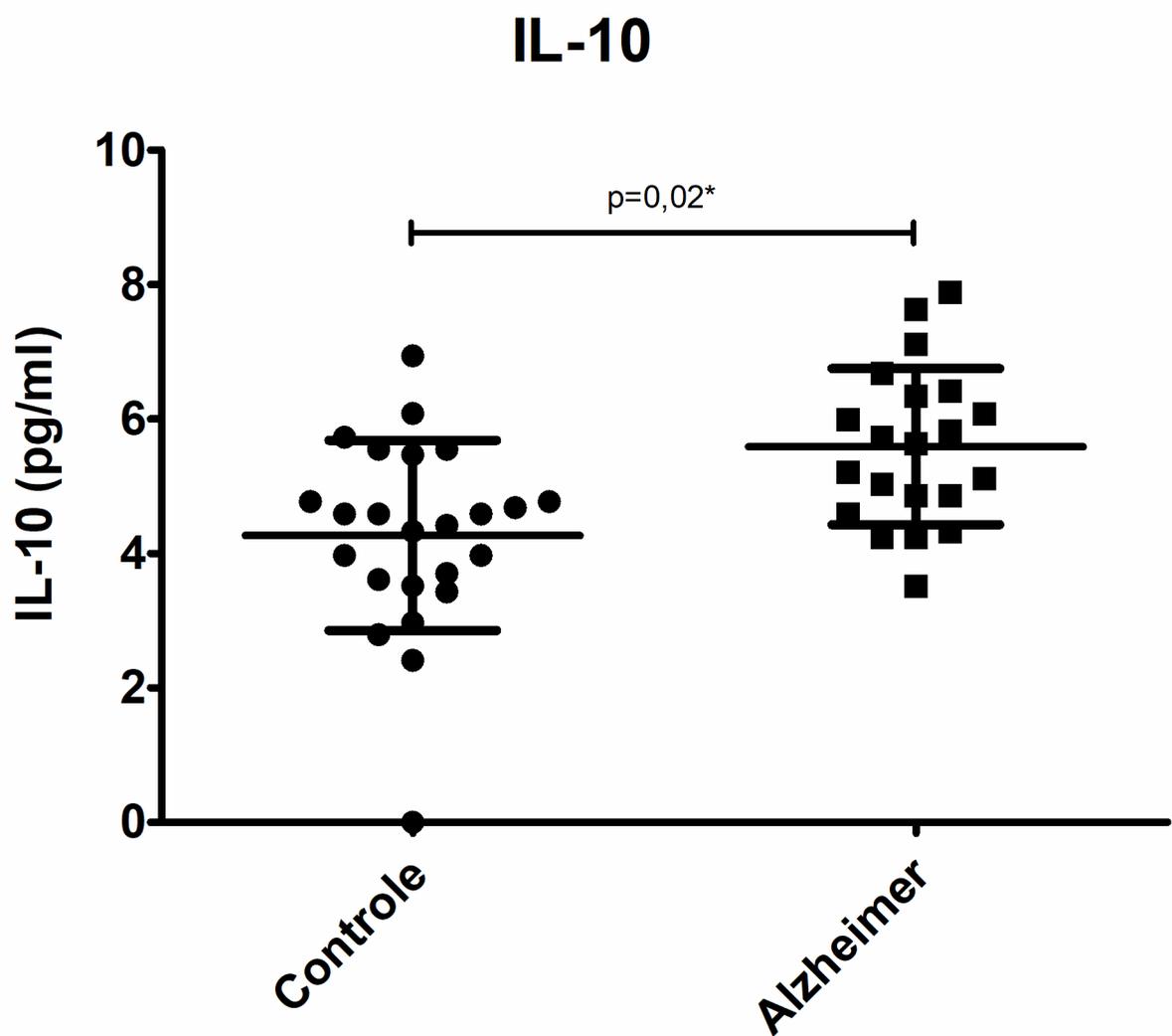


Figura 15 Médias do grupo controle e Alzheimer para IL-10.

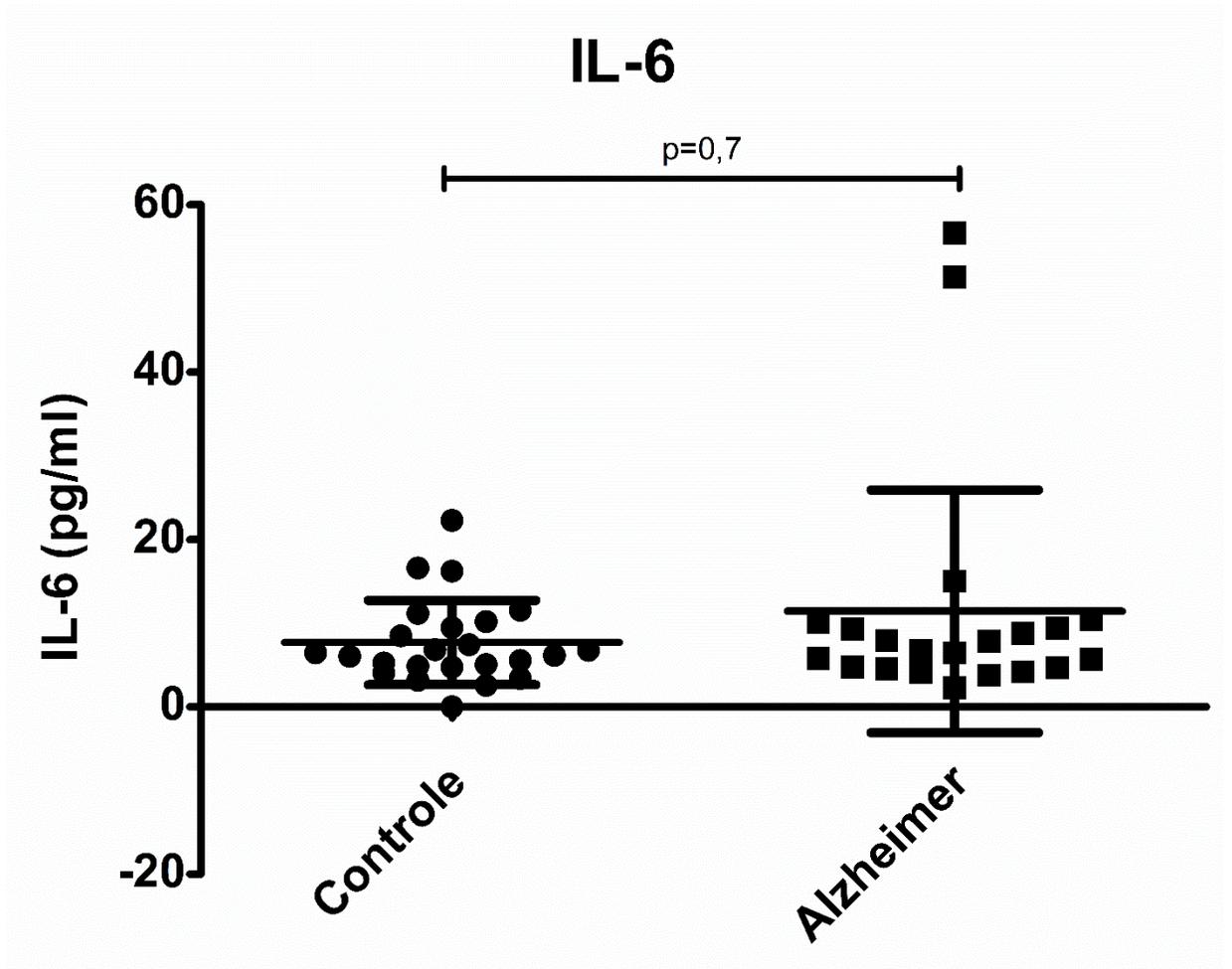


Figura 16. Médias do grupo controle e Alzheimer para IL-6.

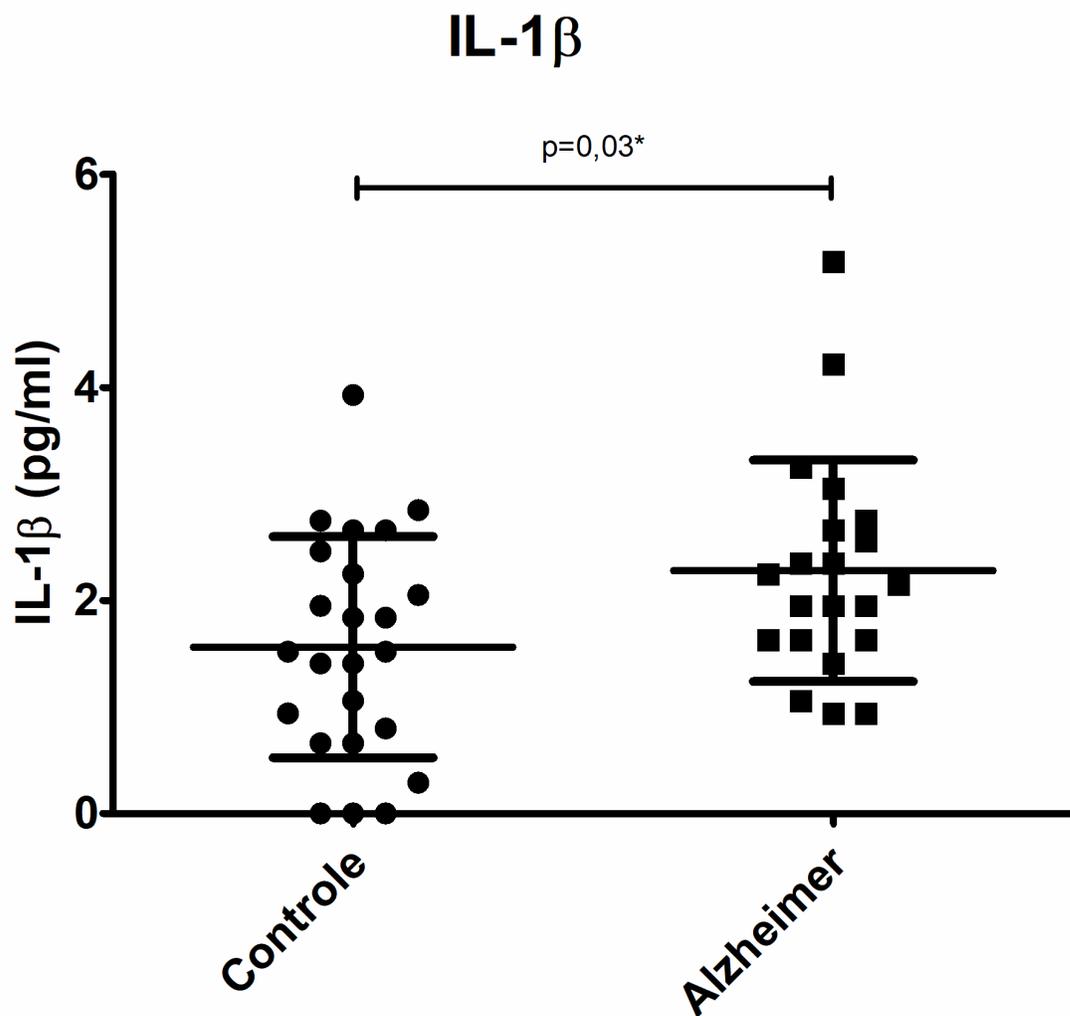


Figura 17 Médias do grupo controle e Alzheimer para IL-1 β .

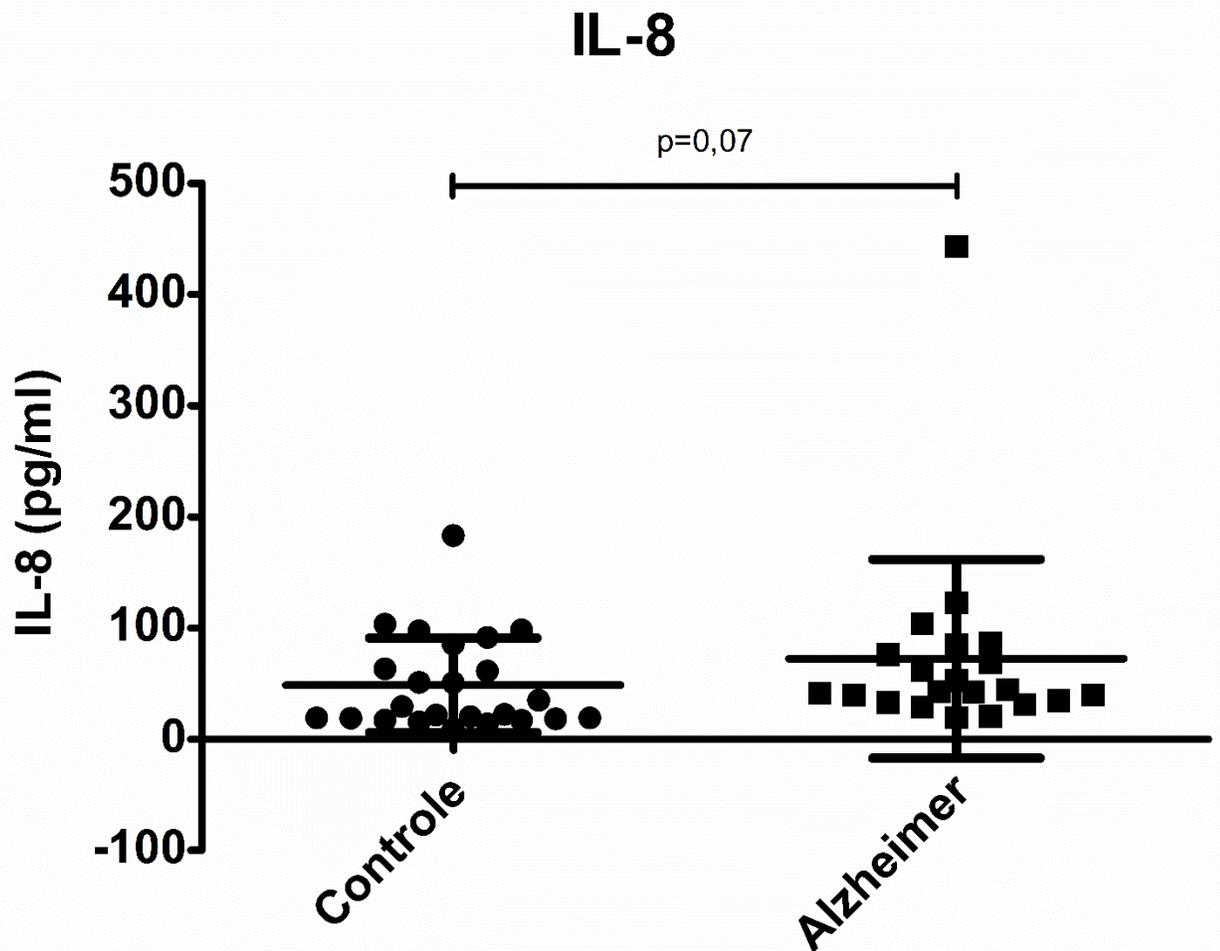


Figura 18 Médias do grupo controle e Alzheimer para IL-8.

A IL-10 foi a citocina que obteve correlação positiva de intensidade moderada com Idade, CDR, Lawton na pontuação total e na pontuação para atividades básicas de vida, demonstrando que quanto maior for o resultado destas variáveis, maior será o nível sérico desta citocina. Foi encontrado uma correlação negativa da IL-10 com MEEM, mostrando que quanto menor for a pontuação no teste, maior será a concentração desta citocina.

A idade se correlacionou moderadamente com três citocinas (IL-12, IL-10 e IL-6), demonstrando que maior a idade do indivíduo, maior a concentração destes biomarcadores inflamatórios. Para o CDR foi encontrado correlação positiva e moderada para IL-10. O TSL se correlacionou negativamente e moderado com TNF- α , mostrando que quanto maior a concentração desta citocina menor a capacidade do indivíduo de se levantar sem apoio, conforme mostra a tabela 5.

Tabela 5 Tabela de correlações citocinas e capacidade cognitiva e física

| | IL-17 | | IFN- γ | | IL-4 | | IL-2 | | IL-12 | | TNF | | IL-10 | | IL-6 | | IL-1 β | | IL-8 | |
|---------------------|-------|------|---------------|------|-------|------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|--------------|------|-------|------|
| | r | p | r | p | r | p | r | p | r | p | r | p | r | p | r | p | r | p | r | p |
| Idade | 0,13 | 0,39 | 0,1 | 0,49 | -0,18 | 0,24 | -0,23 | 0,13 | 0,31 | 0,04* | -0,02 | 0,9 | 0,37 | 0,01* | 0,32 | 0,03 | 0,12 | 0,41 | -0,15 | 0,31 |
| CDR | -0,15 | 0,39 | -0,21 | 0,17 | 0,01 | 0,97 | -0,2 | 0,18 | 0,27 | 0,07 | 0,2 | 0,18 | 0,38 | 0,01* | -0,01 | 0,97 | 0,26 | 0,09 | 0,16 | 0,28 |
| MEEM | 0,06 | 0,68 | -0,01 | 0,95 | 0,04 | 0,78 | 0,16 | 0,28 | -0,18 | 0,23 | -0,2 | 0,19 | -0,32 | 0,03* | -0,05 | 0,72 | -0,03 | 0,82 | 0,03 | 0,85 |
| TSL | -0,17 | 0,25 | -0,25 | 0,1 | 0,16 | 0,29 | 0,15 | 0,32 | -0,3 | 0,87 | -0,31 | 0,04* | -0,13 | 0,4 | -0,08 | 0,6 | 0,16 | 0,29 | -0,15 | 0,34 |
| Lawton Total | 0 | 0,98 | -0,1 | 0,53 | 0 | 0,98 | -0,21 | 0,17 | -0,22 | 0,14 | 0,28 | 0,06 | 0,31 | 0,04* | 0,09 | 0,55 | 0,1 | 0,49 | 0,14 | 0,35 |
| Lawton Básico | -0,11 | 0,46 | -0,16 | 0,3 | -0,09 | 0,53 | -0,24 | 0,11 | 0,24 | 0,11 | 0,27 | 0,06 | 0,35 | 0,02* | 0,03 | 0,86 | 0,15 | 0,31 | 0,21 | 0,16 |
| Lawton Instrumental | 0,01 | 0,93 | -0,08 | 0,59 | 0,02 | 0,91 | -0,2 | 0,18 | 0,2 | 0,19 | 0,26 | 0,09 | 0,28 | 0,06 | 0,08 | 0,62 | 0,09 | 0,57 | 0,13 | 0,4 |

Legenda: CDR= Escala de Demência Clínica (Clinical Dementia Rating), MEEM= Mini Exame de Estado Mental, TSL= Teste de Sentar e Levantar. *=p<0,05.

Foi realizado uma correlação do teste cognitivo MEEM com todos os testes de capacidade físico-funcional utilizados neste trabalho. Conforme mostra a tabela 8, o MEEM se correlacionou fortemente com o teste de Lawnton para as atividades instrumentais e com intensidade muito grande com os testes de Lawnton para as atividades básicas e na pontuação total de Lawnton e Brody. Já com o teste de sentar e levantar em 30 segundos, o MEEM se correlacionou de forma moderada. O TSL também se correlacionou moderadamente com a pontuação total de Lawnton e na avaliação de atividades instrumentais pelo Lawnton e Brody.

| | TSL | | Lawnton Total | | Lawnton Básico | | Lawton Instrumental | |
|-------------|------|-------|---------------|-------|----------------|-------|---------------------|-------|
| | r | p | r | p | r | p | r | p |
| MEEM | 0,33 | 0,02* | -0,72 | 0,00* | -0,74 | 0,00* | -0,70 | 0,00* |
| TSL | - | - | -0,38 | 0,01* | -0,19 | 0,2 | -0,37 | 0,01* |

Tabela 6 correlação dos testes MEEM e TSL com o teste de Lawnton e Brody

Legenda: TSL=Teste de Sentar e Levantar; *=p<0,05.

Discussão:

Nossos resultados demonstraram que pacientes com DA apresentaram uma alteração do sistema imunológico avaliados pelas citocinas inflamatórias. Encontramos níveis mais elevados de IL-12, IL-10 e IL-1 β para DA comparado ao grupo controle. Para IL-12 nossos resultados contrariaram os resultados de outros estudos (Rentzos *et al.*, 2006; Motta *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2008) que demonstraram uma diminuição desta citocina para pacientes com DA. Porém, o estudo de (Motta *et al.*, 2007) sinalizou que esta citocina se encontra em níveis bem elevados para DA em fase inicial e que ocorreria uma queda da IL-12, conforme a gravidade desta patologia fosse aumentando. Nossa amostra é composta em grande parte de pacientes com Alzheimer leve, o que poderia justificar a diferença encontrada comparada ao grupo controle. No entanto, nossa meta-análise desenvolvida e demonstrada anteriormente demonstrou não haver uma diferença significativa para esta citocina entre DA e controle. Vale ressaltar, no entanto, que encontramos uma heterogeneidade grande entre os estudos selecionados, Já em outra meta-análise desenvolvida por (Swardfager *et al.*, 2010) os autores demonstraram um aumento significativo para a IL-12 em DA.

Para a IL-10 identificamos um aumento desta citocina na DA, porém tanto na nossa meta-análise quanto na meta-análise de (Swardfager *et al.*, 2010), não se identificou diferença deste biomarcador para DA. O mesmo foi encontrado em outros estudos (Rota *et al.*, 2006; Bonotis *et al.*, 2008; Llano *et al.*, 2012) que não obtiveram diferença estatística para este marcador. Já (Wang *et al.*, 2014) demonstraram uma diferença desta citocina em pacientes com declínio cognitivo e saudáveis, porém esta citocina mostrou ter um baixo potencial discriminador. Naquele estudo foram avaliados três grupos (pacientes com DA, pacientes com declínio cognitivo leve com amnésia e controles). O aumento desta citocina em pacientes DA demonstra o caráter anti-inflamatório ativado nessa população, visto que IL-10 pode ser considerada um potente anti-inflamatório derivado de células *T Helper 2* (TH2) com o papel de inibir a produção de outras citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-1 β e IL-12. A IL-10 no SNC é liberada pela micróglia e astrócitos. (Kiyota *et al.*, 2012) demonstraram que o aumento da IL-10 em resposta a inflamação em SNC foi necessária para a redução da

microgliose, da astrogliose e importante para manutenção e ganho da capacidade cognitiva em ratos de modelo Alzheimer.

Para IL-1 β demonstramos aumento de sua concentração periférica na DA, corroborando outros estudos (Zuliani *et al.*, 2007; Forlenza *et al.*, 2009) que demonstraram aumento desta citocina na DA. NO entanto, isto contraria os resultados de outros estudos, que demonstram não haver diferença significativa desta citocina na DA em sangue periférico (Yasutake *et al.*, 2006; Llano *et al.*, 2012) e em liquor (Richartz *et al.*, 2005). No estudo de (Forlenza *et al.*, 2009) os autores identificaram o aumento desta citocina na DA e correlação negativa da mesma citocina com a capacidade cognitiva, avaliada pelo MEEM, assim como no nosso estudo. Aqui encontramos uma correlação negativa muito grande da IL-1 β com a capacidade cognitiva através do MEEM. Na nossa meta-análise, não foi encontrada diferença significativa para IL-1 β , porém também foi verificada uma heterogeneidade grande entre os estudos. A meta-análise realizada por (Swardfager *et al.*, 2010) demonstrou uma diferença significativa, também com grande heterogeneidade entre os estudos, mas esta diferença se perdia quando analisaram apenas os estudos que parearam o grupo controle pela idade. Como os estudos que não parearam por idade estavam em maior número e maior peso na meta-análise de (Swardfager *et al.*, 2010) estes podem ter influenciado para o resultado total.

Demonstramos na nossa meta-análise um aumento significativo das citocinas IL-6, TNF- α , IL-18 e TGF- β em sangue periférico de pessoas com doença de Alzheimer, porém o mesmo não foi encontrado no estudo original desenvolvido para esta dissertação. Outras citocinas também foram identificadas nos estudos selecionados, como IL-1 α , IL-1 β , IL-10, IL-12, porém não demonstraram diferença significativa dos controles, talvez pelas diferenças metodológicas entre os diversos manuscritos.

Nosso estudo demonstrou que o IMC não obteve diferença entre os grupos. Este dado se torna importante, visto que o IMC poderia ser um dos fatores de risco para redução do volume cerebral. No estudo de (Boyle *et al.*, 2015) demonstrou uma correlação entre o IMC o volume cerebral de pacientes com acometimento cognitivo. Já os resultados de (Momtaz *et al.*, 2017) demonstraram correlação do IMC com a capacidade cognitiva, como em nossos resultados o IMC não difere entre grupos,

podemos afirmar que está não influenciou para a diferença da capacidade cognitiva dos mesmos.

Na meta-análise demonstramos um aumento de IL-6, embora discreto, em pacientes com Alzheimer. A concentração sanguínea de IL-6 foi correlacionada com os níveis em liquor cefalorraquidiano em pacientes de Alzheimer (Sun *et al.*, 2003), demonstrando que esta citocina possivelmente estaria relacionada com a fisiopatologia da doença. IL-6 foi encontrada aumentada juntamente com a proteína C reativa em Alzheimer, o que reforça mais uma vez o papel de um perfil inflamatório no desenvolvimento desta doença. IL-6 é uma citocina multifuncional, podendo ter função tanto anti quanto pró-inflamatória. Ela está presente na fase inicial da inflamação, sendo induzida por TNF- α ou IL-1 β (Petersen e Pedersen, 2006; Viegas *et al.*, 2011). Pode ter ação anti-inflamatória quando induz a produção de IL-10, a qual inibirá a ação do TNF- α (Dursun *et al.*, 2015). No nosso estudo original encontramos um aumento da IL-10 e da IL-1 β em pacientes DA, mostrando esta resposta inflamatória frente a fisiopatologia de Alzheimer, mas não houve esse aumento para IL-6, talvez devido as comorbidades de ambos os grupos que podem influenciar na produção das citocinas.

Um aumento de TNF- α em pacientes com Alzheimer foi encontrado na nossa meta-análise. TNF- α é considerada uma citocina não específica, porém é um fator considerável para o desenvolvimento de doenças psiquiátricas, inclusive Alzheimer (Lee *et al.*, 2009). Esta citocina pode ser secretada pela ativação da microglia em resposta aos sítios de acúmulo de β -amiloide (Lee *et al.*, 2009). No entanto (Uslu *et al.*, 2012) não encontraram diferença nesta citocina comparada ao controle, nem nosso estudo original, mas (Belkhefha *et al.*, 2014) demonstraram elevado nível de TNF- α em pacientes com Alzheimer e uma diferença significativa também quando comparados os níveis de TNF- α em pessoas com declínio cognitivo leve e Alzheimer grave (Belkhefha *et al.*, 2014). Leung *et al.*, 2013 (Leung *et al.*, 2013) mostraram uma correlação inversa dos níveis de TNF- α com volume hipocampal (Leung *et al.*, 2013). Nosso estudo original demonstrou correlação do TNF- α com a capacidade funcional, tanto no teste de sentar e levantar em 30 segundos (correlação moderada), quanto nas escalas de Lawton e Brody (correlação pequena).

Um estudo demonstrou que a hipertensão arterial pode aumentar os níveis de algumas citocinas, como IFN- γ , TNF- α , IL-2 e IL-8 comparado aos indivíduos sem HAS, o que poderia explicar os nossos resultados, que não encontrou diferença entre essas citocinas nos grupos controle e Alzheimer, porém em ambos os grupos foi encontrado um alto percentual de HAS entre os indivíduos, o que pode ter elevado essas citocinas no grupo controle. Outra interleucina que não encontramos diferença entre os grupos foi a IL-6, porém, (Marsland *et al.*, 2008) encontraram correlação desta citocina com o IMC e o volume de massa cinzenta bilateral no hipocampo. O estudo demonstrou uma correlação de $r=0.23$ entre IL-6 e o IMC e uma correlação negativa entre a IL-6 e o volume hipocampal esquerdo $r=-0.42$ e direito $r=0.24$, podemos inferenciar que nosso grupo controle pode obter níveis desta citocinas mais altas e que como dito anteriormente a presença de comorbidades, entre elas a HAS, pode levar ao declínio cognitivo destes indivíduos em um futuro próximo, havendo a necessidade de um acompanhamento desta população para confirmação desta inferência.

A IL-18 também foi encontrada em níveis aumentados na nossa meta-análise. É uma citocina importante para a caracterização da resposta inflamatória. Definida como uma citocina da família da IL-1, possui capacidade de induzir a liberação de IL-1 β e IFN- γ (Sutinen *et al.*, 2012). IFN- γ através da indução da caspase-1 faz ativação da enzima conversora de IL-1 β (ICE), que fará a clivagem da forma madura de IL-18 e IL-1 β (Sutinen *et al.*, 2012). A produção e liberação da IL-18 pode induzir no sistema nervoso central a microglia e os astrócitos a liberar outras citocinas importantes na resposta imunológica, como IL-1 β , TNF- α , IL-8 e IL-6 (Bossù *et al.*, 2008). No sistema nervoso central, a IL-18 é liberada primariamente pela microglia, mas pode haver liberação também por astrócitos. Esta resposta pode ocorrer devido a um evento estressor endógeno ou exógeno, tais como isquemia, hipóxia ou traumatismo craniano, mas também em resposta aos eventos fisiopatológicos causados pela DA. Outra função da IL-18 é a promoção de IFN- γ e células T e *natural killers* (NK), tão importantes na imunidade inata e que se encontram reativadas e em superprodução na DA (Bossù *et al.*, 2010). (Bossù *et al.*, 2008) demonstraram uma correlação entre IL-18 e declínio cognitivo em pacientes DA. Esta citocina não foi verificada em nosso estudo original.

Os níveis de TGF- β estão aumentados na DA, segundo nossa meta-análise. Esta citocina tem um comportamento imunossupressor, atua principalmente na relação entre as citocinas TH1 e TH2, pró e anti-inflamatórias (Di Rosa *et al.*, 2006). A relação desta citocina com a DA ainda é controversa, pois alguns estudos relatam que TGF- β estimula os astrócitos a produção de mais peptídeo de β amilóide, enquanto outros estudos demonstram que TGF- β pode estimular comportamento da microglia para a remoção dos peptídeos de β amilóide (Di Rosa *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2009). Esta citocina não foi verificada em nosso estudo original.

Nosso estudo avaliou uma outra questão importante para a saúde geral de pacientes com Alzheimer, que é a saúde bucal dos mesmos. Avaliamos se os indivíduos frequentavam dentista e se em alguns casos realizavam algum tratamento para a saúde bucal. Demonstramos um dado importante que em ambos os grupos um percentual pequeno frequentava o dentista e que uma porcentagem também pequena tinha realizado algum tratamento dentário. No entanto foi observado que 9 indivíduos do grupo controle não possuíam dentes naturais, enquanto no grupo Alzheimer esse número foi de 5 indivíduos, porém em todos os casos este procedimento havia sido realizado há mais de 1 ano, e não conseguimos identificar a causa, porém demonstra que estes indivíduos possam ter sofrido de alguma patologia bucal. (Gaur e Agnihotri, 2015), um estudo demonstrou que periodontite crônica pode contribuir para aumentar o nível de citocinas inflamatórias como IL-1, IL-6 e TNF- α e que pode contribuir para o agravamento do Alzheimer.

Demonstramos uma menor capacidade funcional para os pacientes com Alzheimer. Corroborando com (Talmelli *et al.*, 2013), que demonstraram menor capacidade física em idosos com Alzheimer, que se agravava com a intensidade da demência, os autores identificaram que idosos com CDR mais altos teriam menor capacidade funcional comparados aos idosos com menor CDR. Em nosso estudo demonstramos que os idosos com Alzheimer, tinham menor capacidade funcional, tanto para as atividades básicas de vida, quanto para as atividades instrumentais, comparado aos idosos com CDR de 0 ou 0,5. (Ferreira *et al.*, 2014) também identificaram que idosos com doença de Alzheimer possuíam menor capacidade funcional comparado aos idosos sem a DA institucionalizados, o grupo DA tinha inclusive menor tempo de

institucionalização e mesmo assim possuía menor capacidade funcional que aos demais idosos.

Nosso estudo encontrou correlação de intensidade moderada à muito grande do MEEM com todos os testes de capacidade físico-funcional. (Sobol *et al.*, 2016) também encontraram correlação do MEEM com o TSL, bem como o TSL foi correlacionado com outros testes de capacidade cognitiva, como STROOP teste e fluência verbal, corroborando com nossos resultados que demonstraram que a baixa capacidade física para pacientes com Alzheimer, pode influenciar na gravidade do impacto cognitivo que este paciente apresenta.

Este estudo tem algumas limitações que devem ser apontadas. Verificou-se na meta-análise desenvolvida com todas as citocinas uma heterogeneidade grande entre os resultados dos estudos, o que impediu inclusive de analisar os vieses, pois não era indicado a realizar os gráficos de funil. Ainda na meta-análise o sistema de busca e as palavras-chave escolhida para utilizar nas bases de dados, podem ter contribuído para a não inclusão de alguns estudos. O número de bases de dados utilizados, também contribuiu para um achado menor de estudos sobre o tema. No estudo original encontramos algumas limitações, primeiro quanto ao número de amostra em cada grupo, que por ser pequeno pode ter influenciado para o resultado final de algumas citocinas. Por termos realizado as coletas em dois polos de atendimento ao idoso, pode ter influenciado para o nível escolar e o nível de atendimento médico entre os idosos. Como o grupo controle foi coletado em Duque de Caxias e muitos idosos se encontravam sem atendimento médico, isto pode ter influenciado para o acompanhamento das comorbidades encontradas por eles.

Conclusão:

Concluimos que na doença de Alzheimer podemos encontrar uma alteração do sistema imunológico, com mudanças na concentração de citocinas inflamatórias, como IL-12, IL-10 e IL-1 β . A IL-10 está correlacionada com a gravidade da doença avaliada pelo CDR, bem como com a idade e a capacidade cognitiva. Concluimos também que citocinas inflamatórias podem estar correlacionadas com a capacidade funcional de idosos, TNF- α se correlacionou com a capacidade de sentar e levantar de uma cadeira, bem como a capacidade de realizar atividades de vida diárias. A idade pode estar correlacionada com as citocinas IL-6, IL-10 e IL-12. No entanto mais estudos com uma população amostral maior e com análises mais robustas são necessários para um melhor entendimento das citocinas na fisiopatologia da DA.

ANEXOS

Anexo 1 - Meta-Análise

Metodologia

Protocolo e Registro

O protocolo desta revisão foi registrado no PROSPERO (CRD42017062617) disponível em http://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/display_record.asp?ID=CRD42017062617. Para esta revisão, as análises seguiram o guideline PRISMA (Liberati *et al.*, 2009).

Elegibilidade dos estudos

Foram selecionados apenas os estudos originais e controlados, publicados em inglês ou português até Abril 2017. Apenas estudos originais, em humanos, que mensuravam níveis de citocinas em sangue periférico e/ou liquor cefalorraquidiano de pacientes de DA foram incluídos. Estudos que estimulavam respostas inflamatórias por intervenções foram excluídos. Como critério de inclusão o diagnóstico de DA deveria ser baseado no *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV)* ou *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA)*.

Busca nas bases de dados

Para as buscas dos artigos utilizamos como palavras-chave, em português: *Alzheimer, Citocinas, neuroinflamação*; em inglês: *Alzheimer disease, cytokines, neuroinflammation*, os seus sinônimos foram identificados utilizando o MeSHTerms (para as palavras em inglês) e o DeCS (para as palavras em português). As bases de dados para as seleções dos artigos foram *PubMed, Scielo e Web of Science (ISI)*, bem como artigos identificados nas listas de referências de outras revisões e/ou de estudos originais relacionados ao tema.

Seleção dos estudos

Os estudos foram selecionados por 2 pesquisadores independentes e comparados posteriormente, os desacordos foram analisados por um terceiro pesquisador independente. A seleção respeitou 3 etapas: 1º leitura dos títulos;

2º resumos; 3º artigos na íntegra. Na segunda etapa os artigos deveriam informar as citocinas analisadas e que a amostra era de pacientes de DA. Na terceira etapa foram observados os principais resultados e extraídos os dados numéricos das amostras e citocinas analisadas.

Extração dos dados

Os resultados para análise foram retirados como médias e desvio-padrão de cada citocina analisada tanto no grupo DA quanto no controle. Os resultados em mediana ou sem os dados de dispersão foram requeridos aos respectivos autores, outros casos em que os resultados não estivessem em média ou desvio-padrão também foram requeridos aos autores.

Análise estatística

Para efeito estatístico destes resultados foi calculada a diferença absoluta entre médias (WMD) com efeito randomizado considerando a heterogeneidade entre os estudos (Sousa e Ribeiro, 2009; Rodrigues e Ziegelmann, 2011). Caso não fosse possível realizar a diferença absoluta entre médias, era então calculado o tamanho de efeito (TE) da diferença entre média, segundo Hopkins (Hopkins, 2016), que classifica TE como Trivial ($>0,0$), Pequeno ($\geq 0,2$), Moderado ($\geq 0,6$), Grande ($\geq 1,2$), Muito Grande ($\geq 2,0$) e Perfeito (≥ 4).

RESULTADOS

A Figura 9 mostra o fluxograma de busca, número de estudos e causas de retiradas dos excluídos. 425 estudos, 8 estudos foram excluídos por duplicidade e 137 estudos selecionados pelo título, 69 estudos selecionados pelo resumo, dos quais 41 foram selecionados. Com a falta da exposição dos dados necessários, foram selecionados 23 estudos para esta revisão, conforme se observa na Figura 9. Após a seleção, foi realizado um levantamento sobre as citocinas mais estudadas IL-1 β (n=7), IL-6 (n=10), IL-10 (n=4), IL-12 (n=6), IL-18 (n=5) e TNF- α (n=11). As descrições dos estudos selecionados são apresentadas na tabela 2. Não foi possível analisar os estudos selecionados através dos gráficos em funil, devido à grande heterogeneidade e I^2 acima de 50%.

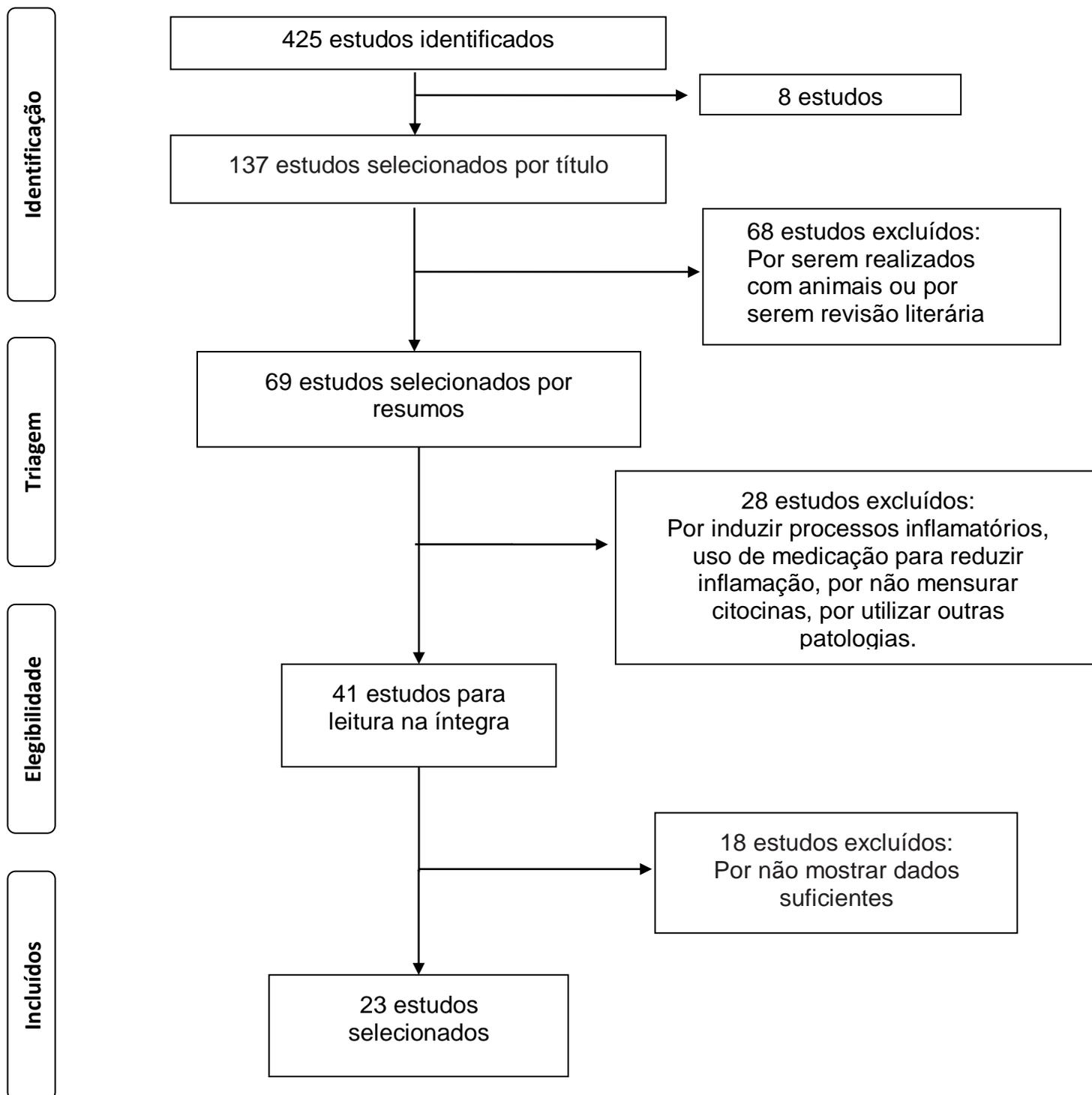


Figura 19 Fluxograma dos estudos selecionados.

Tabela 7 Descrições dos estudos selecionados

| Autor/ ano | Citocinas estudadas | Idade (n) | | Meio analisado | Técnica de análise | Resultados |
|---------------------------------|--|---|--------------------------|----------------|--------------------|---|
| | | AD | Controle | | | |
| (Alvarez <i>et al.</i> , 2007) | TNF- α | 75.25 \pm 8.59 (141) | 68.87 \pm 8.77 (30) | Sangue | Elisa | TNF- α maior nos pacientes com DA comparado ao controle |
| (Azad <i>et al.</i> , 2014) | IL-1, IL-4, IL-6, TGF- β , IFN- γ | 74 \pm 7.4 9 | 71.5 \pm 7.72 | Sangue | Elisa | IL-6 e IFN- γ maior para pacientes DA comparado ao controle |
| (Bonotis <i>et al.</i> , 2008) | IL-1 α , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α | 75 \pm 6 (49) | 71 \pm 4 (21) | Sangue | Elisa | TNF- α maior nos pacientes com DA severo comparado ao controle. Não houve diferença entre as demais citocinas. |
| (Bossù <i>et al.</i> , 2008) | IL-18 | 71.3 \pm 1.6 (30) | 68.5 \pm 1.4 (25) | Sangue | Elisa | Não houve diferença significativa entre os grupos |
| (Chen <i>et al.</i> , 2012) | IL-1 β , TNF- α | EES<1 0 71 \pm 11 (20) EES>1 0 69.5 \pm 1.2 (23) | 66.9 \pm 6.7 (22) | Sangue | Elisa | DA com sonolência diurna apresentou TNF- α maior comparado aos outros grupos |
| (Dursun <i>et al.</i> , 2015) | IL-1 α , IL-1 β , IL-6 | 74.02 \pm 3.9 (53) | 72.1 \pm 3.4 (32) | Sangue | Elisa | IL-1 α menor nos pacientes LOAD comparados ao controle. |
| (Forlenza <i>et al.</i> , 2009) | IL-1 β | 76.3 \pm 6.5 (58) | 69.9 \pm 6.7 (31) | Sangue | Elisa | DA apresenta níveis maiores de IL-1 β comparados ao controle |

Legenda: DA= Doença de Alzheimer, EES= Escala de sonolência de Epworth, LOAD= Alzheimer de início tardio.

Continuação Tabela 2. Descrições dos estudos selecionados

| Autor/ ano | Citocinas estudadas | Idade (n) | | Meio analisado | Técnica de análise | Resultados |
|-----------------------------------|--|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------|---|
| | | DA | Controle | | | |
| (Galimberti <i>et al.</i> , 2008) | IL-6, IL-11 | 66.0±9.2 (43) | 63.3±12.0 (30) | Liquor | Elisa | Pacientes DA apresentaram maiores níveis de IL-11 comparado ao controle |
| (Gubandru <i>et al.</i> , 2013) | IL-6, TNF- α | 80.73±5.70 (21) | 78.07±5.61 (10) | Sangue | Elisa | DA apresentaram níveis elevados de IL-6 e TNF- α comparado ao controle |
| (Kassner <i>et al.</i> , 2008) | TNF- α | 75.2±3.54 (5) | 71±3.16 (5) | Sangue | Elisa | DA apresentou maiores níveis de TNF- α |
| (Lee <i>et al.</i> , 2008) | IL-1 α , IL-3, IL-12, IL-16, IL-18 | 82.7±8.4 (10) | 71.4±5.3 (19) | Sangue | Bioplex | Não houve diferença entre os grupos |
| (Llano <i>et al.</i> , 2012) | IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- α , IFN- γ | 70.2±7.4 (15) | 65.0±5.2 (7) | Sangue e Liquor | Multi-spot | Não encontrou diferença entre os grupos |

Legenda: DA=Alzheimer.

Cont. Tabela 2. Descrição dos estudos selecionados

| Autor/ ano | Citocinas estudadas | Idade (n) | | Meio analisado | Técnica de análise | Resultados |
|-------------------------------------|--|----------------------|----------------------|-----------------|--------------------|---|
| | | DA | Controle | | | |
| (Malaguarnera <i>et al.</i> , 2006) | IL-18, TGF- β 1 | 73.2 \pm 7.08 (40) | 73.5 \pm 3.24 (30) | Sangue | Elisa | DA apresentaram níveis elevados de IL-18 e TGF- β 1 comparado ao controle |
| (Motta <i>et al.</i> , 2007) | IL-12, IL-16, IL-18, TGF- β 1 | 72.2 \pm 6.91 (51) | 72.5 \pm 2.38 (20) | Sangue | Elisa | DA leve e moderado apresentaram níveis elevados de todas as citocinas, comparado ao controle. Para o grupo de AD severo não houve diferença significativo comparado ao controle |
| (Reale <i>et al.</i> , 2012) | IL-18 | 73.8 \pm 5.5 (38) | 72.7 \pm 4.8 (39) | Sangue | Elisa | Pacientes DA apresentaram níveis elevados de IL-18 comparado ao controle |
| (Rentzos <i>et al.</i> , 2006) | IL-12 | 65 \pm 11 (19) | 60 \pm 11 (30) | Liquor | Elisa | Pacientes de DA apresentaram níveis mais baixos de IL-12 comparado ao controle |
| (Richartz <i>et al.</i> , 2005) | IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF- α | 72(60-88)* (20) | 68(59-82)* (21) | Sangue e Liquor | Elisa | IL-6 e TNF- α diminuído em sangue e liquor, respectivamente, para DA comparado ao controle |
| (Rota <i>et al.</i> , 2006) | IL-10, IL-12, TGF- β 1 | 71 \pm 6.03 (30) | 69 \pm 8.60 (25) | Sangue e Liquor | Elisa | TGF- β 1 elevado no liquor de DA comparado ao controle. Não houve diferença para as demais citocinas |
| (Smith <i>et al.</i> , 2011) | IL-6, TNF- α | 77.1 \pm 6.8 (34) | 76.6 \pm 6.0 (34) | Sangue | Elisa | Pacientes DA apresentaram maiores níveis de TNF- α , comparado ao controle |

Legenda: DA= Doença de Alzheimer, *dados apresentados em mediana (mínimo-máximo)

Cont. Tabela 2. Descrição dos estudos selecionados

| Autor/ ano | Citocinas estudadas | Idade (n) | | Meio analisado | Técnica de análise | Resultados |
|---------------------------------|---|--------------------------|--------------------------|-----------------|--------------------|--|
| | | DA | Controle | | | |
| (Stoeck <i>et al.</i> , 2014) | IL-6, IL-7, IL-8, IL-13, TNF- α | 69.5 \pm 2.5 (35) | 62.5 \pm 2.5 (12) | Sangue e Liquor | Bioplex + Luminex | IL-13 e TNF- α aumentados no grupo de progressão rápida da DA comparado aos demais grupos |
| (Wang <i>et al.</i> , 2014) | IL-6, IL-10 | 73.7 \pm 9.4 (97) | 73.7 \pm 8.4 (122) | Sangue | Elisa | Não houve diferença entre os grupos |
| (Yasutake <i>et al.</i> , 2006) | IL-1 β , TNF- α | 77.93 \pm 7.04 (60) | 71.06 \pm 5.77 (33) | Sangue | Elisa | Não houve diferença entre os grupos |
| (Zuliani <i>et al.</i> , 2007) | IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α | 78.5 \pm 7.6 (60) | 72.5 \pm 5.8 (42) | Sangue | Elisa | DA apresentaram IL-1 β e TNF- α elevados comparado ao controle |

Legenda: DA= Doença de Alzheimer.

Tabela 8 Citocinas analisadas em liquor.

| Autor/Ano | Citocinas | n (AD) | Média±DP (AD) | n (C) | Média±DP (C) | TEinter | Classificação |
|-----------------------------------|--------------|-----------------|---------------|-------|--------------|---------|---------------|
| (Llano <i>et al.</i> , 2012) | IL-1 β | 15 | 0.77±1.18 | 7 | 0.97±1.36 | 0,16 | T |
| (Richartz <i>et al.</i> , 2005) | IL-1 β | 20 | 19.6±8.94 | 21 | 23.3±9.62 | 0,4 | p |
| (Llano <i>et al.</i> , 2012) | IL-2 | 15 | 2.21±2.83 | 7 | 2.57±3.21 | 0,12 | T |
| (Galimberti <i>et al.</i> , 2008) | IL-6 | 43 | 2.2±1.6 | 30 | 1.8±1.6 | -0,25 | p |
| (Llano <i>et al.</i> , 2012) | IL-6 | 15 | 2.46±2.14 | 7 | 3.04±1.88 | 0,28 | p |
| (Richartz <i>et al.</i> , 2005) | IL-6 | 20 | 4.6±2.15 | 21 | 10.6±20.35 | 0,41 | p |
| (Llano <i>et al.</i> , 2012) | IL-8 | 15 | 36.72±9.62 | 7 | 39.84±11.52 | 0,31 | p |
| (Stoeck <i>et al.</i> , 2014) | IL-8 | 20 | 43.9±46.0 | 12 | 243.3±653.2 | 0,5 | p |
| (Stoeck <i>et al.</i> , 2014) | IL-8 | 15 ^A | 41.9±50.5 | 12 | 243.3±653.2 | 0,46 | p |
| (Llano <i>et al.</i> , 2012) | IL-10 | 15 | 2.45±2.31 | 7 | 2.60±3.19 | 0,06 | T |
| (Rota <i>et al.</i> , 2006) | IL-10 | 30 | 21.0±15.0 | 25 | 14.2±9.5 | -0,53 | p |
| (Galimberti <i>et al.</i> , 2008) | IL-11 | 43 | 6.5±4.6 | 30 | 3.1±3.3 | -0,83 | M |

Legenda: A= Alzheimer com rápida progressão. T=Trivial, p=Pequeno, M=Moderado, G=Grande, MG=Muito Grande

Continuação Tabela 3. Citocinas analisadas em liquor.

| Autor/Ano | Citocinas | n (AD) | Média±DP (AD) | n (C) | Média±DP (C) | TEinter | Classificação |
|---------------------------------|-----------|-----------------|---------------|-------|--------------|---------|---------------|
| (Llano <i>et al.</i> , 2012) | IL-12 | 15 | 2.07±3.52 | 7 | 3.22±4.28 | 0,31 | p |
| (Rentzos <i>et al.</i> , 2006) | IL-12 | 19 | 13.9±5.9 | 30 | 23.8±9.0 | 1,24 | G |
| (Rota <i>et al.</i> , 2006) | IL-12 | 30 ^B | 5.5±10.4 | 25 | 5.2±9.1 | -0,03 | T |
| (Llano <i>et al.</i> , 2012) | TNF-α | 15 | 2.43±3.38 | 7 | 3.70±4.00 | 0,36 | p |
| (Richartz <i>et al.</i> , 2005) | TNF-α | 20 | 14.0±1.65 | 21 | 19.3±1.97 | 2,91 | MG |
| (Llano <i>et al.</i> , 2012) | IFN-γ | 15 | 3.81±5.64 | 7 | 5.40±6.61 | 0,27 | p |
| (Rota <i>et al.</i> , 2006) | TGF-β1 | 30 | 29.0±13.8 | 25 | 12.0±4.9 | -1,58 | G |

Legenda: B=IL-12 p40. T=Trivial, p=Pequeno, M=Moderado, G=Grande, MG=Muito Grande

Os resultados foram apresentados de acordo com as citocinas identificadas em sangue periférico ou em liquor cefalorraquidiano. Foram identificadas 10 citocinas em liquor cefalorraquidiano em 7 estudos diferentes. Calculamos o tamanho de efeito para estas citocinas (tabela 3), pois a quantidade de estudos de cada citocina foi insuficiente para realizar a diferença absoluta entre médias WMD. Apenas quatro resultados apresentaram TE de moderado a grande. A IL-11 demonstrou efeito moderado TE=-0,83, enquanto TGF- β 1 com TE grande=-1,58, ambos demonstrando que esta citocina está aumentada na DA. No entanto outras citocinas com TE grande=1,24 para IL-12 e TNF- α com TE=2,91 grande, demonstraram níveis reduzidos desta citocina para DA.

Para os resultados referentes às análises de citocinas no sangue de pacientes com DA, 15 citocinas foram encontradas (IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-16, IL-18, TNF- α , IFN- γ , TGF- β 1. Foi calculado o WMD de cada citocina identificada, sendo encontrada diferença significativa apenas para as IL-6, TNF- α , IL-18 e TGF- β , demonstrada pelas figuras 10, 11, 12 e 13 respectivamente, as IL-1 α , IL-1 β , IL-10, IL-12 não demonstraram diferença, demonstrada pelas figuras 14, 15, 16 e 17. As citocinas IL-2, IL-3, IL-7, IL-8, IL-13 e IFN- γ não obtiveram estudos suficientes para que pudessem ser comparadas.

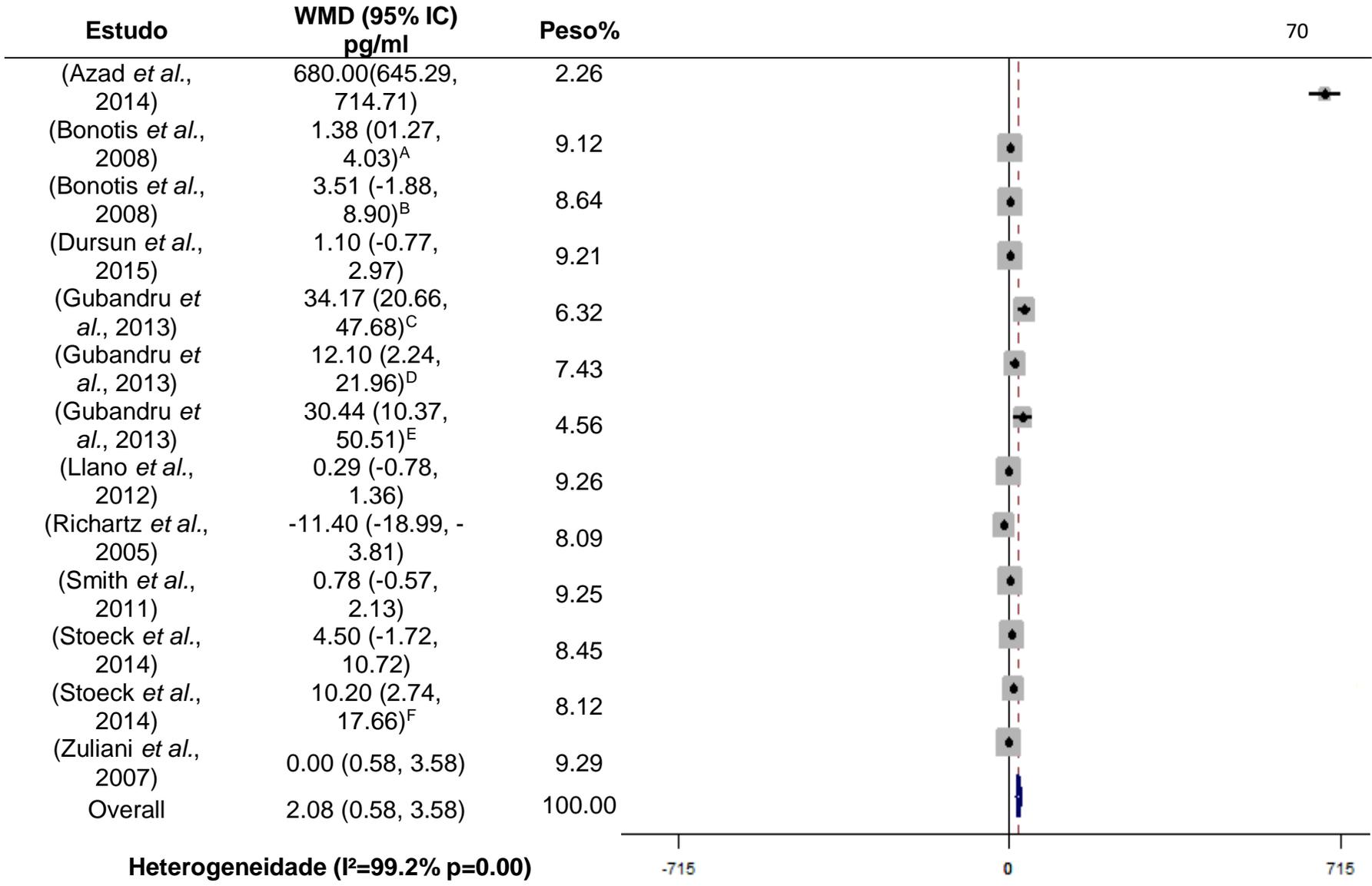


Figura 20. Forrest plot demonstrando o resultado da meta-análise de efeito aleatório da IL-6. Legenda: A- DA Leve-Moderado, B- DA Severo, C- DA tratado com Donapezil, D- DA tratado com Rivastigmina, E- DA tratado com Donapezil+Memantina, F- DA de progressão rápida.

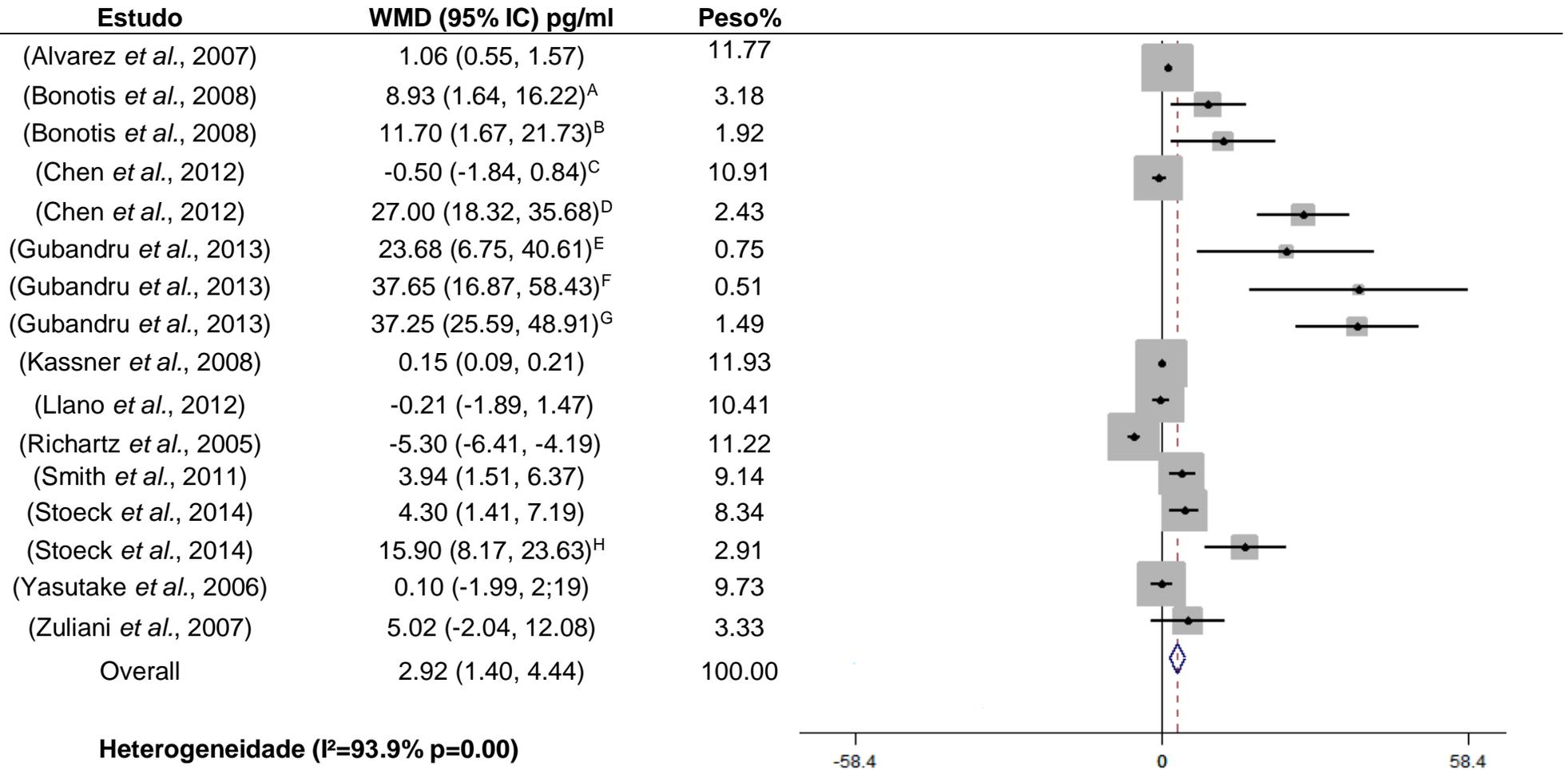


Figura 21. Forrest plot demonstrando o resultado da meta-análise de efeito aleatório da TNF- α . Legenda: A- DA Leve e Moderado, B- DA Severo, C- ESS<10, D- ESS>10, E- DA tratado com Donapezil, F- DA tratado com Rivastigmina, G- DA tratado com Donapezil+Memantina, H- DA com progressão rápida

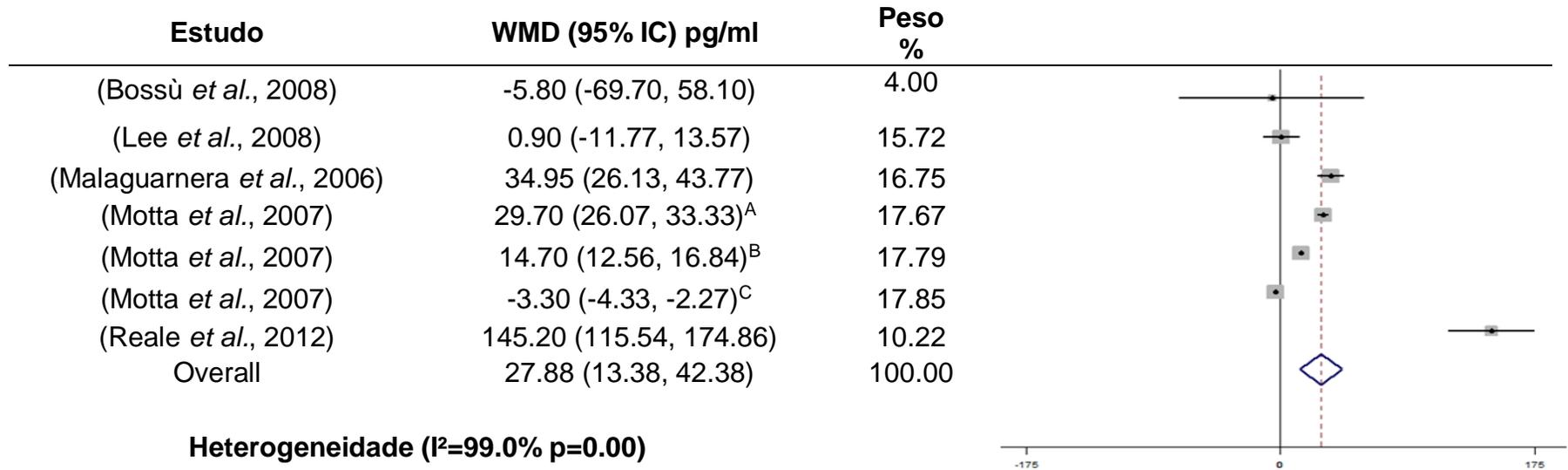


Figura 22. Forrest plot demonstrando o resultado da meta-análise de efeito aleatório da IL-18. Legenda: A- DA Leve, B- DA Moderado, C- DA Severo

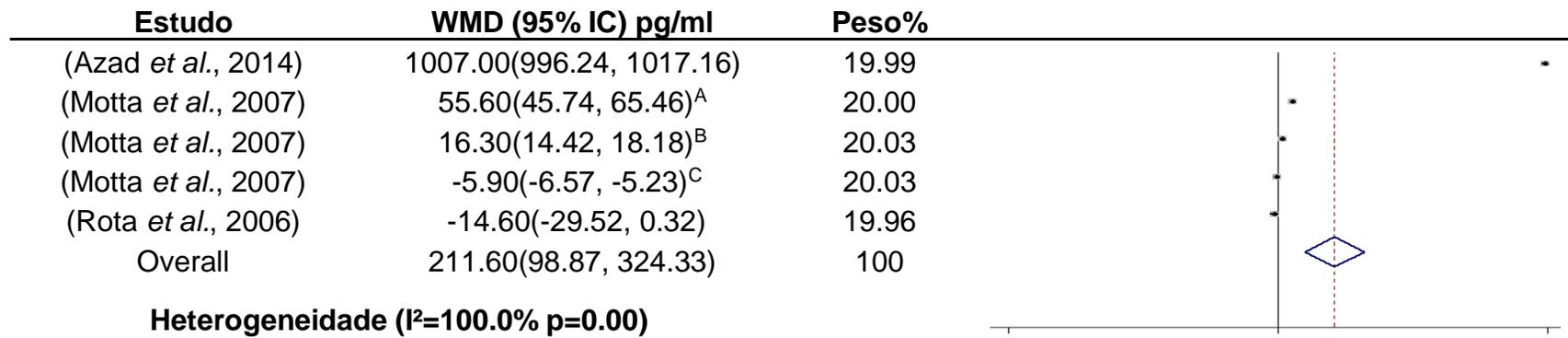


Figura 23. Forrest plot demonstrando o resultado da meta-análise de efeito aleatório da TGF- β . Legenda: A- DA Leve, B- DA Moderado, C- DA Severo

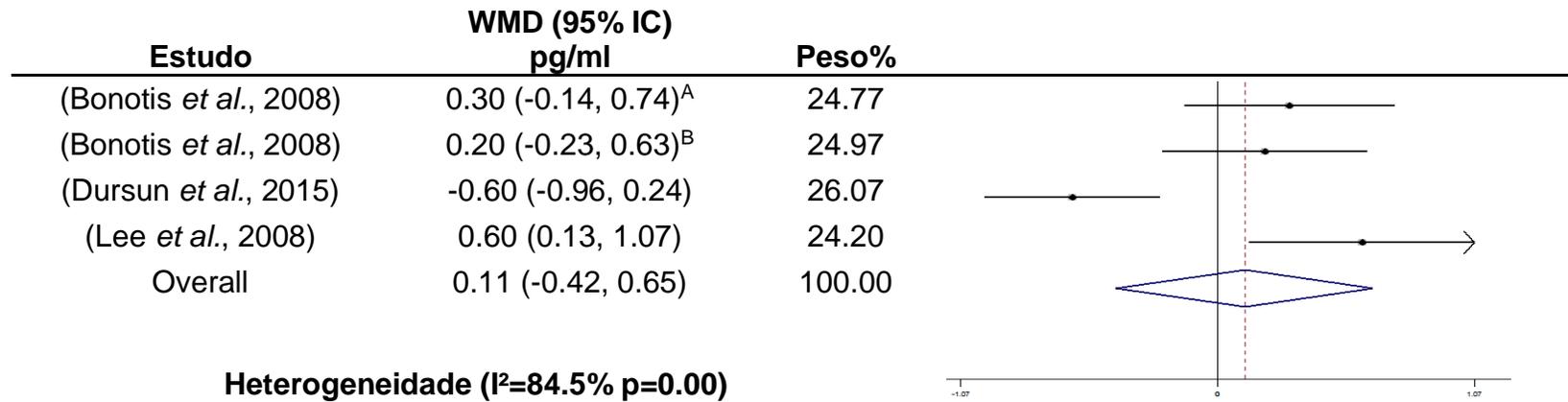


Figura 24. Forest plot demonstrando resultado da meta-análise de efeito aleatório da IL-1 α . Legenda: A- DA Leve e Moderado, B- DA Severo

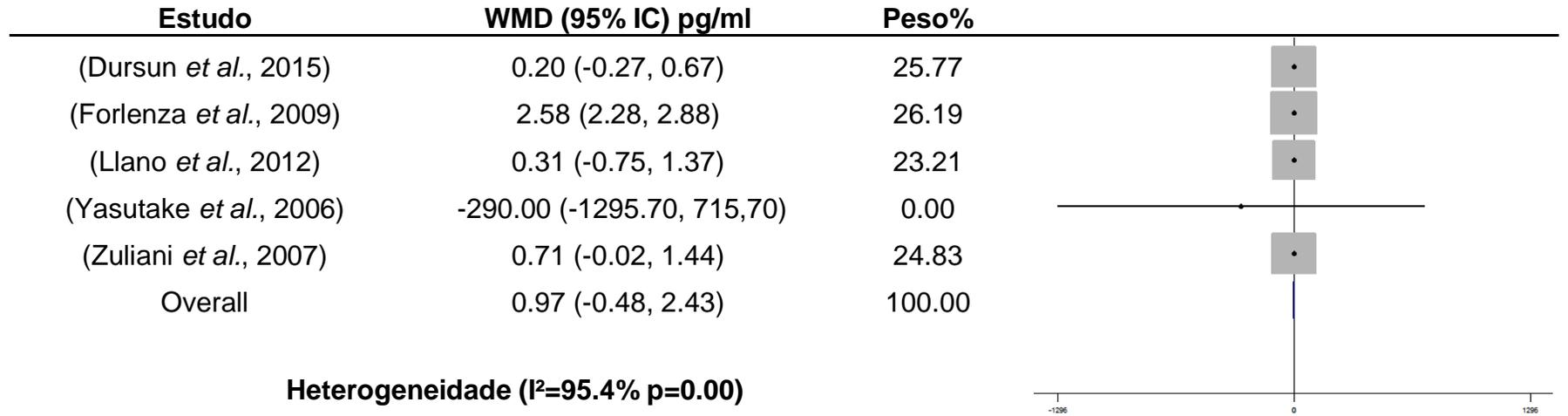


Figura 25. Forest plot demonstrando resultado da meta-analise de efeito aleatório da IL-1 β .

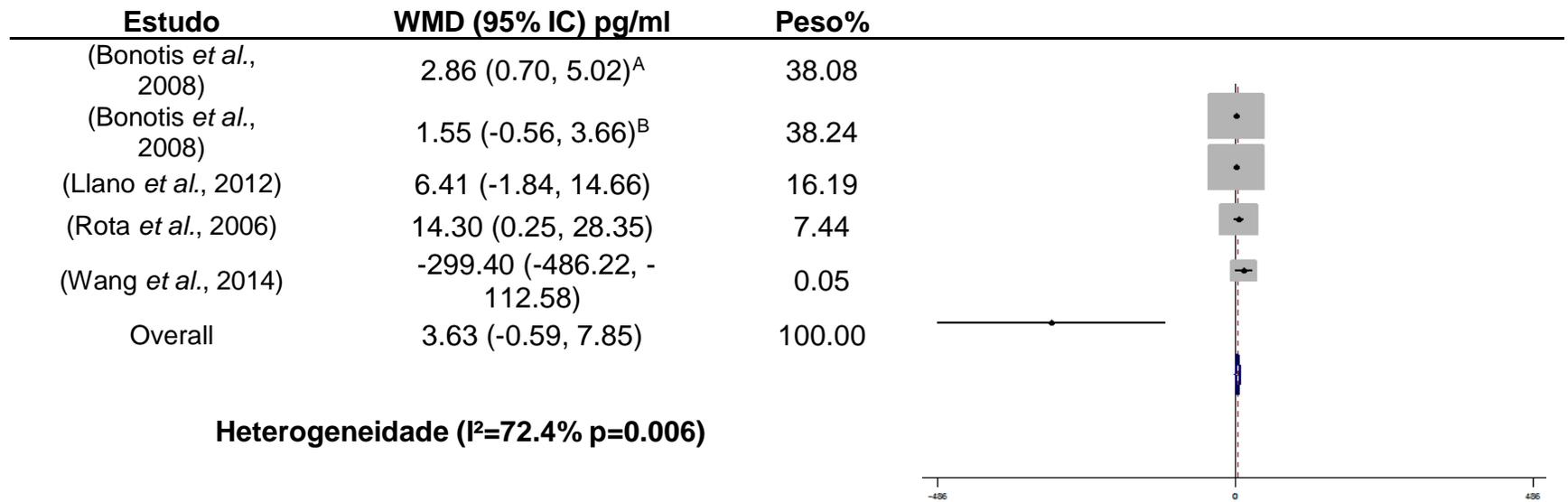


Figura 26. Forest plot demonstrando resultado da meta-análise de efeito aleatório da IL-10. Legenda: A=Alzheimer leve e moderado; B=Alzheimer severo

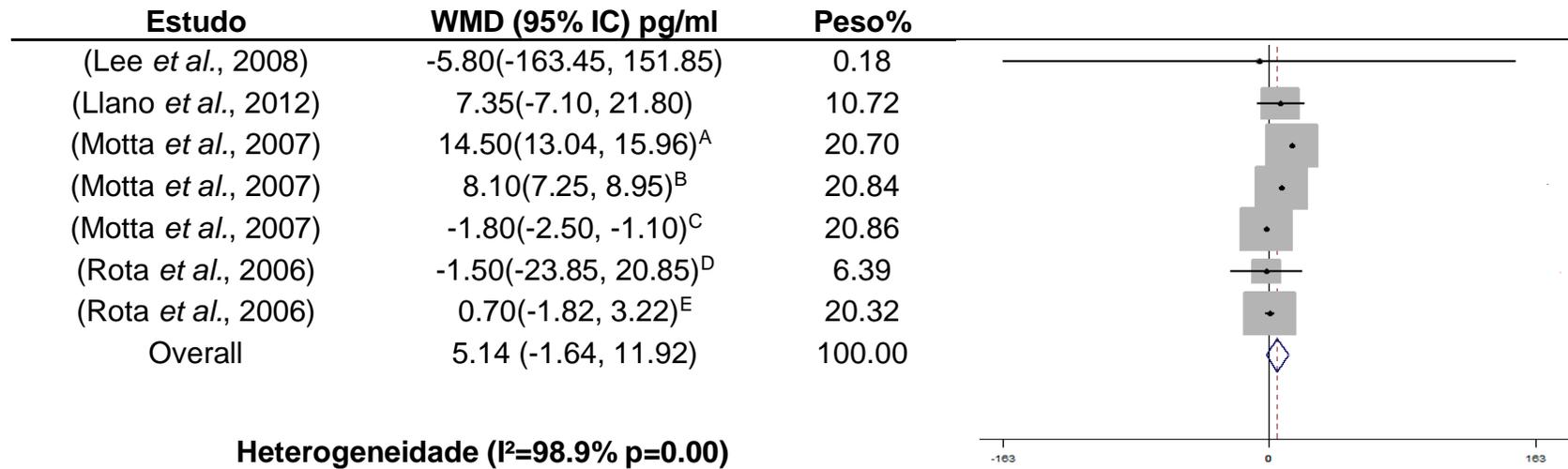


Figura 27. Forest plot demonstrando resultado da meta-análise de efeito aleatório da IL-12. Legenda A=Alzheimer leve; B=Alzheimer moderado; C=Alzheimer severo; D=IL12(p40), E=IL-12(p70).

Foi realizada uma análise de sensibilidade para as citocinas (IL-6, TNF- α , IL-18, TGF- β , IL-1 β) para verificar o impacto de estudos que se diferenciavam bastante dos demais. Para a IL-6, quando retirado apenas o estudo de (Azad *et al.*, 2014), ainda assim se mantinha a diferença estatística, embora houvesse uma heterogeneidade alta ($I^2=82,4\%$). Realizamos esta análise de sensibilidade para TNF- α e após a retirada dos resultados de (Chen *et al.*, 2012; Gubandru *et al.*, 2013) que se diferenciavam bastante dos demais, não houve mais a diferença estatisticamente significativa. No entanto, a alta heterogeneidade se manteve acima dos 90%. Para IL-18, a retirada do estudo de (Reale *et al.*, 2012) não influenciou para a diferença estatística e nem para heterogeneidade, que se manteve em 99%. Realizamos também para TGF- β , no entanto a retirada do estudo de (Azad *et al.*, 2014) manteve a heterogeneidade muito alta ($I^2=99,5\%$), sem diferença significativa. Para análise da IL-1 β , também não houve diferença estatística, com alta heterogeneidade (acima de 90%) ao retirar o estudo de (Yasutake *et al.*, 2006). Já para análise da IL-10, ao retirar o estudo de (Wang *et al.*, 2014) a citocina passa então a apresentar diferença significativa para DA com a heterogeneidade abaixo dos 50%, conforme mostra a figura 18.

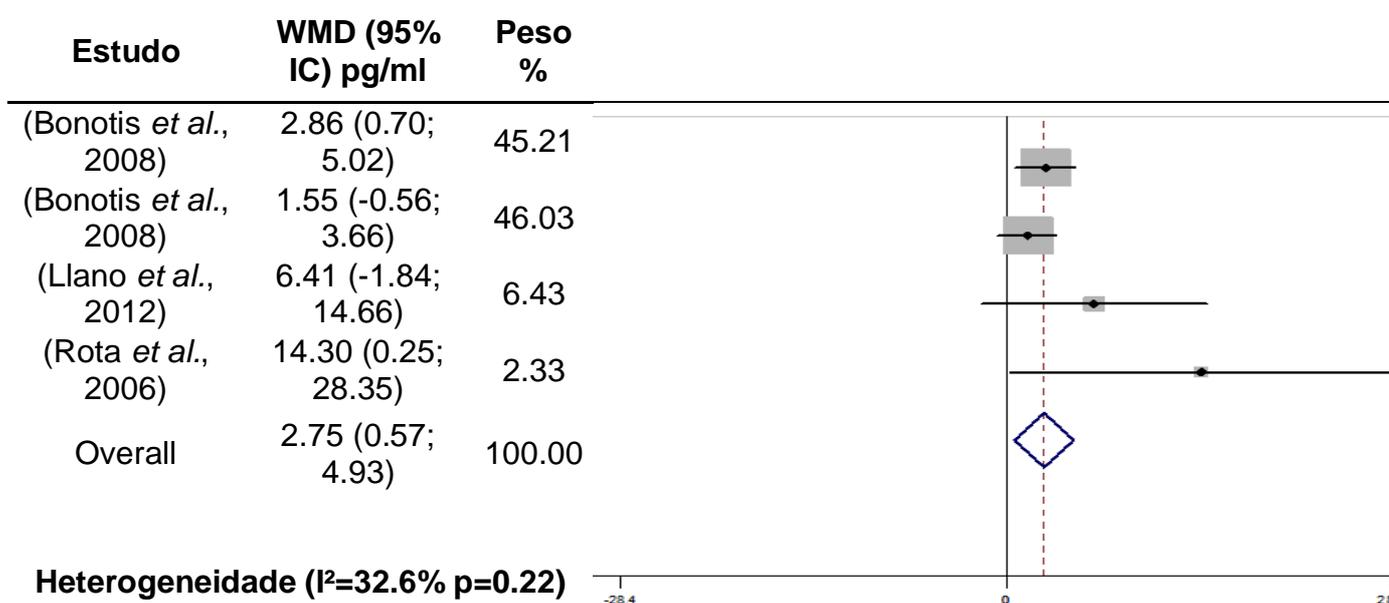


Figura 28. Forrest plot da citocina IL-10 após retirada do estudo de (Wang *et al.*, 2014). Legenda: A=Alzheimer leve e moderado; B= Alzheimer severo

Assim, esta revisão do tema demonstra que os dados não são confirmatórios para todos os estudos e que há ainda amplo campo para discussão, como veremos ao longo desta dissertação.

Anexo 2 - Clinical Dementia Rating (CDR)

1

Iniciais do Sujeito _____

AVALIAÇÃO CLÍNICA DA DEMÊNCIA - Registro Clinical Dementia Rating (CDR) Worksheet

Esta é uma entrevista semi-estruturada. Por favor, faça todas as perguntas. Faça qualquer pergunta adicional necessária para permitir determinar o CDR do indivíduo.
Por favor, anote todas as informações adicionais criadas para as questões.

Questões de Memória para o Informante:

| | | | | |
|---|------------|----------|--|-----------|
| 1. Ele/ela tem problemas de memória ou raciocínio? | Sim | | | Não |
| a. Se sim, estes são persistentes (constantes, contínuos)? | | | | Não |
| 2. E capaz de lembrar uma lista curta (de compras)? | Geralmente | Às vezes | | Raramente |
| 3. Tem notado perda de memória no último ano? | Sim | | | Não |
| 4. E capaz de lembrar acontecimentos recentes? | Geralmente | Às vezes | | Raramente |
| 5. A perda de memória interfere com as atividades diárias que o doente era capaz de realizar há uns anos atrás? | Sim | | | Não |
| 6. Esquece completamente um evento mais importante em poucas semanas? (como viagem, aniversário, visita) | Geralmente | Às vezes | | Raramente |
| 7. Esquece detalhes significativos de um evento mais importante? | Geralmente | Às vezes | | Raramente |
| 8. Esquece completamente informação importante do passado? (data de nascimento, casamento, emprego...) | Geralmente | Às vezes | | Raramente |

9. Conte-me algum acontecimento que tenha ocorrido recentemente (último mês) um pouco diferente do habitual (passeio, viagem ou festa,...). (Para ser testado depois, obtenha detalhes como local do evento, momento do dia, participantes, quanto durou, quando terminou, e como o sujeito e outros participantes chegaram lá) (Obs.: obtenha este relato na ausência do paciente)

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

10. Data de nascimento:

11. Local de nascimento:

12. Última escola que frequentou?

Nome:

Local:

Nível de escolaridade:

13. Qual foi a principal ocupação/profissão do doente? (ou do cônjuge)

14. Qual foi o último emprego? (ou do cônjuge)

15. Quando se aposentou (ou o cônjuge) e porque?

2 AVALIAÇÃO CLÍNICA DA DEMÊNCIA - Registro Clinical Dementia Rating Worksheet

Iniciais do Sujeito _____

Questões de Orientação para o Informante:

| Com que frequência sabe corretamente | | | | | | |
|--|--------------------------|---------------|--------------------------|-----------|--------------------------|----|
| 1. Dia do mês | | | | | | |
| Geralmente | <input type="checkbox"/> | Algumas vezes | <input type="checkbox"/> | Raramente | <input type="checkbox"/> | NS |
| 2. Mês | | | | | | |
| Geralmente | <input type="checkbox"/> | Algumas vezes | <input type="checkbox"/> | Raramente | <input type="checkbox"/> | NS |
| 3. Ano | | | | | | |
| Geralmente | <input type="checkbox"/> | Algumas vezes | <input type="checkbox"/> | Raramente | <input type="checkbox"/> | NS |
| 4. Dia da semana | | | | | | |
| Geralmente | <input type="checkbox"/> | Algumas vezes | <input type="checkbox"/> | Raramente | <input type="checkbox"/> | NS |
| 5. Tem dificuldade com as relações temporais (em situar os acontecimentos no tempo uns em relação aos outros)? | | | | | | |
| Geralmente | <input type="checkbox"/> | Algumas vezes | <input type="checkbox"/> | Raramente | <input type="checkbox"/> | NS |
| 6. Consegue orientar-se em ruas familiares? | | | | | | |
| Geralmente | <input type="checkbox"/> | Algumas vezes | <input type="checkbox"/> | Raramente | <input type="checkbox"/> | NS |
| 7. Consegue orientar-se fora da sua vizinhança? | | | | | | |
| Geralmente | <input type="checkbox"/> | Algumas vezes | <input type="checkbox"/> | Raramente | <input type="checkbox"/> | NS |
| 8. Consegue orientar-se dentro de casa? | | | | | | |
| Geralmente | <input type="checkbox"/> | Algumas vezes | <input type="checkbox"/> | Raramente | <input type="checkbox"/> | NS |

NS – informante não tem condições de responder (não sabe)

3

Iniciais do Sujeito _____

AVALIAÇÃO CLÍNICA DA DEMÊNCIA - Registro Clinical Dementia Rating Worksheet

Questões de Julgamento e Solução de Problemas para o Informante:

| | |
|--|---|
| 1. Como considera a capacidade atual do doente para resolver problemas? | |
| <input type="checkbox"/> | Como sempre |
| <input type="checkbox"/> | Boa, mas não tanto como anteriormente |
| <input type="checkbox"/> | Suficiente |
| <input type="checkbox"/> | Má |
| <input type="checkbox"/> | Sem qualquer capacidade |
| 2. E a capacidade para lidar com pequenas somas de dinheiro (trocos, gorjetas...)? | |
| <input type="checkbox"/> | Sem perda |
| <input type="checkbox"/> | Perda moderada |
| <input type="checkbox"/> | Perda grave |
| 3. E a capacidade para lidar com assuntos financeiros mais complexos (pagar contas, usar talão de cheques..)? | |
| <input type="checkbox"/> | Sem perda |
| <input type="checkbox"/> | Perda moderada |
| <input type="checkbox"/> | Perda grave |
| 4. Como lida com um acidente em casa? (pequeno incêndio, cano furado...) | |
| <input type="checkbox"/> | Tão bem quanto antes |
| <input type="checkbox"/> | Pior do que antes, devido às alterações de memória e pensamento |
| <input type="checkbox"/> | Pior do que antes, devido a outras razões – quais: |
| 5. Compreende as situações e o que lhe é explicado? | |
| <input type="checkbox"/> | Geralmente |
| <input type="checkbox"/> | Algumas vezes |
| <input type="checkbox"/> | Raramente |
| <input type="checkbox"/> | NS |
| 6. Comporta-se adequadamente (i.e., da maneira como costumava ser normalmente) nas situações sociais e na interação com os outros? | |
| <input type="checkbox"/> | Geralmente |
| <input type="checkbox"/> | Algumas vezes |
| <input type="checkbox"/> | Raramente |
| <input type="checkbox"/> | NS |

NS – informante não tem condições de responder (não sabe)

4

AVALIAÇÃO CLÍNICA DA DEMÊNCIA - Registro

Clinical Dementia Rating Worksheet

Iniciais do Sujeito _____

Questões de Atividades na Comunidade* para o Informante:

| OCUPAÇÃO | | | | | | | | | |
|---|---------------|-----------|---------------|--|--|--|--|--|--|
| 1. Ainda trabalha? | SIM | NÃO | Não aplicável | | | | | | |
| 2. Se não, as alterações de memória interferiram na decisão de se aposentar? | SIM | NÃO | Não aplicável | | | | | | |
| 3. Se sim, tem dificuldades devido às alterações de memória ou de raciocínio? | SIM | NÃO | Não aplicável | | | | | | |
| Geralmente | Algumas vezes | Raramente | Não aplicável | | | | | | |
| ATIVIDADE SOCIAL | | | | | | | | | |
| 4. Alguma vez dirigiu automóvel? (ou outro veículo) | SIM | NÃO | Não aplicável | | | | | | |
| Se sim, ainda dirige? | SIM | NÃO | Não aplicável | | | | | | |
| Se não dirige, é devido às alterações de memória ou raciocínio? | SIM | NÃO | Não aplicável | | | | | | |
| 5. Se ainda dirige, há problemas ou risco por causa das alterações de memória ou raciocínio? | SIM | NÃO | Não aplicável | | | | | | |
| 6. É capaz de fazer suas compras sozinho(a)? | | | | | | | | | |
| Raramente ou nunca – precisa de ajuda em qualquer compra | | | | | | | | | |
| Algumas vezes – compra algumas coisas, mas traz duplo ou esquece outros | | | | | | | | | |
| Geralmente | | | | | | | | | |
| NS | | | | | | | | | |
| 7. É capaz de realizar, de forma independente, alguma atividade fora de casa? | | | | | | | | | |
| Raramente ou nunca – precisa de ajuda em qualquer atividade | | | | | | | | | |
| Algumas vezes – limitada e/ou de rotina (participação na igreja, ida ao cabeleireiro..) | | | | | | | | | |
| Geralmente | | | | | | | | | |
| NS | | | | | | | | | |
| 8. É levado(a) a atividades sociais fora da casa da família? | SIM | NÃO | | | | | | | |
| Se não, porque? | | | | | | | | | |
| 9. Um observador ocasional perceberia que se trata de uma pessoa doente por causa do comportamento? | SIM | NÃO | NS | | | | | | |
| 10. Se institucionalizado, participa de atividades sociais? | SIM | NÃO | | | | | | | |

* Atividades na comunidade: ir à igreja, visitar amigos ou familiares, atividades políticas, organizações profissionais, associações recreativas, voluntariado, programas educativos.

NS – informante não tem condições de responder (não sabe)

IMPORTANTE:

Há informação disponível suficiente para graduar o nível de comprometimento nas atividades na comunidade?

Se não, por favor, explore mais.

*Por favor, adicione notas se necessário para esclarecer o nível de funcionamento nesta área.

5 AVALIAÇÃO CLÍNICA DA DEMÊNCIA - Registro Clinical Dementia Rating Worksheet

Iniciais do Sujeito _____

Questões sobre Lar e Lazer (Casa e Passatempos) para o Informante:

1.a Tendo em mente apenas a perda cognitiva, que mudanças ocorreram no desempenho das atividades domésticas?

1.b Que tarefas ainda consegue realizar corretamente?

2.a Tendo em mente apenas a perda cognitiva, que mudanças ocorreram na realização de seus passatempos (hobbies)?

2.b Que passatempos ainda consegue realizar corretamente?

3. Se institucionalizado, que atividades domésticas e passatempos ainda consegue realizar corretamente?

ATIVIDADES DO DIA-A-DIA

4. Capacidade para realizar tarefas domésticas?

- Sem perda
 Perda moderada
 Perda grave

5. A que nível é capaz de realizar tarefas domésticas simples e rotineiras:

- a. sem atividade significativa (executa atividades simples, como fazer a cama, mas com muita supervisão)
 b. limite a algumas tarefas simples (com alguma supervisão lava louça, põe a mesa ...)
 c. independente em algumas atividades (usa eletrodomésticos como aspirador de pó, televisão, prepara refeições simples)
 d. executa todas as tarefas, mas com algumas falhas
 e. executa todas as tarefas, como sempre

| |
|--|
| |
| |
| |
| |
| |

Tarefas domésticas: Cozinhar, lavanderia, faxina, compras de supermercado, tirar lixo, trabalho de pátio, manutenção simples, e reparos básicos.
 Passatempos: Costura, pintura, trabalhos manuais, leitura, entretenimento, fotografia, jardinagem, teatro ou cinema, trabalho em madeira, esportes.

IMPORTANTE:

Há informação disponível suficiente para graduar o nível de comprometimento nas atividades domésticas e passatempos?

Se não, por favor, explore mais.

6 AVALIAÇÃO CLÍNICA DA DEMÊNCIA - Registro Clinical Dementia Rating Worksheet

Iniciais do Sujeito _____

Questões sobre Cuidados Pessoais para o Informante:

A VESTIR

- a. Normal sem ajuda
- b. Pequena ajuda, ocasional/botões mal colocados
- c. Seqüência errada e com esquecimento de peças
- d. Incapaz de se vestir

| |
|---|
| 0 |
| 1 |
| 2 |
| 3 |

B. HIGIENE E APARÊNCIA

- a. Normal sem ajuda
- b. Tem que se chamar a atenção
- c. Algumas vezes necessita ajuda
- d. Ajuda sempre ou quase sempre

| |
|---|
| 0 |
| 1 |
| 2 |
| 3 |

C. ALIMENTAÇÃO

- a. limpo, utiliza corretamente os utensílios
- b. suja tudo e utiliza apenas a colher
- c. sem ajuda só consegue comer sólidos simples
- d. precisa ser alimentado

| |
|---|
| 0 |
| 1 |
| 2 |
| 3 |

D. CONTROLE ESFINCTERIANO

- a. normal, controle total
- b. ocasionalmente, urina na cama
- c. freqüentemente, urina na cama
- d. totalmente incontinente

| |
|---|
| 0 |
| 1 |
| 2 |
| 3 |

7

AVALIAÇÃO CLÍNICA DA DEMÊNCIA - Registro

Clinical Dementia Rating Worksheet

Iniciais do Sujeito _____

MEMÓRIA - QUESTIONÁRIO PARA O PACIENTE

1. Tem problemas de memória ou de raciocínio? SIM NÃO
2. Há pouco o seu (marido, mulher...) me contou um acontecimento importante que ocorreu recentemente, com o Sr(a). Poderia me contar o que aconteceu? (incentivar que sejam referidos detalhes como datas, local, pessoas envolvidas, etc.) [se necessário identifique o acontecimento]

| Correto | Parcialmente correto | Incorreto |
|---------|----------------------|-----------|
|---------|----------------------|-----------|

3. Vou lhe dizer o nome e o endereço de uma pessoa - procure decorar, pois vou lhe pedir para repetir mais adiante. Espere eu lhe terminar, então pode repetir (até o máximo de 3 vezes - assinale os elementos repetidos corretamente).

| Itens | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-------|-------|----------|--------------|----|--------|
| | Maria | da Silva | Rua da Praia | 54 | Centro |
| | Maria | da Silva | Rua da Praia | 54 | Centro |
| | Maria | da Silva | Rua da Praia | 54 | Centro |

Obs.: sublinhe os elementos repetidos corretamente em cada tentativa

4. Qual a sua data de nascimento?

5. Onde nasceu?

6. Qual o nome do colégio que estudou por último?

Nome: _____

Lugar: _____

Grau: _____

7. Pode repetir o nome e endereço que lhe disse agora há pouco?

| Itens | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-------|-------|----------|--------------|----|--------|
| | Maria | da Silva | Rua da Praia | 54 | Centro |

assinale os itens corretos

| | | | | | |
|----|--|--|--|--|--|
| 8. | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

8

AVALIAÇÃO CLÍNICA DA DEMÊNCIA - Registro Clinical Dementia Rating Worksheet

Iniciais do Sujeito _____

ORIENTAÇÃO - QUESTIONÁRIO PARA O PACIENTE

| | | | | |
|--|---------|--------------------------|-----------|--------------------------|
| Que dia é hoje? | Correto | <input type="checkbox"/> | Incorreto | <input type="checkbox"/> |
| Qual é o dia da semana? | Correto | <input type="checkbox"/> | Incorreto | <input type="checkbox"/> |
| Em que mês estamos? | Correto | <input type="checkbox"/> | Incorreto | <input type="checkbox"/> |
| E o ano? | Correto | <input type="checkbox"/> | Incorreto | <input type="checkbox"/> |
| Que lugar é este aqui? | Correto | <input type="checkbox"/> | Incorreto | <input type="checkbox"/> |
| Qual o nome desta cidade? | Correto | <input type="checkbox"/> | Incorreto | <input type="checkbox"/> |
| Sem olhar para o relógio, sabe me dizer que horas são agora? (aceitar \pm 1 hora) Hora verdadeira: _____ Hora referida pelo sujeito: _____ | Correto | <input type="checkbox"/> | Incorreto | <input type="checkbox"/> |
| O sujeito sabe quem é o informante (em seu julgamento)? | Correto | <input type="checkbox"/> | Incorreto | <input type="checkbox"/> |

Iniciais do Sujeito _____

9

AVALIAÇÃO CLÍNICA DA DEMÊNCIA - Registro Clinical Dementia Rating Worksheet

JUÍZO CRÍTICO E SOLUÇÃO DE PROBLEMAS - QUESTIONÁRIO PARA O PACIENTE

INSTRUÇÕES: Se a primeira resposta do paciente não merecer pontuação máxima, insistir até compreender bem qual a capacidade do doente na compreensão do problema. Pontue a resposta mais aproximada.

SEMELHANÇAS

Se eu lhe perguntar qual a semelhança entre uma banana e uma laranja, uma resposta certa é dizer que as duas são frutas.

Diga-me agora em que são semelhantes (parecidos)

1. Cachorro e Leão

Animais, mamíferos, carnívoros, (qualquer elemento abstrato – categoria)

Resposta concreta (têm 4 patas, rabo, pelo..)

Resposta errada ou sem sentido, ou não sabe

| |
|---|
| 0 |
| 1 |
| 2 |

2. Mesa e Cadeira

Mobiliária, móveis

Resposta concreta (de madeira, com pés, servem para a cozinha, etc.)

Resposta errada ou sem sentido, ou não sabe

| |
|---|
| 0 |
| 1 |
| 2 |

DIFERENÇAS

Se eu lhe perguntar qual a diferença entre uma colher e uma pá, uma resposta certa é dizer que a colher é um utensílio para pegar alimentos e a pá para tirar ou botar terra/areia, abrir um buraco no chão, etc. Diga-me agora em que são diferentes.....

1. Açúcar e vinagre

Doce e ácido/azedo

Concreto (um para colocar no café e outro na salada...)

Errado ou sem sentido, ou não sabe

| |
|---|
| 0 |
| 1 |
| 2 |

2. Roubo e engano

Intencional e não intencional

Só explica um

Errado ou sem sentido, ou não sabe

| |
|---|
| 0 |
| 1 |
| 2 |

CÁLCULOS

3. Quantas moedas de 50 centavos são necessárias para R\$ 2,00?

correto incorreto

4. Quantas notas de R\$ 5,00 são necessárias para ter uma nota R\$20?

5. Subtraia 3 de 20 e siga subtraindo 3 a partir de cada resultado: 20 – 17 – 14 – 11 – 8 – 5 – 2

CRÍTICA

6. Se chegasse numa cidade desconhecida e quisesse localizar um amigo, como faria?

Consultava lista telefônica, telefonava para um conhecido em comum – 0

Telefonava para a polícia – 1

Resposta sem sentido ou não sabe – 2

7. O que faria se visse fumaça saindo da janela de seu vizinho?

Chamava os bombeiros, avisava as pessoas e/ou ajudava – 0

Dá apenas uma alternativa correta – 1

Resposta sem sentido ou não sabe – 2

8. Autocrítica: Porque veio ao médico? Qual é seu estado de saúde? etc... (insight)

Bom: _____ Razoável: _____ Ruim: _____

10

Iniciais do Sujeito _____

AVALIAÇÃO CLÍNICA DA DEMÊNCIA - escala CLINICAL DEMENTIA RATING (CDR)

Desenho do Relógio

Pedir para desenhar um relógio redondo, colocar todas as horas e os ponteiros e marcar a hora 2:45.

Pontuação:

- | | |
|----------------|---|
| 0 – Mau | desenho não reconhecível ou distorção grosseira |
| 1 – Suficiente | relógio deve conter um dos seguintes: face aproximadamente circular, números de 1 a 12 |
| 2 – Bom | relógio deve conter 2 dos seguintes: face circular, números de 1 a 12, números simétricos |
| 3 – Excelente | representação perfeita ou quase perfeita |

Anexo 3 - Mini Exame de Estado Mental (MEEM)

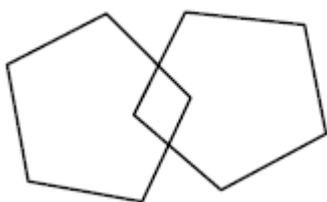
MINI-EXAME DO ESTADO MENTAL (MEEM)

Nome: _____

Idade _____ Data: _____

Pontos de Corte

Anos de estudo: _____ analfabeto 13
 _____ 1 a 7 anos 18
 _____ 8 + anos 26

| Pontuação Máxima | Pontuação do paciente | |
|------------------|-----------------------|--|
| 5 | | Orientação temporal: Dia _____, mês _____, ano _____, dia da semana _____, horas _____ (0 a 5). |
| 5 | | Orientação espacial: Local (específico) _____, País, _____, bairro _____, cidade _____, estado _____ (0 a 5). |
| 3 | | Registro: repetir: cadeira _____, sapato _____, bicicleta _____. |
| 5 | | Cálculo: $100-7=93$ _____; $93-7=86$ _____, $86-7=79$ _____; $79-7=72$ _____; $72-7=65$ _____ (0 a 5) ou MUNDO: O, D, N, U, M _____ |
| 3 | | Memória recente: Quais foram as três palavras que te pedi para repetir? _____ (0 a 3) |
| 9 | | Linguagem: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Nomear dois objetos: caneta _____ e relógio _____ (0 a 2) ▪ Repetir a expressão “nem aqui, nem ali, nem lá” _____ (0 a 1) ▪ Comando de três estágios: apanhar esta folha de papel com a mão direita, dobrar ao meio e coloca-la no chão _____ (0 a 3) ▪ Ler e executar (feche os olhos) _____ (0 a 1) ▪ Escrever uma frase completa _____ (0 a 1) ▪ Copiar o diagrama: _____ (0 a 1)  |
| 30 | | Obs: |

Anexo 4 - Teste de Sentar e Levantar (TSL)

1) Teste de sentar e levantar (Chair Stand Test)

Teste para medir a força de Membros inferiores. O participante é posicionado sentado no meio da cadeira, com os pés planos no chão e as mãos cruzadas na altura do tórax. No sinal de "vai" o participante fica em pé e em seguida volta à posição sentado. Após um aquecimento e familiarização, administra-se o teste. A pontuação é o número de levantamentos concluídos em 30 segundos. Este teste possui uma alta confiabilidade ($r = 0,89$) e foi validado com o teste de uma repetição máxima (1RM) da extensão do joelho e quadril executada no aparelho leg press ($r = 0,77$) (Jones *et al.*, 1999).

Anexo 5 Escala de Atividade de Vida Diária (EAVD)

Escalas das Atividades da Vida Diária

Paciente: _____ Idade: _____
Cuidador: _____ Data: _____
Reavaliação em: _____

1. Cuidados Pessoais

A. Alimentação:

0= Normal

1= Independente, mas lento ou derrubando a comida.

2= Necessita de ajuda para cortar ou servir, derruba com frequência.

3= Deve ser alimentado na maioria das refeições

B. Vestir-se:

0= Normal

1= Independente, mas lento e desajeitado.

2= Sequência errada, esquece itens.

3= Necessita de ajuda para vestir-se.

C. Banho:

0= Normal

1= Banha-se só mas necessita ser lembrado.

2= Banha-se só , com assistência.

3= Deve ser banhado por outros.

D. Eliminações fisiológicas:

0= Vai ao banheiro independentemente.

1= Vai ao banheiro quando lembrado, alguns problemas.

2= Precisa de assistência para a atividade

3= Não tem controle sobre fezes e urina.

E. Medicação:

0= Lembra sem ajuda.

1= Lembra-se quando a medicação é deixada em lugar especial.

2= Necessita de lembretes escritos ou falados.

3= Deve receber a medicação de outros.

F. Interesse na aparência pessoal:

0= O mesmo de sempre.

1= Interessa-se quando vai sair mas não em casa.

2= Permite ser arrumado ou faz quando solicitado.

3= Resiste para ser limpo e trocado por terceiros.

2. Cuidados Domésticos

A. Preparação de comidas, cozinhar:

- 0= Planeja e prepara a comida sem dificuldades.
- 1= Cozinha mas menos que o habitual ou com menos variedade.
- 2= Pega a comida somente se já estiver preparada.
- 3= Nada faz para preparar a comida.

B. Arrumação da mesa:

- 0= Normal
- 1= Independente mas lento ou desajeitado.
- 2= Esquece-se de itens ou os coloca em local errado.
- 3= Não realiza mais esta atividade.

C. Trabalhos domésticos

- 0= Mantêm a casa como de costume.
- 1= Faz apenas metade do seu trabalho.
- 2= Ocasionalmente varre a casa ou faz pequenos serviços.
- 3= Não mais cuida da casa.

D. Reparos domésticos

- 0= Realiza todos os reparos habituais.
- 1= Realiza ao menos metade dos reparos habituais.
- 2= Ocasionalmente faz reparos menores.
- 3= Não faz mais nenhum reparo.

E. Lavar roupas:

- 0= Lava como de costume.
- 1= Lava com menor frequência.
- 2= Lava apenas se lembrado, esquece o sabão.
- 3= Não lava mais as roupas.

3. Trabalho e recreação

A. Trabalho

- 0= Trabalha normalmente.
- 1= Problemas leves com responsabilidades de rotina.
- 2= Trabalha em atividade mais fácil ou meio período, medo de perder o emprego.
- 3= Não trabalha mais.

B. Recreação:

- 0= A mesma habitual
- 1= Atividade recreacional menos frequência.
- 2= Perdeu certas habilidades necessárias para atividades recreativas, deve ser persuadido a participar das atividades.
- 3= Não possui mais atividades recreacionais.

C. Organizações:

- 0= Comparece a encontros, mantêm as atividades como sempre.
- 1= Comparece menos frequentemente.
- 2= Comparece ocasionalmente, não tem maiores responsabilidades.
- 3= Não comparece mais aos encontros.

D. Viagens:

- 0= O mesmo que o habitual.
- 1= Viaja se alguém dirigir.
- 2= Viaja em cadeira de rodas.
- 3= Limitado a casa ou ao hospital.

4. Compras e dinheiro**A. Compra de comidas:**

- 0= Normal.
- 1= Esquece de itens ou compre itens desnecessários.
- 2= Precisa ser acompanhado enquanto faz as compras.
- 3= Não faz mais as compras.

B. Uso de dinheiro:

- 0= Normal
- 1= Tem dificuldade de pagar valores exatos, contar dinheiro.
- 2= Perde ou coloca o dinheiro em local errado.
- 3= Não mais manipula o dinheiro.

C. Administração das finanças:

- 0= Pagamentos de contas e serviços bancários normais.
- 1= Paga contas atrasado, dificuldades para preencher cheques.
- 2= Esquece de pagar as contas, problemas para administrar o saldo bancário, necessita ajuda de terceiros.
- 3= Não administra mais as finanças.

5. Locomoção**A. Transporte público:**

- 0= Utiliza transporte público normalmente.
- 1= Utiliza transporte público menos frequentemente.
- 2= Perde-se utilizando transporte público.
- 3= Não usa mais transporte público.

B. Condução de veículos:

- 0= Dirige normalmente
- 1= Dirige mais cautelosamente.
- 2= Dirige menos cuidadosamente, perdeu-se enquanto dirigia.
- 3= Não mais dirige.

C. Mobilidade pela vizinhança:

- 0= Normal
- 1= Sai de casa menos frequentemente.
- 2= Perde-se nas proximidades da casa.
- 3= Não sai mais desacompanhado.

D. Locomoção fora de locais familiares:

- 0= Normal.
- 1= Ocasionalmente fica desorientado em locais estranhos.
- 2= Fica muito desorientado mas locomove-se se acompanhado.
- 3= Não é mais capaz de sair.

6. Comunicação:

A. Uso do telefone:

- 0= Normal.
- 1= Liga apenas para alguns números familiares.
- 2= Apenas atende ao telefone.
- 3= Não usa mais o telefone.

B. Conversas:

- 0= Normal
- 1= Menos falante, dificuldade de lembrar-se de nomes ou palavras.
- 2= Comete erros ocasionais de fala.
- 3= Fala quase ininteligível.

C. Compreensão:

- 0= Compreende tudo que lhe é dito.
- 1= Necessita que repitam.
- 2= Tem dificuldade em compreender conversações ou palavras específicas ocasionalmente.
- 3= Não compreende o que as pessoas falam na maior parte do tempo.

D. Leitura

- 0= Normal
- 1= Le com menor frequência.
- 2= Tem dificuldades em compreender ou lembrar-se do que leu.
- 3= Não lê mais.

E. Escrita:

- 0= Normal
- 1= Escreve com menos frequência, erros ocasionais.
- 2= Apenas assina o nome.
- 3= Nunca escreve.

7. Relações sociais (cônjuge)

A. Relações familiares:

- 0= Normais.

- 1= Pequenos problemas matrimoniais.
- 2= Sérios problemas matrimoniais.
- 3= Divorciado, separado ou sem mais relacionamentos.

B. Relações familiares (crianças)

- 0= Normal.
- 1= Facilmente irritável, punições intempestivas.
- 2= Negligencia as necessidades físicas e emocionais dos filhos.
- 3= Incapacitado para cuidar das crianças.

C. Amigos:

- 0= Encontra os amigos com a mesma frequência.
- 1= Encontra os amigos com menor frequência.
- 2= Aceita visitas mas não procura companhia.
- 3= Recusa-se a vida social, insulta os visitantes.

PONTUAÇÃO TOTAL: _____/90.

CUIDADOS PESSOAIS: _____/18.

INSTRUMENTAIS: _____/ 72.

Anexo 6 Parecer Consubstanciado do CEP

UNIVERSIDADE DO GRANDE
RIO PROFESSOR JOSÉ DE
SOUZA HERDY - UNIGRANRIO

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Biomarcadores inflamatórios e Hormonais na Doença de Alzheimer

Pesquisador: Luiz Felipe da Silva Figueiredo

Área

Temática

: Versão:

1

CAAE: 57332116.7.0000.5283

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE UNIGRANRIO

Patrocinador Principal: FUND COORD DE APERFEICOAMENTO DE PESSOAL DE NIVEL SUP

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.642.928

Apresentação do Projeto:

Proposta bem apresentada, bastante objetiva, com linguagem clara, de fácil leitura, demonstrando bom conhecimento do estado da arte do tema a ser desenvolvido como dissertação de mestrado.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo básico deste projeto é "Rastrear biomarcadores inflamatórios e hormonais associados a Doenças de Alzheimer". Onde pretende-se Identificar a presença marcadores inflamatórios e níveis alterados de cortisol e DHEA em DA. Analisar a relação entre os biomarcadores inflamatórios e hormonais com a severidade da doença. Analisar a relação entre os biomarcadores inflamatórios e hormonais com a severidade da doença. Analisar a relação entre os biomarcadores inflamatórios e hormonais com a capacidade funcional e alterações físicos-comportamentais.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O único risco que podemos observar é um pequeno desconforto, normalmente presente na coleta do sangue ser utilizado na análise bioquímico e molecular. Quanto aos benefícios, acredito que os resultados a serem obtidos tem caráter pois deve contribuir para o uma maior compreensão do desenvolvimento da doença.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Como mencionado antes, considero este projeto de relevante importância para o conhecimento científico da Doença de Alzheimer.

Endereço: Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160

Bairro: 25 de Agosto

UF:

RJ

Telefone:

Município: DUQUE DE CAXIAS

(21)2672-7733

Fax: (21)2672-7733

C
E 25.071-
P: 202

E-mail: cep@unigranrio.com.br

Continuação do Parecer: 1.642.928

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Sem restrições.

Recomendações:

Devido , dificuldades que geralmente observamos quando se trata da obtenção de dados de doentes com doenças crônicas e respectivos controles, recomendo esforços para obtenção de amostras em outros centros de atendimento de idosos e assim conseguir um tamanho amostral necessário para fazer inferências estatísticas consistentes.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Recomendo a aprovação desta proposta.

Considerações Finais a critério do CEP:

Prezado (a) Pesquisador (a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da UNIGRANRIO atendendo o previsto na Resolução 466/12 do CNS/MS APROVOU o referido projeto na reunião ocorrida em 20 de julho de 2016. Caso o (a) pesquisador (a) altere a pesquisa é necessário que o projeto retorne ao Sistema Plataforma Brasil para uma futura avaliação e emissão de novo parecer. Lembramos que o (a) pesquisador (a) deverá encaminhar o relatório da pesquisa após a sua conclusão, como um compromisso junto a esta instituição e o Sistema Plataforma Brasil.

O Projeto foi aprovado,mas o relator fez uma sugestão, abaixo segue a mesma:

Devido, dificuldades que geralmente observamos quando se trata da obtenção de dados de doentes com doenças crônicas e respectivos controles, recomendo esforços para obtenção de amostras em outros centros de atendimento de idosos e assim conseguir um tamanho amostral necessário para fazer inferências estatísticas consistentes.

Cordialmente,
CEP/Unigranrio.

Endereço: Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160

Bairro: 25 de Agosto

UF:

RJ

Telefone:

Município:
(21)2672-
7733

DUQUE DE CAXIAS
Fax: (21)2672-
7733

**C
E
P:**

25.071-
202

E-mail: cep@unigranrio.com.br

**UNIVERSIDADE DO GRANDE
RIO PROFESSOR JOSÉ DE
SOUZA HERDY - UNIGRANRIO**



Continuação do Parecer: 1.642.928

Devido, dificuldades que geralmente observamos quando se trata da obtenção de dados de doentes com doenças crônicas e respectivos controles, recomendo esforços para obtenção de amostras em outros centros de atendimento de idosos e assim conseguir um tamanho amostral necessário para fazer inferências estatísticas consistentes.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|---|---|------------------------|------------------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_699728.pdf | 14/06/2016 17:44:34 | | Aceito |
| Outros | MINI_MENTAL.doc | 14/06/2016 17:44:13 | Luiz Felipe da Silva Figueiredo | Aceito |
| Outros | carta_de_anuencia.pdf | 13/06/2016 14:21:05 | Luiz Felipe da Silva Figueiredo | Aceito |
| Outros | Termo_de_Confidencialidade.pdf | 13/06/2016 14:20:27 | Luiz Felipe da Silva Figueiredo | Aceito |
| Outros | Teste_de_Sentar_e_Levantar.docx | 10/06/2016 22:51:40 | Luiz Felipe da Silva Figueiredo | Aceito |
| Outros | CDR.docx | 10/06/2016 22:48:30 | Luiz Felipe da Silva Figueiredo | Aceito |
| Cronograma | cronograma.docx | 10/06/2016 22:41:54 | Luiz Felipe da Silva Figueiredo | Aceito |
| Outros | Roteiro_de_Entrevista.docx | 10/06/2016 22:40:37 | Luiz Felipe da Silva Figueiredo | Aceito |
| Orçamento | orcamento_Pesquisa.pdf | 06/06/2016 19:38:52 | Luiz Felipe da Silva Figueiredo | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TERMO_DE_CONSENTIMENTO_LIVR E_E_ESCLARECIDO.docx | 01/06/2016 12:37:20 | Luiz Felipe da Silva Figueiredo | Aceito |
| Folha de Rosto | Folha_de_Rosto_CEP.pdf | 01/06/2016 12:35:42 | Luiz Felipe da Silva Figueiredo | Aceito |

| | | | | |
|--------------------------|-----------------------|--------------------------------|---------------------------------------|------------|
| Projeto Detalhado / | Projeto_Mestrado.docx | 18/05/2 016 16:29:3 1 | Luiz Felipe da Silva Figueiredo | Ace ito |
| Brochura Investigador | | | | |

Situação do**Parecer:**

Aprovado

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------------------------|--------------------------------------|
| Endereço: Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160 | | C | |
| Bairro: 25 de Agosto | | E | 25.071- |
| UF: | | P: | 202 |
| RJ | Município: DUQUE DE CAXIAS | | |
| Telefone: | (21)2672-7733 | Fax: (21)2672-7733 | E-mail: cep@unigranrio.com.br |

UNIVERSIDADE DO GRANDE
RIO PROFESSOR JOSÉ DE
SOUZA HERDY - UNIGRANRIO



Continuação do Parecer: 1.642.928

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

DUQUE DE CAXIAS, 20 de Julho de 2016

Assinado por:
Renato Cerqueira
Zambrotti
(Coordenador)

Endereço: Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160

Bairro: 25 de Agosto

UF:

RJ

Telefone:

Município:
(21)2672-
7733

DUQUE DE CAXIAS
Fax: (21)2672-
7733

C
E
P:

25.071-
202

E-mail: cep@unigranrio.com.br

Anexo 7 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(De acordo com as normas da Resolução nº466, do Conselho Nacional de Saúde de 12/12/2012)

Você está sendo convidado a participar da pesquisa – *Influência sobre biomarcadores nas doenças neurodegenerativas em idosos*. Você foi selecionado por ser maior de 55 anos e sua participação não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com pesquisador da Unigranrio ou UFRJ. Isto significa dizer que o seu tratamento nestes lugares está garantido.

Os objetivos deste estudo são: 1) estudar os fatores imunológicos que possam estar influenciando o desenvolvimento de doenças da população idosa como, depressão, demência entre outras. 2) estudar fatores físicos que possam estar relacionados com os fatores imunológicos. 3) estudar os fatores cognitivos e emocionais que possam se relacionar com os fatores imunológicos.

Sua participação nesta pesquisa consistirá em doar uma amostra de 5ml de sangue total que será utilizada para posterior análise dos fatores imunológicos e um teste de capacidade funcional. Pode ser necessário uma segunda coleta, caso o material biológico não seja suficiente ou sofra algum tipo de alteração (coagulação, hemólise). Esta coleta não acarreta nenhum prejuízo ou risco a sua saúde, exceto aqueles relacionados com um pequeno desconforto, comum à retirada rotineira de sangue, ou um pequeno hematoma. A coleta será realizada por um profissional previamente treinado. Os benefícios relacionados com a sua participação são de grande importância científica pois os resultados permitirão entender e adotar medidas apropriadas para a melhoria da qualidade de vida dos pacientes. Para o teste de capacidade funcional, será necessário realizar um teste que consiste em realizar atividade de sentar e levantar durante 30 segundos em uma cadeira.

As informações obtidas desta pesquisa são confidenciais e asseguramos o sigilo sobre a sua participação. Os dados não serão divulgados de forma que possibilite a sua identificação. O sigilo e a confidencialidade das informações

obtidas pelo estudo serão preservados. Nenhuma identidade dos participantes será revelada. As amostras de material biológico e os resultados dos testes físicos farão partes de um banco de dados identificados por códigos numéricos específicos.

Uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com o senhor(a), podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento com os pesquisadores responsáveis: Dr. Jerson Laks (responsável) no e-mail (jersonlaks@gmail.com, [Tel.: 21 99986-5794](tel:21999865794)), Luiz Felipe Figueiredo (pesquisador mestrando UNIGRANRIO, lipe.figueiredo@globocom.com.br, [Tel.: 21 99490-3037](tel:21994903037)).

Pesquisador responsável

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

O pesquisador me informou que o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa em Seres Humanos da UNIGRANRIO, localizada na Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160 – CEP 25071-202 TELEFONE (21) 2672-7733 – endereço eletrônico: cep@unigranrio.com.br.

Rio de Janeiro, _____ de _____ de 20 _____.

Sujeito da pesquisa

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ALCÂNTARA, A. O.; CAMARANO, A. A.; GIACOMIN, K. C. **Política nacional do idoso : velhas e novas questões**. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, 2016. ISBN 978-85-7811-290-5.

ALVAREZ, A. et al. Serum TNF-alpha levels are increased and correlate negatively with free IGF-I in Alzheimer disease. **Neurobiol Aging**, v. 28, n. 4, p. 533-6, Apr 2007. ISSN 1558-1497 (Electronic)0197-4580 (Linking).

AZAD, F. J. et al. Association between Cytokine production and disease severity in Alzheimer's disease. **Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology; Vol 13, No 6 (2014)**, 2014.

BATEMAN, R. J. et al. Clinical and biomarker changes in dominantly inherited Alzheimer's disease. **N Engl J Med**, v. 367, n. 9, p. 795-804, Aug 30 2012. ISSN 1533-4406 (Electronic) 0028-4793 (Linking).

BELKHELFA, M. et al. IFN- γ and TNF- α Are Involved During Alzheimer Disease Progression and Correlate with Nitric Oxide Production: A Study in Algerian Patients. **Journal of Interferon & Cytokine Research**, v. 34, n. 11, p. 839-847, 2014/11/01 2014. ISSN 1079-9907.

BERTOLUCCI, P. H. F. et al. O Mini-Exame do Estado Mental em uma população geral: impacto da escolaridade. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 52, p. 01-07, 1994. ISSN 0004-282X.

BONOTIS, K. et al. Systemic immune aberrations in Alzheimer's disease patients. **Journal of Neuroimmunology**, v. 193, n. 1-2, p. 183-187, Jan 2008. ISSN 01655728.

BOSSÙ, P. et al. Interleukin-18 produced by peripheral blood cells is increased in Alzheimer's disease and correlates with cognitive impairment. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 22, n. 4, p. 487-492, 5// 2008. ISSN 0889-1591.

_____. Interleukin-18, From Neuroinflammation to Alzheimers Disease. **Current Pharmaceutical Design**, v. 16, n. 38, p. 4213-4224, 2010. ISSN 1381-6128/1873-4286.

BOYLE, C. P. et al. Physical Activity, Body Mass Index, and Brain Atrophy in Alzheimer's Disease. **Neurobiology of aging**, v. 36, n. 0 1, p. S194-S202, 08/27 2015. ISSN 0197-4580 1558-1497.

BROWNE, T. C. et al. IFN- γ Production by Amyloid β -Specific Th1 Cells Promotes Microglial Activation and Increases Plaque Burden in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. **The Journal of Immunology**, v. 190, n. 5, p. 2241, 2013.

CHEN, R. et al. Elevation of serum TNF-alpha levels in mild and moderate Alzheimer patients with daytime sleepiness. **J Neuroimmunol**, v. 244, n. 1-2, p. 97-102, Mar 2012. ISSN 1872-8421 (Electronic) 0165-5728 (Linking).

CHOW, V. W. et al. An Overview of APP Processing Enzymes and Products. **Neuromolecular Medicine**, v. 12, n. 1, p. 12, 2010.

CORDER, E. H. et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. **Science**, v. 261, n. 5123, p. 921, 1993.

DI ROSA, M. et al. Chitotriosidase and inflammatory mediator levels in Alzheimer's disease and cerebrovascular dementia. **European Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 10, p. 2648-2656, 2006. ISSN 1460-9568.

DUBOIS, B. et al. Revising the definition of Alzheimer's disease: a new lexicon. **Lancet Neurol**, v. 9, n. 11, p. 1118-27, Nov 2010. ISSN 1474-4465 (Electronic) 1474-4422 (Linking).

DURSUN, E. et al. The interleukin 1 alpha, interleukin 1 beta, interleukin 6 and alpha-2-macroglobulin serum levels in patients with early or late onset Alzheimer's disease, mild cognitive impairment or Parkinson's disease. **J Neuroimmunol**, v. 283, p. 50-7, Jun 15 2015. ISSN 1872-8421 (Electronic) 0165-5728 (Linking).

FERREIRA, L. L. et al. Capacidade funcional de idosos institucionalizados com e sem doença de Alzheimer. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 17, p. 567-573, 2014. ISSN 1809-9823.

FOLSTEIN, M. F.; FOLSTEIN, S. E.; MCHUGH, P. R. Mini-Mental State: a practical method for grading the cognitive state of patients for clinician. **Journal of Psychiatric Research**, v. 12, n. 3, p. 189-198, 1975. ISSN 0022-3956. Acesso em: 2016/07/21.

FORLENZA, O. V. et al. Increased serum IL-1beta level in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. **Dement Geriatr Cogn Disord**, v. 28, n. 6, p. 507-12, 2009. ISSN 1421-9824 (Electronic) 1420-8008 (Linking).

GALIMBERTI, D. et al. Intrathecal levels of IL-6, IL-11 and LIF in Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration. **Journal of Neurology**, v. 255, n. 4, p. 539-544, 2008// 2008. ISSN 1432-1459.

GAUR, S.; AGNIHOTRI, R. Alzheimer's disease and chronic periodontitis: Is there an association? **Geriatrics & Gerontology International**, v. 15, n. 4, p. 391-404, 2015. ISSN 1447-0594.

GOMES, F. C. A.; TORTELLI, V. P.; DINIZ, L. Glia: dos velhos conceitos às novas funções de hoje e as que ainda virão. **Estudos Avançados**, v. 27, p. 61-84, 2013. ISSN 0103-4014.

GUBANDRU, M. et al. Alzheimer's disease treated patients showed different patterns for oxidative stress and inflammation markers. **Food Chem Toxicol**, v. 61, p. 209-14, Nov 2013. ISSN 1873-6351 (Electronic)0278-6915 (Linking).

HANISCH, U.-K.; KETTENMANN, H. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. **Nat Neurosci**, v. 10, n. 11, p. 1387-1394, 11/print 2007. ISSN 1097-6256.

HARDY, J.; SELKOE, D. J. The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics. **Science**, v. 297, n. 5580, p. 353, 2002.

HENEKA, M. T. et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. **Lancet Neurol**, v. 14, n. 4, p. 388-405, Apr 2015. ISSN 1474-4465 (Electronic)1474-4422 (Linking).

HEPPNER, F. L.; RANSOHOFF, R. M.; BECHER, B. Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. **Nat Rev Neurosci**, v. 16, n. 6, p. 358-72, Jun 2015. ISSN 1471-0048 (Electronic)1471-003X (Linking).

HOPKINGS, W. A new view of statistics. Internet Society for Sport Science 2000. 2016. Acesso em: 12 August 2016.

HUGHES, C. P. et al. A new clinical scale for the staging of dementia. **The British Journal of Psychiatry**, v. 140, n. 6, p. 566, 1982.

HYMAN, B. T.; TROJANOWSKI, J. Q. Editorial on Consensus Recommendations for the Postmortem Diagnosis of Alzheimer Disease from the National Institute on Aging and the Reagan Institute Working Group on Diagnostic Criteria for the Neuropathological Assessment of Alzheimer Disease. **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, v. 56, n. 10, p. 1095-1097, 1997-10-01 00:00:00 1997.

IBGE. **Censo Demográfico 2010 - Características da População e dos Domicílios - Resultados do Universo**: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística 2010.

JACK, C. R. et al. Update on hypothetical model of Alzheimer's disease biomarkers. **Lancet Neurology**, v. 12, n. 2, p. 10, 2013.

JACK, R. C. et al. Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. **Lancet Neurology**, v. 9, n. 1, 2010.

JOHNSON, K. A. et al. Brain Imaging in Alzheimer Disease. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 2, n. 4, p. a006213, 2012. ISSN 2157-1422.

JONES, C. J.; RIKLI, R. E.; BEAM, W. C. A 30-s Chair-Stand Test as a Measure of Lower Body Strength in Community-Residing Older Adults. **Research Quarterly for Exercise and Sport**, v. 70, n. 2, p. 113-119, 1999/06/01 1999. ISSN 0270-1367.

KARRAN, E.; MERCKEN, M.; DE STROOPER, B. The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: an appraisal for the development of therapeutics. **Nat Rev Drug Discov**, v. 10, n. 9, p. 698-712, Sep 2011. ISSN 1474-1784 (Electronic) 1474-1776 (Linking).

KASSNER, S. S. et al. Novel systemic markers for patients with Alzheimer disease? - a pilot study. **Curr Alzheimer Res**, v. 5, n. 4, p. 358-66, Aug 2008. ISSN 1567-2050 (Print)1567-2050 (Linking).

KIYOTA, T. et al. AAV serotype 2/1-mediated gene delivery of anti-inflammatory interleukin-10 enhances neurogenesis and cognitive function in APP+PS1 mice. **Gene therapy**, v. 19, n. 7, p. 724-733, 09/15 2012. ISSN 0969-7128 1476-5462.

LAWTON, M. P.; BRODY, E. M. Assessment Of Older People: Self-Maintaining And Instrumental Activities Of Daily Living. . **The Gerontologist**, v. 9, p. 8, 1969.

LEE, K. S. et al. Peripheral cytokines and chemokines in Alzheimer's disease. **Dement Geriatr Cogn Disord**, v. 28, n. 4, p. 281-7, 2009. ISSN 1421-9824 (Electronic)1420-8008 (Linking).

_____. Bioplex analysis of plasma cytokines in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. **Immunol Lett**, v. 121, n. 2, p. 105-9, Dec 22 2008. ISSN 1879-0542 (Electronic)0165-2478 (Linking).

LEUNG, R. et al. Inflammatory Proteins in Plasma Are Associated with Severity of Alzheimer's Disease. **PLoS ONE**, v. 8, n. 6, p. e64971, 2013.

LIBERATI, A. et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. **Ann Intern Med**, v. 151, n. 4, p. W65-94, Aug 18 2009. ISSN 1539-3704 (Electronic)0003-4819 (Linking).

LLANO, D. A. et al. Cerebrospinal fluid cytokine dynamics differ between Alzheimer disease patients and elderly controls. **Alzheimer Dis Assoc Disord**, v. 26, n. 4, p. 322-8, Oct-Dec 2012. ISSN 1546-4156 (Electronic)0893-0341 (Linking).

MACEDO MONTAÑO, M. B. M.; RAMOS, L. R. Validade da versão em português da Clinical Dementia Rating. **Revista de Saúde Pública**, v. 39, p. 912-917, 2005. ISSN 0034-8910.

MAIA, A. L. G. et al. Aplicação da versão brasileira da escala de avaliação clínica da demência (Clinical Dementia Rating - CDR) em amostras de pacientes com demência. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 64, p. 485-489, 2006. ISSN 0004-282X.

MALAGUARNERA, L. et al. Interleukin-18 and transforming growth factor-beta 1 plasma levels in Alzheimer's disease and vascular dementia. **Neuropathology**, v. 26, n. 4, p. 307-12, Aug 2006. ISSN 0919-6544 (Print)0919-6544 (Linking).

MARSLAND, A. L. et al. Interleukin-6 covaries inversely with hippocampal grey matter volume in middle-aged adults. **Biol Psychiatry**, v. 64, n. 6, p. 484-90, Sep 2008. ISSN 1873-2402.

MCKHANN, G. et al. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. **Neurology**, v. 34, n. 7, p. 939-44, Jul 1984. ISSN 0028-3878 (Print)0028-3878 (Linking).

MCKHANN, G. M. et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimers Dement**, v. 7, n. 3, p. 263-9, May 2011. ISSN 1552-5279 (Electronic)1552-5260 (Linking).

MEDEIROS, R.; LAFERLA, F. M. Astrocytes: Conductors of the Alzheimer disease neuroinflammatory symphony. **Experimental Neurology**, v. 239, p. 133-138, 1// 2013. ISSN 0014-4886.

MENDESA, G. S. et al. Sarcopenia Em Idosos Sedentários E Sua Relação Com Funcionalidade E Marcadores Inflamatórios (II-6 E II-10). **Geriatrics, Gerontology and Aging**, v. 10, n. 1, p. 6, 2016.

MERAZ-RIOS, M. A. et al. Inflammatory process in Alzheimer's Disease. **Front Integr Neurosci**, v. 7, p. 59, 2013. ISSN 1662-5145 (Electronic) 1662-5145 (Linking).

MOMTAZ, Y. A. et al. Body Mass Index (BMI) and Cognitive Functions in LATER Life. **Current Alzheimer Research**, v. 14, 2017. [Epub Ahead of Print]

MORALES, I. et al. Neuroinflammation in the pathogenesis of Alzheimer's disease. A rational framework for the search of novel therapeutic approaches. **Front Cell Neurosci**, v. 8, p. 112, 2014. ISSN 1662-5102 (Electronic)1662-5102 (Linking).

MOTTA, M. et al. Altered plasma cytokine levels in Alzheimer's disease: correlation with the disease progression. **Immunol Lett**, v. 114, n. 1, p. 46-51, Nov 30 2007. ISSN 0165-2478 (Print)0165-2478 (Linking).

NITRINI, R. et al. Prevalence of dementia in Latin America: a collaborative study of population-based cohorts. **Int Psychogeriatr**, v. 21, n. 4, p. 622-30, Aug 2009. ISSN 1041-6102 (Print)1041-6102 (Linking).

OLABARRIA, M. et al. Age-dependent decrease in glutamine synthetase expression in the hippocampal astroglia of the triple transgenic Alzheimer's disease mouse model: mechanism for deficient glutamatergic transmission? **Molecular Neurodegeneration**, v. 6, p. 55-55, 07/30 ISSN 1750-1326.

PEREIRA, R. et al. Análise Da Força De Preensão De Mulheres Idosas - Estudo Comparativo Entre Faixas Etárias. **Acta Médica Portuguesa**, v. 24, p. 6, 2011.

PETERSEN, A. M.; PEDERSEN, B. K. The role of IL-6 in mediating the anti-inflammatory effects of exercise. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 57, n. suppl. 10, p. 9, 2006.

PRINCE, M. et al. The global prevalence of dementia: a systematic review and metaanalysis. **Alzheimers Dement**, v. 9, n. 1, p. 63-75 e2, Jan 2013. ISSN 1552-5279 (Electronic)1552-5260 (Linking).

PRINCE, P. M. et al. **Alzheimer's Disease International: World Alzheimer Report 2015 - The Global Impact of Dementia - An analysis of prevalence, incidence, cost & trends**. Alzheimer's Disease International: The International Federation of Alzheimer's Disease and Related Disorders Societies, Inc. www.alz.co.uk/worldreport2015, p.83. 2015

QUINTANILLA, R. A. et al. Interleukin-6 induces Alzheimer-type phosphorylation of tau protein by deregulating the cdk5/p35 pathway. **Experimental Cell Research**, v. 295, n. 1, p. 245-257, 4/15/ 2004. ISSN 0014-4827.

REALE, M. et al. Relationship between inflammatory mediators, Abeta levels and ApoE genotype in Alzheimer disease. **Curr Alzheimer Res**, v. 9, n. 4, p. 447-57, May 2012. ISSN 1875-5828 (Electronic)1567-2050 (Linking).

RENTZOS, M. et al. Interleukin-12 is reduced in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. **J Neurol Sci**, v. 249, n. 2, p. 110-4, Nov 15 2006. ISSN 0022-510X (Print)0022-510X (Linking).

RICHARTZ, E. et al. Decline of immune responsiveness: A pathogenetic factor in Alzheimer's disease? **Journal of Psychiatric Research**, v. 39, n. 5, p. 535-543, 2005/09/01/ 2005. ISSN 0022-3956.

RODGERS, A. B. **ALZHEIMER'S DISEASE: Unraveling the Mystery**. AGING, N.-N. I. O. 2008.

RODRIGUES, C. L.; ZIEGELMANN, P. K. Metanálise: Um Guia Prático. **Clinical & Biomedical Research; Vol 30, No 4 (2010): Especial Diabetes Melito**, 01/11/ 2011.

ROTA, E. et al. Increased intrathecal TGF-beta1, but not IL-12, IFN-gamma and IL-10 levels in Alzheimer's disease patients. **Neuro Sci**, v. 27, n. 1, p. 33-9, Apr 2006. ISSN 1590-1874 (Print)1590-1874 (Linking).

SASTRE, M.; WALTER, J.; GENTLEMAN, S. M. Interactions between APP secretases and inflammatory mediators. **Journal of Neuroinflammation**, v. 5, p. 25-25, ISSN 1742-2094..

SCHMIDT, M. I. et al. Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. **The Lancet**, v. 377, n. 9781, p. 1949-1961, 2011. ISSN 0140-6736. Acesso em: 2016/11/07.

SHAFTEL, S. S.; GRIFFIN, W. S.; O'BANION, M. K. The role of interleukin-1 in neuroinflammation and Alzheimer disease: an evolving perspective. **J Neuroinflammation**, v. 5, p. 7, 2008. ISSN 1742-2094 (Electronic)1742-2094 (Linking).

SMITH, E. R. et al. Plasma fetuin-A is associated with the severity of cognitive impairment in mild-to-moderate Alzheimer's disease. **J Alzheimers Dis**, v. 24, n. 2, p. 327-33, 2011. ISSN 1875-8908 (Electronic)1387-2877 (Linking).

SOBOL, N. A. et al. Associations between physical function, dual-task performance and cognition in patients with mild Alzheimer's disease. **Aging & Mental Health**, v. 20, n. 11, p. 1139-1146, 2016/11/01 2016. ISSN 1360-7863.

SOUSA, M. R. D.; RIBEIRO, A. L. P. Revisão sistemática e meta-análise de estudos de diagnóstico e prognóstico: um tutorial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 92, p. 241-251, 2009. ISSN 0066-782X.

STOECK, K. et al. Immune responses in rapidly progressive dementia: a comparative study of neuroinflammatory markers in Creutzfeldt-Jakob disease, Alzheimer's disease and multiple sclerosis. **J Neuroinflammation**, v. 11, p. 170, 2014. ISSN 1742-2094 (Electronic)1742-2094 (Linking).

SUN, Y. X. et al. Inflammatory Markers in Matched Plasma and Cerebrospinal Fluid from Patients with Alzheimer's Disease. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders**, v. 16, n. 3, p. 136-144, 2003. ISSN 1420-8008.

SUTINEN, E. M. et al. Pro-inflammatory interleukin-18 increases Alzheimer's disease-associated amyloid- β production in human neuron-like cells. **Journal of Neuroinflammation**, v. 9, p. 199-199,. ISSN 1742-2094.

SWARDFAGER, W. et al. A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease. **Biol Psychiatry**, v. 68, n. 10, p. 930-41, Nov 15 2010. ISSN 1873-2402 (Electronic) 0006-3223 (Linking).

TALMELLI, L. F. D. S. et al. Doença de Alzheimer: declínio funcional e estágio da demência. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 26, p. 219-225, 2013. ISSN 0103-2100.

TOBINICK, E. et al. TNF-alpha modulation for treatment of Alzheimer's disease: a 6-month pilot study. **MedGenMed**, v. 8, n. 2, p. 25, 2006. ISSN 1531-0132 (Electronic) 1531-0132 (Linking).

USLU, S. et al. Levels of Amyloid Beta-42, Interleukin-6 and Tumor Necrosis Factor-Alpha in Alzheimer's Disease and Vascular Dementia. **Neurochemical Research**, v. 37, n. 7, p. 1554-1559, 2012// 2012. ISSN 1573-6903.

VERKHRATSKY, A. et al. Astrocytes in Alzheimer's disease. **Neurotherapeutics**, New York, v. 7, n. 4, p. 399-412, 2010. ISSN 1933-7213 1878-7479.

VIEGAS, F. P. D. et al. Doença de Alzheimer: Caracterização, Evolução e Implicações do Processo Neuroinflamatório **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 4, p. 21, 2011. ISSN 1984-6835.

WANG, T. et al. The efficacy of plasma biomarkers in early diagnosis of Alzheimer's disease. **Int J Geriatr Psychiatry**, v. 29, n. 7, p. 713-9, Jul 2014. ISSN 1099-1166 (Electronic)0885-6230 (Linking).

XU, W. et al. Meta-analysis of modifiable risk factors for Alzheimer's disease. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 86, n. 12, p. 1299-306, Dec 2015. ISSN 1468-330X (Electronic)0022-3050 (Linking).

YASUTAKE, C. et al. Serum BDNF, TNF-alpha and IL-1beta levels in dementia patients: comparison between Alzheimer's disease and vascular dementia. **Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci**, v. 256, n. 7, p. 402-6, Oct 2006. ISSN 0940-1334 (Print) 0940-1334 (Linking).

ZULIANI, G. et al. Plasma cytokines profile in older subjects with late onset Alzheimer's disease or vascular dementia. **J Psychiatr Res**, v. 41, n. 8, p. 686-93, Oct 2007. ISSN 0022-3956 (Print)0022-3956 (Linking).