

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM**

PATRICIA REGINA MANZINE

**ADAM10 COMO BIOMARCADOR PARA A DOENÇA DE
ALZHEIMER**

**SÃO CARLOS
2012**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM**

PATRICIA REGINA MANZINE

**ADAM10 COMO BIOMARCADOR PARA A DOENÇA DE
ALZHEIMER**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Enfermagem do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Enfermagem, sob orientação da Prof.^a Dr.^a Sofia Cristina Iost Pavarini e coorientação da Prof.^a Dr.^a Márcia Regina Cominetti, com apoio financeiro da CAPES - REUNI (Bolsa Mestrado) e FAPESP (Auxílio Pesquisa).

**SÃO CARLOS
2012**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

M296ab

Manzine, Patricia Regina.

ADAM10 como biomarcador para a doença de Alzheimer /
Patricia Regina Manzine. -- São Carlos : UFSCar, 2012.
150 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São
Carlos, 2012.

1. Gerontologia. 2. Idosos. 3. Alzheimer, Doença de. 4.
APP. I. Título.

CDD: 612.67 (20^a)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM



FOLHA DE APROVAÇÃO

Aluna: PATRICIA REGINA MANZINE

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DEFENDIDA E APROVADA EM 24/02/12
PELA COMISSÃO EXAMINADORA:

Profa. Dra. Sofia Cristina Iost Pavarini
(Orientadora - DEnf/UFSCar)

Profa. Dra. Monica Sanches Yassuda
(EACH/USP)

Profa. Dra. Heloisa Sobreiro Selistre de Araujo
(DCF/UFSCAR)

Presidente da Coordenação de Pós-Graduação
Profa. Dra. Anamaria Alves Napoleão



Figura 1. August D. *The Lancet*, Fotografia de 1902.

Dedico este trabalho:

A Deus,
Sempre presente em minha vida,
Minha luz e sabedoria em todos os momentos.

À minha família.

Minha base e apoio,

Meu exemplo de união e respeito.

Aos meus pais, Ermelindo e Dionéia.

Meus exemplos de vida e de amor,

Que me direcionam no caminho do bem e da fé,

Que valorizam desde meus pequenos feitos,

Até minhas grandes conquistas,

Pais maravilhosos.

Ao meu namorado Herick.

Meu exemplo de grande pesquisador,

Companheiro de sempre e para sempre,

Meu porto seguro de todos os momentos,

O grande amor da minha vida.

Aos idosos e seus familiares,

Pela amizade e acolhida.

Por tornarem possível a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por me iluminar e abençoar em todos os momentos. Por ser meu guia e me conceder saúde, sabedoria e confiança em minhas decisões.

Aos meus queridos pais, Ermelindo e Dionéia, pelo amor incondicional e pelo esforço na busca de um melhor amanhã para os filhos. Pelo apoio e incentivo aos estudos desde muito cedo, que certamente foram decisivos para a realização deste sonho.

Ao meu querido namorado Herick, pelo amor que me completa e me faz feliz. Por me ajudar em todos os momentos desta pesquisa, sempre preocupado e dedicado em cada etapa. Por me encorajar a trilhar o mundo acadêmico e sempre me fortalecer nos momentos de fraqueza.

À minha querida orientadora Prof.^a Dr.^a Sofia Cristina Iost Pavarini, que desde muito cedo me apresentou à pesquisa. Pela amizade, carinho, cuidado, ensinamentos e dedicação durante todos os momentos. Por acreditar na minha capacidade e me incentivar na busca de novos desafios e conquistas.

À minha querida coorientadora Prof.^a Dr.^a Márcia Regina Cominetti, minha mais nova amiga. Por me apresentar ao fascinante mundo da pesquisa básica. Pelos momentos inesquecíveis de trabalho em bancada e pela paciência e dedicação com minhas dificuldades, que foram muitas.

Aos membros da banca, Prof.^a Dr.^a Heloisa Sobreiro Selistre de Araújo e Prof.^a Dr.^a Mônica Sanches Yassuda pelas relevantes contribuições que foram essenciais para o aprimoramento deste trabalho.

Aos idosos que participaram desta pesquisa e seus familiares, pela compreensão e apoio para a realização desta pesquisa. Pelos momentos únicos em cada visita, regados com muita alegria e esperança.

À inigualável amiga Claudete, técnica do laboratório de Enfermagem que nos momentos mais difíceis estava sempre disponível para ajudar. Pelas longas conversas e pelos momentos inesquecíveis que vivemos junto aos idosos.

Aos alunos de graduação em Gerontologia da UFSCar, em especial Jéssyka, Bruna, Camila, Mariana, Nelise, Otávio e Nádia, pelo empenho constante e pela ajuda na realização das coletas.

Ao Ambulatório de Neurologia Cognitiva e Comportamental da USE e em especial ao Prof.^o Dr.^o Francisco de Assis Carvalho do Vale e aos seus discentes Nádia, Bruno e Natália pelos diagnósticos clínicos e pelo empenho nesta pesquisa.

À enfermeira e técnica de enfermagem da USE, Rosa e Neli, pela paciência e dedicação semanal diante das coletas.

À Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) pela formação profissional e pela oportunidade de realizar o curso de Mestrado.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Enfermagem pela competência e seriedade diante da construção e consolidação deste curso.

A todos os membros do Grupo de Pesquisa Saúde e Envelhecimento pelas relevantes sugestões para que meu trabalho pudesse ser aperfeiçoado.

Às colegas de turma do curso de Mestrado pelos momentos compartilhados nessa jornada, em especial Marja, Simone, Adriane e Juliana.

Aos funcionários das instituições de saúde USE, CEME e USFs pelo acolhimento aos discentes e pesquisadores e por facilitarem a obtenção dos dados.

Ao grupo de pesquisa italiano, em especial a Prof.^a Dr.^a Monica Di Luca por compartilhar experiências laboratoriais relevantes para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular pela acolhida, paciência, aprendizado e novas amizades, em especial a Prof.^a Dr.^a Heloisa Sobreiro Selistre de Araújo e a grande turma Carol, Livia, Kelly, Dani, Patty, Pati Bueno, Ana, Araceli, Rafa, Cíntia, Charles, Beth, Gustavo, Guilherme, Fabi, Anderson, Fernanda, Uliana, Grazi, Natália, Camila, Anabelle, Rita e João, muito obrigada!

À FAPESP e à CAPES pelo apoio financeiro para que este trabalho pudesse ser desenvolvido.

A todas as pessoas aqui não mencionadas, mas que participaram direta ou indiretamente do sucesso desta pesquisa,

Muito obrigada!

*“A mente que se abre a uma nova
ideia jamais voltará ao seu
tamanho original.”*

Albert Einstein

RESUMO

A doença de Alzheimer (DA) é a causa mais comum de demência em pessoas com mais de 65 anos de idade. Estudos plaquetários com a ADAM10 têm demonstrado diminuição na sua expressão em pacientes com DA. A associação entre testes de avaliação cognitiva e biomarcadores moleculares, tais como os níveis plaquetários da proteína ADAM10 podem contribuir para o diagnóstico preciso e precoce da DA. O objetivo desta pesquisa foi verificar a relação entre o Mini-Exame do Estado Mental – MEEM e o *Clinical Dementia Rating* – CDR com a expressão da ADAM10 em dois grupos de idosos. 30 sujeitos com DA foram comparados com 25 controles, pareados segundo sexo, idade e escolaridade. Todos os cuidados éticos foram observados. Foram realizadas avaliações individuais e aplicados o CDR e MEEM e em seguida realizada a coleta do material biológico dos idosos. As técnicas SDS-PAGE e *Western Blotting* foram utilizadas para detecção da ADAM10. Após a coleta dos dados, estes foram analisados por meio de métodos estatísticos de comparação, correlação, associação, regressão logística e acurácia diagnóstica. Os resultados mostram que a razão ADAM10/ β -actina apresenta-se diminuída em idosos com DA e que esta redução se intensifica com o avanço da doença. O MEEM e o CDR apresentam correlações significativas com os valores da razão ADAM10/ β -actina, sendo esta a única variável estatisticamente significativa ($p = 0,01$) para o aumento da probabilidade de ocorrência da DA. O ponto de corte $< 0,4212$ da curva ROC capta sensibilidade de 70% e especificidade de 80,77%, para a presença de DA segundo a razão ADAM10/ β -actina. Portanto, a razão ADAM10/ β -actina parece ser um relevante biomarcador para DA. Os resultados trazem contribuições importantes para um diagnóstico preciso da doença de Alzheimer na perspectiva da ADAM10 como um biomarcador para esta doença. Os resultados são preliminares, porém animadores.

Palavras-chaves: Idoso, doença de Alzheimer, APP, ADAM10.

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia in people over 65 years. Platelet studies with ADAM10 have shown to decrease its expression in AD patients. The association between cognitive testing and molecular biomarkers such as levels of platelet ADAM10 protein can be important tools for the accurate and early diagnosis of AD. The aim of this research was to investigate the relationship between the Mini-Mental State Examination - MMSE and the Clinical Dementia Rating - CDR with the ADAM10 expression in two groups of elderly. 30 subjects with AD were compared with 25 matched controls by sex, age and education. All ethical considerations were observed. Individual evaluations were carried out and applied the CDR and MMSE, and then performed the collection of biological material of the elderly. The techniques SDS-PAGE and Western blotting were used to quantify the ADAM10 content in platelets. After collecting the data, they were analyzed using statistical methods of comparison, correlation, association, logistic regression and diagnostic accuracy. The results show that the ratio ADAM10/ β -actin was reduced in elderly patients with AD and that this reduction is intensified with the progression of the disease. MMSE and CDR have significant correlations with the values of ratio ADAM10/ β -actin, this being the only statistically significant variable ($p = 0.01$) to increase the probability of occurrence of AD. The cutoff value < 0.4212 in ROC curve captures 70% sensitivity and specificity of 80.77% for the presence of AD according to the ratio ADAM10/ β -actin. Therefore, the ratio ADAM10/ β -actin seems to be a relevant biomarker for AD. The results bring important contributions to an accurate diagnosis of Alzheimer's disease from the perspective of ADAM10 as a biomarker for this disease. The results are preliminary but encouraging.

Keywords: elderly, Alzheimer's disease, APP, ADAM10.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. August D. <i>The Lancet</i> , Fotografia de 1902.....	iii
Figura 2. Comparação entre cérebros de indivíduos normais e com DA. Em cérebros com DA verifica-se a atrofia cortical, aumento dos ventrículos, alargamento dos sulcos e giros. Extraído de Deziderio, 2008.....	32
Figura 3. Placas senis e emaranhados neurofibrilares no córtex cerebral na DA. Extraído de Blennow, Leon e Zetterberg, 2006.	33
Figura 4. Diagrama esquemático da estrutura das classes das ADAMs (A Disintegrin And Metalloprotease). Extraído de Fox e Serrano (2005).....	42
Figura 5. Estrutura em domínios de proteínas da família das ADAMs e sua inserção na membrana celular. Após a remoção do pró-domínio (em verde) por outras proteases ou por auto ativação, o domínio metalopeptidase torna-se ativo. Os outros domínios são: metalopeptidase ou catalítico (em branco), domínios desintegrina e rico em cisteína (em rosa), domínio transmembrana (em preto) e domínio citoplasmático (em amarelo). Extraído de Moss e Bartsch (2004).	42
Figura 6. Processamento da Proteína Precursora do Amilóide (APP). APP pode ser clivada pela α -secretase, que inibe a formação do A β , ou pela β -secretase (BACE1), levando à formação do A β . Extraído de Allison <i>et al.</i> , 2003.....	46
Figura 7. Processos de degradação da APP. Os dois processos proteolíticos são observados (setas largas). Extraído de Kawashima e Ihara, 2002.....	47
Figura 8. Clivagem da APP por α e β -secretases. A APP é clivada sequencialmente por β -secretases e γ -secretases para gerar peptídeo A β . A formação do peptídeo A β (via amiloidogênica) é prevenida pelas α -secretases (via não amiloidogênica), as quais têm sido identificadas como ADAM9, 10 e 17. Extraído de Cole e Vassar (2007).	48
Figura 9. Formação das placas β -amilóides a partir da proteína precursora do amilóide (APP). Extraído de Roggers (2008).....	48
Figura 10. Organograma da metodologia de busca utilizada para os pacientes cadastrados no Programa de Medicamento Excepcional do município de São Carlos/SP em Setembro de 2010. CEME (Centro Municipal de Especialidades); PME (Programa de Medicamento Excepcional). São Carlos, 2012.....	65
Figura 11. Organograma da metodologia de busca utilizada para descrever as características dos pacientes cadastrados no CEME. DV (demência vascular); DP (doença de Parkinson), AAS (ácido acetilsalicílico); CEME (Centro Municipal de Especialidades); DA (doença de Alzheimer); PME (Programa de Medicamento Excepcional). São Carlos, 2012	66

- Figura 12.** Organograma da metodologia de busca utilizada para os pacientes com DA cadastrados na USE. DP (doença de Parkinson), AAS (ácido acetilsalicílico); DA (doença de Alzheimer); CCL (Comprometimento cognitivo leve); SNC (Sistema Nervoso Central); USE (Unidade Saúde Escola). São Carlos, 2012. 68
- Figura 13.** Fluxograma dos procedimentos implementados na análise estatística. São Carlos, 2012. 74
- Figura 14.** Distribuição geográfica dos idosos da pesquisa (Grupo DA em vermelho e Grupo Controle em verde). São Carlos, 2012. 79
- Figura 15.** As plaquetas dos sujeitos pertencentes ao Grupo Controle (C) e dos sujeitos com DA, classificados como CDR1, foram coletadas, lisadas e o conteúdo proteico foi aplicado em gel de poliacrilamida (10%). As proteínas foram transferidas para membrana de nitrocelulose e incubadas com anticorpo anti-ADAM10 ou anti- β -actina. A revelação das bandas foi realizada utilizando o *kit Amplified Opti-4CN Substrate* (BioRad). As membranas foram escaneadas e a imagem das bandas específicas para a banda da ADAM10 e β -actina estão apresentadas nesta figura. São Carlos, 2012. 83
- Figura 16.** As plaquetas dos sujeitos pertencentes ao Grupo Controle (C) e dos sujeitos com DA, classificados como CDR1, foram coletadas, lisadas e o conteúdo proteico foi aplicado em gel de poliacrilamida (10%). As proteínas foram transferidas para membrana de nitrocelulose e incubadas com anticorpo anti-ADAM10 ou anti- β -actina. A revelação das bandas foi realizada utilizando o *kit Amplified Opti-4CN Substrate* (BioRad). As membranas foram escaneadas e a imagem das bandas específicas para a banda da ADAM10 e β -actina estão apresentadas nesta figura. São Carlos, 2012. 84
- Figura 17.** As plaquetas dos sujeitos pertencentes ao Grupo Controle (C) e dos sujeitos com DA, classificados como CDR1, foram coletadas, lisadas e o conteúdo proteico foi aplicado em gel de poliacrilamida (10%). As proteínas foram transferidas para membrana de nitrocelulose e incubadas com anticorpo anti-ADAM10 ou anti- β -actina. A revelação das bandas foi realizada utilizando o *kit Amplified Opti-4CN Substrate* (BioRad). As membranas foram escaneadas e a imagem das bandas específicas para a banda da ADAM10 e β -actina estão apresentadas nesta figura. São Carlos, 2012. 84
- Figura 18.** As plaquetas dos sujeitos pertencentes ao Grupo Controle (C) e dos sujeitos com DA, classificados como CDR2, foram coletadas, lisadas e o conteúdo proteico foi aplicado em gel de poliacrilamida (10%). As proteínas foram transferidas para membrana de nitrocelulose e incubadas com anticorpo anti-ADAM10 ou anti- β -actina. A revelação das bandas foi realizada utilizando o *kit Amplified Opti-4CN Substrate* (BioRad). As membranas foram escaneadas e a imagem das bandas específicas para a banda da ADAM10 e β -actina estão apresentadas nesta figura. São Carlos, 2012. 85
- Figura 19.** As plaquetas dos sujeitos pertencentes ao Grupo Controle (C) e dos sujeitos com DA, classificados como CDR2, foram coletadas, lisadas e o conteúdo proteico foi aplicado em gel de poliacrilamida (10%). As proteínas foram transferidas para membrana de nitrocelulose

e incubadas com anticorpo anti-ADAM10 ou anti- β -actina. A revelação das bandas foi realizada utilizando o *kit Amplified Opti-4CN Substrate* (BioRad). As membranas foram escaneadas e a imagem das bandas específicas para a banda da ADAM10 e β -actina estão apresentadas nesta figura. São Carlos, 2012..... 85

Figura 20. As plaquetas dos sujeitos pertencentes ao Grupo Controle (C) e dos sujeitos com DA, classificados como CDR2 e CDR3, foram coletadas, lisadas e o conteúdo proteico foi aplicado em gel de poliacrilamida (10%). As proteínas foram transferidas para membrana de nitrocelulose e incubadas com anticorpo anti-ADAM10 ou anti- β -actina. A revelação das bandas foi realizada utilizando o *kit Amplified Opti-4CN Substrate* (BioRad). As membranas foram escaneadas e a imagem das bandas específicas para a banda da ADAM10 e β -actina estão apresentadas nesta figura. São Carlos, 2012. 86

Figura 21. As plaquetas dos sujeitos pertencentes ao Grupo Controle (C) e dos sujeitos com DA, classificados como CDR3, foram coletadas, lisadas e o conteúdo proteico foi aplicado em gel de poliacrilamida (10%). As proteínas foram transferidas para membrana de nitrocelulose e incubadas com anticorpo anti-ADAM10 ou anti- β -actina. A revelação das bandas foi realizada utilizando o *kit Amplified Opti-4CN Substrate* (BioRad). As membranas foram escaneadas e a imagem das bandas específicas para a banda da ADAM10 e β -actina estão apresentadas nesta figura. São Carlos, 2012..... 86

Figura 22. As plaquetas dos sujeitos pertencentes ao Grupo Controle (C) e dos sujeitos com DA, classificados como CDR3, foram coletadas, lisadas e o conteúdo proteico foi aplicado em gel de poliacrilamida (10%). As proteínas foram transferidas para membrana de nitrocelulose e incubadas com anticorpo anti-ADAM10 ou anti- β -actina. A revelação das bandas foi realizada utilizando o *kit Amplified Opti-4CN Substrate* (BioRad). As membranas foram escaneadas e a imagem das bandas específicas para a banda da ADAM10 e β -actina estão apresentadas nesta figura. São Carlos, 2012..... 87

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1.** Crescimento mundial do número de pessoas com demência em países de baixo, médio e elevado rendimento. Fonte: ADI, 2010. 26
- Gráfico 2.** Custo Global Direto e Indireto em 2005 para demências, em países de elevado rendimento (HIC) e países de baixo e médio rendimento (LAMIC). Fonte: ADI, 2009. 28
- Gráfico 3.** Relação entre os esforços de investigação com contribuições para mortalidade e incapacidade. AVC = AVE. Fonte: ADI, 2009. 29
- Gráfico 4.** Causas da demência de início tardio (> ou = 65 anos). AD: doença de Alzheimer; VaD: demência vascular. Extraído de Lobo *et al.*, 2000. 30
- Gráfico 5.** Causas de demência de início precoce (< 65 anos). Extraído de Harvey *et al.*, 2003. 31
- Gráfico 6.** Distribuição do número de idosos com doença de Alzheimer segundo o CDR. São Carlos, 2012. 81
- Gráfico 7.** Box-Plot da razão ADAM10/ β -actina para os grupos Controle e DA (CDR1, CDR2 e CDR3). Teste estatístico U de Mann-Whitney (**** $p < 0,0001$) e teste t de student (**** $p < 0,0001$). São Carlos, 2012. 89
- Gráfico 8.** Associação linear entre as variáveis razão ADAM10/ β -actina vs razão MEEM para o Grupo DA (n = 30). São Carlos, 2012. 95
- Gráfico 9.** Box-Plot da razão ADAM10/ β -actina para os grupos DA (CDR1 vs CDR2 vs CDR3). O teste estatístico utilizado foi o de Mann Whitney (CDR1 vs CDR2 **** $p = 0,0001$; CDR1 vs CDR3 **** $p < 0,0001$; CDR2 vs CDR3 ** $p = 0,0049$). São Carlos, 2012. 98
- Gráfico 10.** Representação da média da razão ADAM10/ β -actina no Grupo Controle (C), DA muito leve (vmAD) e DA leve (mAD). Extraído de Colciaghi *et al.* (2004). 99
- Gráfico 11.** Curva ROC referente aos valores de Especificidade e Sensibilidade da razão ADAM10/ β -actina. São Carlos, 2012. 103

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. População total acima de 60 anos, estimativa bruta da prevalência de demência (2010), número estimado de pessoas com demência (2010, 2030 e 2050) e aumentos proporcionais (2010-2030 e 2010-2050) por região do mundo. Fonte: ADI, 2010.	27
Tabela 2. ADAMs humanas. Extraído e modificado de Seals e Courtneidge (2003).	44
Tabela 3. Notas de corte no MEEM de acordo com o nível de escolaridade. Nitrini <i>et al.</i> , 2005.	52
Tabela 4. Critérios de exclusão estabelecidos para a pesquisa.	63
Tabela 5. Dados socioeconômicos gerais dos sujeitos do Grupo DA e Grupo Controle. São Carlos, 2012.	76
Tabela 6. Pontuação obtida pelos idosos com DA e Controles no CDR e MEEM. São Carlos, 2012.	82
Tabela 7. Valores do KS Teste para as variáveis ADAM10 bruta, razão ADAM10/ β -actina, MEEM bruto e razão MEEM, para os Grupos DA e Controle. São Carlos, 2012.	88
Tabela 8. Análise descritiva e comparativa das variáveis numéricas para o total da amostra (Controles e DA – CDR 1, 2 e 3). São Carlos, 2012.	89
Tabela 9. Análise descritiva e comparativa das variáveis numéricas entre os Controles e DA – CDR1. São Carlos, 2012.	92
Tabela 10. Análise descritiva e comparativa das variáveis numéricas entre os Controles e DA – CDR2. São Carlos, 2012.	92
Tabela 11. Análise descritiva e comparativa das variáveis numéricas entre os Controles e DA – CDR3. São Carlos, 2012.	93
Tabela 12. Análise das correlações entre as variáveis numéricas (MEEM bruto/ razão MEEM vs ADAM10 bruta e MEEM bruto/ razão MEEM vs razão ADAM10/ β -actina), para o total da amostra (Controles n = 25 e DA – CDR1,2 e 3 n = 30). São Carlos, 2012.	94
Tabela 13. Análise das correlações entre as variáveis numéricas (MEEM bruto/ razão MEEM vs ADAM10 bruta e MEEM bruto/ razão MEEM vs razão ADAM10/ β -actina), para o total da amostra (Controles n = 25 e DA – CDR1, 2 e 3 n = 30). São Carlos, 2012.	94
Tabela 14. Análise descritiva e comparativa das variáveis numéricas entre os grupos de CDR1 vs CDR2. São Carlos, 2012.	96
Tabela 15. Análise descritiva e comparativa das variáveis numéricas entre os grupos de CDR1 vs CDR3. São Carlos, 2012.	97

Tabela 16. Análise descritiva e comparativa das variáveis numéricas entre os grupos de CDR2 vs CDR3. São Carlos, 2012.....	97
Tabela 17. Regressão Logística Ordenada entre a variável CDR (qualitativa) em função da razão da ADAM10/ β -actina. São Carlos, 2012.....	99
Tabela 18. Regressão por mínimos quadrados ordinários (MQO) entre a variável razão MEEM (numérica contínua) em função da razão da ADAM10/ β -actina. São Carlos, 2012.	100
Tabela 19. Regressão Logística entre a variável Presença da DA em função do sexo, escolaridade, idade e razão ADAM10/ β -actina. São Carlos, 2012.	101
Tabela 20. Valores da Especificidade e Sensibilidade da razão ADAM10/ β -actina para diferentes pontos de corte. São Carlos, 2012.	102

LISTA DE ABREVIATURAS

ABVD – Atividade Básica de Vida Diária
 ACE-R - Addenbrooke's Cognitive Examination-Revised
 ADAM – A Disintegrin And Metallopeptidase
 ADAS-COG - Alzheimer's Disease Assessment Scale – cognitive subscale
 ADI - Alzheimer's Disease International
 ADL-Q - Activities of Daily Living Questionnaire
 AIVD – Atividade Instrumental de Vida Diária
 ALA – Alanina
 AL – América Latina
 ANCC – Ambulatório de Neurologia Cognitiva e Comportamental
 APH-1 – Anterior pharynx-defective 1
 APOE – Apolipoproteína E
 APP – Proteína Precursora do Amilóide
 APS – American Psychiatric Association
 AVE – Acidente Vascular Encefálico
 A β – β -amilóide
 BACE - Enzima clivadora do sítio β da APP
 B-ADL - Bayer Activities of Daily Living Scale
 BBRC - Bateria Breve de Rastreo Cognitivo
 BSA – soroalbumina bovina
 CAMCOG-R - Cambridge Cognitive Examination-Revised
 CAMDEX-R - Cambridge Examination for Mental Disorders of the Elderly-Revised Version
 CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
 CASI-S - Cognitive Abilities Screening Instrument-Short Form
 CCBS – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
 CCL – Comprometimento Cognitivo Leve
 CCL-a - Comprometimento Cognitivo Leve Amnésico
 CCL-amd - Comprometimento Cognitivo Leve Amnésico de Múltiplos Domínios
 CCL-namd - Comprometimento Cognitivo Leve Não Amnésico de Múltiplos Domínios
 CCL-naud - Comprometimento Cognitivo Leve Não Amnésico de Único Domínio
 CDR – Clinical Dementia Rating
 CEME – Centro Municipal de Especialidades
 CERAD - Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease
 CNPq – Conselho Nacional de desenvolvimento científico e tecnológico
 COIC – Centro de orientação ao idoso e seu cuidador
 CORNELL - Cornell Scale for Depression in Dementia
 DA – Doença de Alzheimer
 DAD - Disability Assessment for Dementia
 DAF – Doença de Alzheimer familiar
 DAFS-R - Direct Assessment of Functional Status-Revised
 DCF – Departamento de Ciências Fisiológicas
 DCNTs – Doenças crônicas não transmissíveis
 DIA – Diabetes
 DMed – Departamento de Medicina
 DPsic – Departamento de Psicologia
 DRS – Departamento Regional de Saúde
 DSM-IV – Manual diagnóstico e estatístico de doenças mentais

DST – Doença sexualmente transmissível
DV – Demência Vascular
EEG – Eletroencefalograma
EGF-like – Epidermal growth factor
FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FDG-PET/MR – Tomografia por emissão de pósitrons, tendo como marcador o Fluordeoxiglicose
FINEP- Financiadora de estudos e projetos
HA – Hipertensão Arterial
HIC – Países de elevado rendimento
HIP – Hipotireoidismo
HIV – Vírus da imunodeficiência humana
IACHes – Inibidores da Acetilcolinesterase
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ILE – Isoleucina
IQCODE - Informant Questionnaire on Cognitive Decline in the Elderly
KS – Teste Kolmogorov-Smirnov
LAMIC – Países de baixo e médio rendimento
LBBM – Laboratório de bioquímica e biologia molecular
LCR – Líquido cefalorraqueano
LEU - Leucina
LYS – Lisina
MDCs- Metalloprotease/Disintegrin/Cystein-rich
MDRS - Mattis Dementia Rating Scale
MEC – Matriz extra celular
MEEM – Mini-Exame do Estado Mental
MMPs – Metalopeptidases de matriz
MQO – Mínimos quadrados ordinários
NINCDS-ADRDA – National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer’s Disease and Related Disorders Association
NPI - Neuropsychiatric Inventory
PBS – Tampão fosfato salino
PEN-2 – Presenilin enhancer 2
PET – Tomografia por emissão de pósitrons
PMA - Phorbol myristate acetate
PME - Programa de Medicamento Excepcional
PPGEnf – Programa de Pós-Graduação em Enfermagem
PRP – Plasma rico em plaqueta
PSEN-1/PSEN-2 – Presinilina 1/ Presinilina 2
P-TAU – Proteína Tau fosforilada
QI – Coeficiente de inteligência
RAVLT - Rey Auditory Verbal Learning Test
RM - Ressonância magnética
ROC – Receiver Operating characteristic
RPM – Rotações por minuto
SDS-PAGE – Sodium dodecyl sulfate poliacrilamide gel electrophoresis
SNC – Sistema nervoso central
SPECT - Tomografia computadorizada por emissão de fóton único
TACE – Enzima conversora de TNF α
TC – Tomografia computadorizada

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TDR - Teste do Desenho do Relógio
TGF α – Fator α de crescimento transformante
TNF α – Fator α de necrose tumoral
TSH – Hormônio estimulante da tireoide
UFSCar – Universidade Federal de São Carlos
USE – Unidade Saúde Escola
USF – Unidade de Saúde da Família
UW – Universidade de Washington
VAL – Valina
VCAM – Molécula de adesão celular vascular
WAIS-III - Bateria Wechsler Adult Intelligence Scale III

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	viii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE GRÁFICOS.....	xiii
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xvi
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
1. PROBLEMA DE PESQUISA	22
2. INTRODUÇÃO	24
2.1 Envelhecimento populacional e a doença de Alzheimer	24
2.2 ADAMs e a doença de Alzheimer	41
2.3 Mini-Exame do Estado Mental, <i>Clinical Dementia Rating</i> e doença de Alzheimer	51
3. OBJETIVO GERAL	56
3.1. Objetivos Específicos.....	56
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	58
4.1 Unidades de Referência e Contra-Referência	59
Unidades de Saúde da Família (USFs).....	59
Unidade Saúde Escola (USE).....	59
Centro Municipal de Especialidades – CEME	60
4.2 Participantes	62
4.3 Critérios de Inclusão e Exclusão	62
Critérios de Inclusão dos sujeitos para o Grupo DA	62
Critérios de Inclusão dos sujeitos para o Grupo Controle.....	63
4.4 Métodos de Seleção dos Participantes para as Amostras.....	64
Seleção dos Participantes do CEME	64
Seleção dos Participantes da USE.....	67
4.5 Procedimentos para a coleta de dados	69
Aplicação do Mini-Exame do Estado Mental e Coleta do Material Biológico.....	70
4.6 Instrumentos.....	70
4.7 Procedimentos Laboratoriais	71
Processamento do sangue e preparação das plaquetas	71
SDS-PAGE e <i>Western Blotting</i>	72

Densitometria das bandas.....	73
4.8 Procedimentos para análise dos dados.....	74
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
5.1 Caracterização socioeconômica dos idosos	76
5.2 Desempenho no CDR e no MEEM pelos idosos do Grupo DA e Grupo Controle.....	81
5.3 Expressão da proteína ADAM10 nos idosos do Grupo DA e Grupo Controle	83
5.4 Comparação, Correlação e Associação entre o desempenho no MEEM e CDR com os níveis plaquetários da ADAM10 nos dois grupos de idosos	87
6. CONCLUSÕES.....	107
REFERÊNCIAS	110
ANEXOS	124
APÊNDICES	143



Esta fotografia foi tirada da Sr.^a Hagamima no seu 88º aniversário. A doença de Alzheimer não a impediu de reagir com grande emoção quando lhe cantaram os 'Parabéns a Você'. Fonte: Alzheimer's Disease International (ADI), 2010.

1. PROBLEMA DE PESQUISA

Associado ao envelhecimento, a morbidade torna-se de maior relevância do que a mortalidade, com aumento das doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs), as quais perduram por anos, com exigência de contínuos cuidados, medicações e exames (VERAS, 2009). No conjunto das enfermidades de maior prevalência entre os idosos, encontra-se a demência, sendo esta uma das principais causas de acometimento da qualidade de vida do idoso e de sua família (SCAZUFCA, 2004). A doença de Alzheimer (DA) destaca-se como uma das principais causas de demência em idosos (CUMMINGS, 2004; FLIER e SCHELTENS, 2005; JELLINGER, 2006), representando o maior número de ocorrências entre os casos diagnosticados, além de ser identificada para o futuro próximo como um expressivo problema de saúde pública.

As características patológicas do cérebro na DA incluem a atrofia cortical predominantemente no lobo temporal medial e, microscopicamente, perdas neuronais extensas e depósitos fibrilares anormais intra e extracelulares, denominados emaranhados neurofibrilares e placas senis, respectivamente (KAWASHIMA, 2002). A hipótese da cascata β -amilóide ($A\beta$) postula que as placas senis consistem da agregação de peptídeos $A\beta$ insolúveis gerados a partir de clivagens proteolíticas da proteína precursora do amilóide (APP) causando assim danos em regiões cerebrais e precipitando os sintomas da DA (TANG, 2008).

A clivagem proteolítica da APP pode ser direcionada para dois caminhos, o amiloidogênico e o não amiloidogênico. Atualmente, diferentes estudos indicam as ADAMs como participantes ativas do processo não amiloidogênico na DA. O termo ADAM é usado para descrever a presença de domínios desintegrina e metalopeptidase (*A Disintegrin And Metallopeptidase*). As ADAMs são proteínas de membrana tipo I da família metzincina e requerem um íon de zinco para a atividade proteolítica (LICHTENTHALER, 2011). Além destas proteínas, outras peptidases de membrana, como a BACE1 também podem estar envolvidas na clivagem da APP (NIKOLAEV *et al.*, 2009).

Na via amiloidogênica, a APP é clivada sequencialmente por β -secretases e γ -secretases para gerar peptídeos $A\beta$. A formação do peptídeo $A\beta$ é prevenida pelas α -secretases (via não amiloidogênica), as quais têm sido identificadas como ADAM9, 10 e 17 (LICHTENTHALER, 2011).

A ADAM10 é uma proteína de membrana do tipo I de aproximadamente 750 aminoácidos que apresenta expressão coordenada com a APP em cérebros humanos e que possui atividade de α -secretase (LICHTENTHALER, 2011).

As α -secretases clivam a APP dentro de uma sequência do peptídeo A β e, portanto, evitam a formação de peptídeo A β neurotóxico (HOOPER e TURNER, 2002). Na via de atuação da ADAM10 (não amiloidogênica), a APP é clivada entre Lisina16 (Lys-16) e Leucina17 (Leu-17) no meio da região do A β , deste modo, libera a sAPP α - uma estrutura que tem funções neurotrópica e neuroprotetora - e retém o resíduo C83 na membrana. A clivagem seguinte do C83 pela γ -secretase libera o p3 - que é supostamente benéfico e não é encontrado nas placas amilóides - com início na posição A β 17 (A β 17-40 e A β 17-42), inibindo assim a produção do A β amiloidogênico (KAWASHIMA, 2002). Sendo assim, a ADAM10 é a α -secretase primordial em neurônios primários e, portanto, nas células mais afetadas na DA (JORISSEN *et al.*, 2010; KUHN *et al.*, 2010). Desta forma, estratégias para aumentar a atividade das α -secretases são consideradas abordagens terapêuticas importantes para os pacientes com esta doença (HOOPER, TURNER, 2002; FAHRENHOLZ, 2007).

Entre os tecidos periféricos, as plaquetas apresentam os maiores níveis da expressão da APP (EVIN *et al.*, 2003). A adequação do uso de plaquetas está nas múltiplas semelhanças entre elas e as células neuronais. As plaquetas são capazes de produzir todos os fragmentos da APP encontrados nos neurônios. Isto indica que as plaquetas possuem atividades das α , β e γ -secretases e que assim como os neurônios, podem processar a APP pelos dois caminhos celulares.

Encontrando-se os mesmos produtos das secretases nas plaquetas e nos neurônios, reconhece-se, portanto que as plaquetas são facilmente acessíveis, se comparadas ao líquido, e potencialmente úteis como ferramenta clínica para monitorar os efeitos de novas terapias baseadas na inibição da β e γ -secretases e/ou ativação das α -secretases (EVIN *et al.*, 2003).

O cuidado a indivíduos com maior risco de demência (como é o caso de idosos) também deve incluir sempre a avaliação das funções cognitivas, como por exemplo, através do Mini-Exame do Estado Mental (MEEM) (FOLSTEIN, FOLSTEIN, MCHUGH, 1975) e do *Clinical Dementia Rating* (CDR).

Portanto, a associação dos níveis de biomarcadores moleculares, tais como os níveis plaquetários da proteína ADAM10 com testes de avaliação cognitiva, como o MEEM e o CDR seria de relevância muito maior, o que poderia convergir em um diagnóstico mais preciso da doença.

2. INTRODUÇÃO

2.1 Envelhecimento populacional e a doença de Alzheimer

O crescimento da população de idosos, em números absolutos e relativos, é um fenômeno mundial e está se desenvolvendo em um nível sem precedentes (ONU, 2002; FERREIRA e OLIVEIRA, 2005; IBGE 2009). No Brasil, a definição etária para idoso é a pessoa que tem 60 anos de idade ou mais (BRASIL, 2007), sendo que um país é considerado envelhecido quando sua população acima de 60 anos ultrapassa 7% da população absoluta.

O número de idosos no Brasil no ano de 1960 foi de três milhões, em 2008 esse dado alcançou a marca de 21 milhões – um aumento de quase 700% em menos de 50 anos (IBGE, 2009; Veras, 2009), e a estimativa para o ano de 2050 é que aproximadamente 20% da população total, 32 milhões de pessoas, apresentem 60 anos ou mais, colocando a nação como a sexta população de idosos no mundo em termos absolutos (BARRETO *et al.*, 2003; VERAS, 2009).

Segundo a síntese de indicadores sociais de 2009, a proporção de idosos aumentou de 8,8 para 11,1% entre o período de 1998-2008 (IBGE, 2009). Além do envelhecimento da população total, a proporção da população “mais idosa”, de 80 anos e mais, está aumentando também, alterando a composição etária dentro do próprio grupo, ou seja, a população idosa também está envelhecendo. A sua participação na população brasileira chegou a quase 70%, ou cerca de três milhões de pessoas (IBGE, 2009). Isto leva a uma heterogeneidade do segmento idoso que aumenta a demanda por cuidados de longa duração e requer pagamento de benefícios previdenciários e assistenciais por um período de tempo mais longo (IBGE, 2009). Estes dados poderão a partir de 2030, refletir no Brasil, em uma população “super envelhecida”, reproduzindo experiências de países da Europa Ocidental, além de Rússia e Japão.

Assim como o número ascendente de idosos no Brasil, a expectativa de vida dos idosos acompanha esta tendência. No ano de 1980 a expectativa de vida era de 62,5 anos, em 1997 esse valor alcançou a marca de 69,3 anos e em 2007 de 72,7 anos (IBGE, 2007). Além disso, a taxa de mortalidade foi reduzida de 6,6/1.000 habitantes para 6,23/1.000 nos últimos dez anos (IBGE, 2008), assim como a de fecundidade, que em 1998 era de 2,73 filhos por ano, contra 1,89 em 2008 (IBGE, 2009). Este declínio da mortalidade aliado à melhora da

qualidade de vida e à queda da taxa de fecundidade foi responsável pelo aumento considerável de indivíduos com mais de 60 anos (CRUZ, CAETANO, LEITE, 2010).

O envelhecimento é acompanhado pelas perdas nas funções normais do organismo, ocasionando desta forma o maior risco de doenças (FOSS, VALE, SPECIALI, 2005; CÂMARA, SANTARÉM, FILHO, 2008). A morbidade torna-se de maior relevância do que a mortalidade, com aumento das DCNTs, as quais perduram por anos, com exigência de contínuos cuidados, medicações e exames (ALVES, 2007; VERAS, 2009).

As DCNTs passaram a representar um problema de saúde global, assim como uma ameaça à saúde e ao desenvolvimento humano. Em 2007, 72% das mortes no Brasil foram atribuídas às DCNTs (doenças cardiovasculares, doenças respiratórias crônicas, diabetes, câncer e outras), 10% referentes às doenças infecciosas e parasitárias e 5% aos distúrbios materno-infantis. Esses dados contrastam com os verificados no início do século XX, quando a distribuição de doenças infecciosas e parasitárias correspondia a 46% das mortes. Essa transformação deve-se ao desenvolvimento social e econômico, com a resolução dos principais problemas de saúde pública vigentes na época (SCHMIDT *et al.*, 2011).

Concomitante a essa mudança na carga das doenças, modificações da estrutura demográfica produziram uma pirâmide etária com maior peso relativo para adultos e idosos, devido principalmente à acentuada queda da mortalidade, diminuição da fecundidade e aumento da expectativa de vida, resultando deste modo, no envelhecimento da população (WALDMAN, 2000).

No conjunto das enfermidades de maior prevalência entre os idosos, encontra-se a demência, sendo esta uma das principais causas de acometimento da qualidade de vida do idoso e de sua família (LEBRÃO, 2003; SCAZUFCA, 2004).

A demência é uma síndrome caracterizada pelo declínio progressivo da memória associado ao déficit de uma ou mais funções cognitivas (linguagem, gnosis, praxia, função executiva), de modo que seja suficientemente importante para interferir nas atividades sociais e ocupacionais do indivíduo (FROTA *et al.*, 2011; BOTTINO, LAKS, BLAY, 2006).

Em conjunto às alterações cognitivas, distúrbios emocionais e comportamentais podem ser observados nestes indivíduos, como alteração do humor, delírios, alucinações, insônia, agressividade física e verbal, entre outros (ARAÚJO e NICOLI, 2010).

Estudos mostram que a prevalência de demência aumenta com a idade (SANTOS e RIFIOTIS, 2003). Dados globais estimaram que em 2010 35,6 milhões de indivíduos seriam acometidos pela demência e que este número em 20 anos será duplicado, atingindo a marca de 65,7 milhões em 2030 e os 115,4 milhões em 2050 (ADI, 2010). Esta

tendência deve-se em grande parte ao aumento do número de pessoas com demência nos países de baixo e médio rendimento, como é apresentado no Gráfico 1. Para 2010 foi previsto que 57,7% de todas as pessoas com demência viviam em países de baixo e médio rendimento, aumentando para 63,4% em 2030 e para 70,5% em 2050. Segundo o relatório mundial da doença de Alzheimer 2010, esta relação econômica é devido à falta da sensibilização e percepção das pessoas e dos profissionais de saúde nos países menos favorecidos em identificar a demência como um problema de saúde.

O crescimento do número de pessoas com demência (em milhões) em países de elevado rendimento e de baixo e médio rendimento

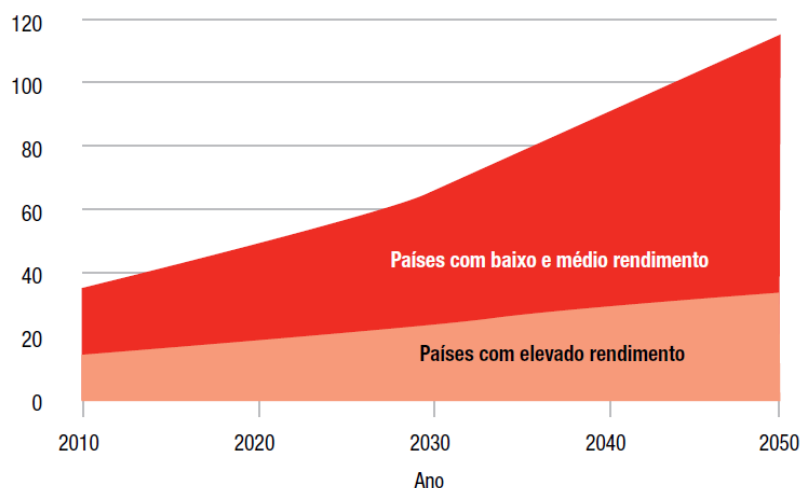


Gráfico 1. Crescimento mundial do número de pessoas com demência em países de baixo, médio e elevado rendimento. **Fonte:** ADI, 2010.

Nos próximos 20 anos, o percentual de pessoas com demência deverá crescer 40% na Europa, 63% na América do Norte, 77% no cone sul da América Latina e 89% nos países desenvolvidos da Ásia-Pacífico. Em comparação, esse aumento deverá ser 117% na Ásia Oriental, 107% no Sul da Ásia, 134-146% no resto da América Latina e 125% no Norte da África e no Médio Oriente, como é mostrado na Tabela 1.

Tabela 1. População total acima de 60 anos, estimativa bruta da prevalência de demência (2010), número estimado de pessoas com demência (2010, 2030 e 2050) e aumentos proporcionais (2010-2030 e 2010-2050) por região do mundo. **Fonte:** ADI, 2010.

População total acima dos 60, estimativa bruta da prevalência de demência (2010), número estimado de pessoas com demência (2010, 2030 e 2050) e aumentos proporcionais (2010-2030 e 2010-2050) por região do mundo GBD							
Região GBD	População acima dos 60 (milhões)	Estimativa bruta de prevalência (%)	Número de pessoas com demência (milhões)			Aumentos proporcionais (%)	
			2010	2030	2050	2010-2030	2010-2050
ÁSIA		3,9	15,94	33,04	60,92	107	282
Australásia	4,82	6,4	0,31	0,53	0,79	71	157
Ásia-Pacífico	46,63	6,1	2,83	5,36	7,03	89	148
Oceania	0,49	4,0	0,02	0,04	0,10	100	400
Ásia, Central	7,16	4,6	0,33	0,56	1,19	70	261
Ásia, Oriental	171,61	3,2	5,49	11,93	22,54	117	311
Ásia, Sul	124,61	3,6	4,48	9,31	18,12	108	304
Ásia, Sudeste	51,22	4,8	2,48	5,30	11,13	114	349
EUROPA	160,18	6,2	9,95	13,95	18,65	40	87
Europa, Ocidental	97,27	7,2	6,98	10,03	13,44	44	93
Europa, Central	23,61	4,7	1,10	1,57	2,10	43	91
Europa, Leste	39,30	4,8	1,87	2,36	3,10	26	66
AMÉRICAS	120,74	6,5	7,82	14,78	27,08	89	246
América do Norte	63,67	6,9	4,38	7,13	11,01	63	151
Caralbas	5,06	6,5	0,33	0,62	1,04	88	215
América Latina, Andes	4,51	5,6	0,25	0,59	1,29	136	416
América Latina, Central	19,54	6,1	1,19	2,79	6,37	134	435
América Latina, Sul	8,74	7,0	0,61	1,08	1,83	77	200
América Latina, Tropical	19,23	5,5	1,05	2,58	5,54	146	428
ÁFRICA	71,07	2,6	1,86	3,92	8,74	111	370
Norte de África / Médio Oriente	31,11	3,7	1,15	2,59	6,19	125	438
África Subsariana, Central	3,93	1,8	0,07	0,12	0,24	71	243
África Subsariana, Oriental	16,03	2,3	0,36	0,69	1,38	92	283
África Subsariana, Sul	4,66	2,1	0,10	0,17	0,20	70	100
África Subsariana, Ocidental	15,33	1,2	0,18	0,35	0,72	94	300
MUNDO	758,54	4,7	35,56	65,69	115,38	85	225

No Brasil as estimativas de prevalência de demência em idosos de 65 anos ou mais variam de 5,1% a 8,8%, 20% nas pessoas de mais de 80 anos, podendo chegar a 47% naqueles acima de 85 anos, dados similares aos verificados em países desenvolvidos. Segundo Schmidt *et al.* (2011), a mortalidade por demência no mundo aumentou de 1,8/100.000 em 1996 para 7,0/100.000 em 2007 e no Brasil o estudo de Nitrini *et al.* (2005) registrou valores de 5,6/100.000, dados estes que demonstram o enorme impacto que esta doença tem nas sociedades, podendo ser considerada uma epidemia que tende a crescer na população idosa de todo o mundo.

Em países desenvolvidos, como no Reino Unido o gasto público com demência é muito inferior em comparação a outras morbidades. O custo anual estimado do Serviço Nacional de Saúde do Reino Unido para tratar doença coronariana e hipertensão foi de US\$6,9 milhões, US\$3,7 milhões para acidente vascular encefálico (AVE), US\$3,4 milhões com o câncer e apenas US\$2,2 milhões no tratamento das demências (KNAPP e PRINCE, 2007). Um estudo Sueco estabeleceu o custo mundial da demência em 2005 e mostrou que

este valor alcançou a cifra de US\$315 milhões ao ano, dos quais 72% (US\$227 milhões) foram financiados por países de elevado rendimento e apenas 28% (US\$88 milhões) aos de baixo e médio. Da mesma forma, os custos com cuidados informais (família) foram observados com maior prevalência entre países menos favorecidos, 56% e 42% em países de baixo e médio rendimento respectivamente, e 31% em países de elevada renda. Isto se deve ao déficit em recursos formais e de assistência social encontrado nos países menos desenvolvidos (WIMO *et al.*, 2007). O Gráfico 2 ilustra estes dados.

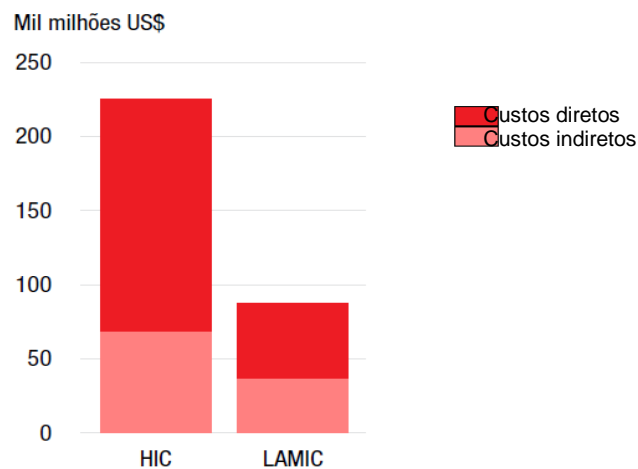


Gráfico 2. Custo Global Direto e Indireto em 2005 para demências, em países de elevado rendimento (HIC) e países de baixo e médio rendimento (LAMIC). **Fonte:** ADI, 2009.

Outro importante indicador da prioridade atribuída às DCNTs é verificado através do dispêndio de esforços de investigações científicas. Uma pesquisa da Pubmed/Medline analisou publicações dos últimos 10 anos e identificou que 701.876 eram relacionadas com o câncer, 476.487 com doenças cardiovasculares, 233.872 aos distúrbios mentais, 87.973 com AVE, 64.080 com artrite e 44.168 com demências. Por ser a demência uma doença que acarreta muito mais anos vividos com incapacidades em relação às demais morbidades, podemos verificar que existe claramente uma inversa relação entre as doenças que promovem anos vividos com incapacidades e o esforço investigativo das pesquisas. Ou seja, quanto mais incapacitante é a doença menos ela tem sido investigada. Por outro lado, uma forte correlação positiva é observada entre as doenças que contribuem para anos de vida perdidos e o esforço de investigação, ou seja, quanto maior a mortalidade da doença, mas ela tem sido investigada, como apresenta o Gráfico 3 (PRINCE *et al.*, 2008).

Relação do esforço de investigação (publicações nos últimos 10 anos) com contribuições para mortalidade (anos de vida perdidos) e incapacidade (anos vividos com incapacidade), relativo às seis principais doenças crónicas

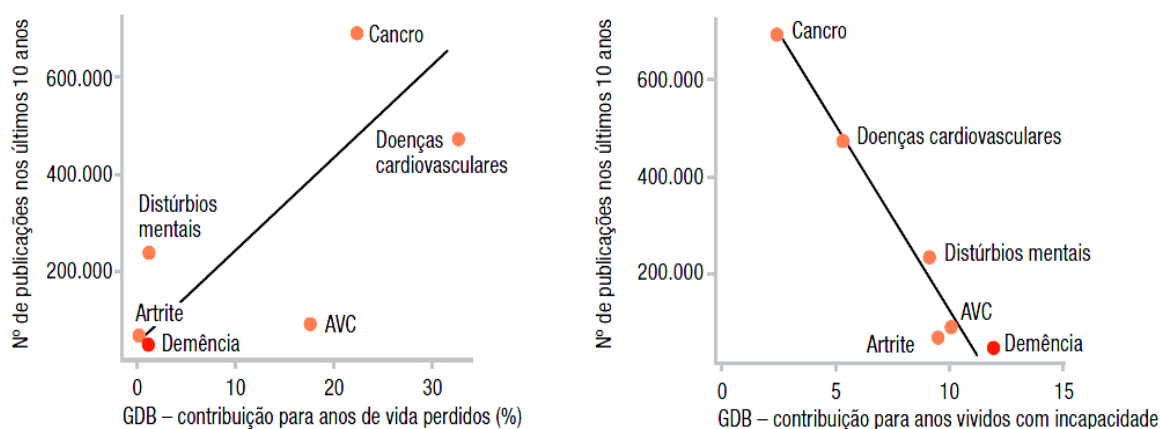


Gráfico 3. Relação entre os esforços de investigação com contribuições para mortalidade e incapacidade. AVC=AVE. **Fonte:** ADI, 2009.

A DA destaca-se como uma das principais causas de demência em idosos (CUMMINGS, 2004; FLIER e SCHELTENS, 2005; JELLINGER, 2006), representando o maior número de ocorrências entre os casos diagnosticados, além de ser identificada para o futuro próximo como um expressivo problema de saúde pública.

A DA é uma doença crônica não transmissível, neurodegenerativa e progressiva, caracterizada pela deterioração das funções cognitivas e da memória, prejuízo das atividades de vida diária, e uma série de sintomas neuropsiquiátricos e distúrbios comportamentais, sendo a causa mais comum de demência em indivíduos acima de 65 anos (KAWASHIMA, 2002; CUMMINGS, 2004; BOTTINO, LAKS, BLAY, 2006; TANG, 2008). Na DA, as alterações de memória são as primeiras e principais queixas dos pacientes e familiares (ÁVILA e MIOTTO, 2002). Segundo Davis *et al.* (2001) e Irvine *et al.* (2008), a idade é um relevante fator de risco visto que esta doença afeta aproximadamente de 5 a 10% da população com idade de 65 anos e 50% daqueles acima de 85 anos. A DA é uma patologia cerebral e não decorrente do envelhecimento normal do indivíduo, sendo sua causa assim como sua cura, ainda desconhecidas.

Nas últimas décadas, a DA tem saído da obscuridade de uma doença rara, para ser considerada como o principal problema de saúde pública entre idosos, mundialmente (ROGGERS, 2008). É uma doença de grande impacto socioeconômico que acomete aproximadamente 2% da população em países industrializados (THOMAS *et al.*, 2008). As estimativas epidemiológicas atuais da DA apontam que mais de 24 milhões de pessoas no mundo são acometidas por esta doença, com 4,6 milhões de casos novos ao ano (IRVINE *et*

al., 2008). Devido ao desenvolvimento demográfico mundial, é previsto para 2030 um aumento no número de casos para 63 milhões de pessoas com DA.

Estudos por todo o mundo corroboram com estes números e acrescentam a relevante prevalência da DA sobre os demais tipos de demências, como pode ser visualizado no Gráfico 4.

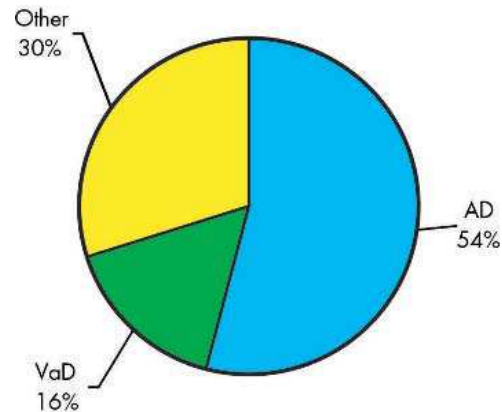


Gráfico 4. Causas da demência de início tardio (> ou = 65 anos). AD: doença de Alzheimer; VaD: demência vascular. Extraído de Lobo *et al.*, 2000.

A unanimidade é de que, ao menos que a doença possa ser efetivamente tratada ou prevenida, os números irão aumentar significativamente, dado o fenômeno de envelhecimento populacional presente atualmente no mundo (ROGGERS, 2008).

Os fatores genéticos estão envolvidos em uma minoria dos casos, de 5% a 10%. Nestes pacientes o início da doença, conhecida como DA familiar (DAF) é precoce, acometendo adultos na faixa etária entre 40 e 60 anos. O estudo de Harvey *et al.* (2003) demonstra as principais causas de demência em indivíduos com idade inferior a 65 anos, de modo que a DA é vista também como o fator predominante (Gráfico 5).

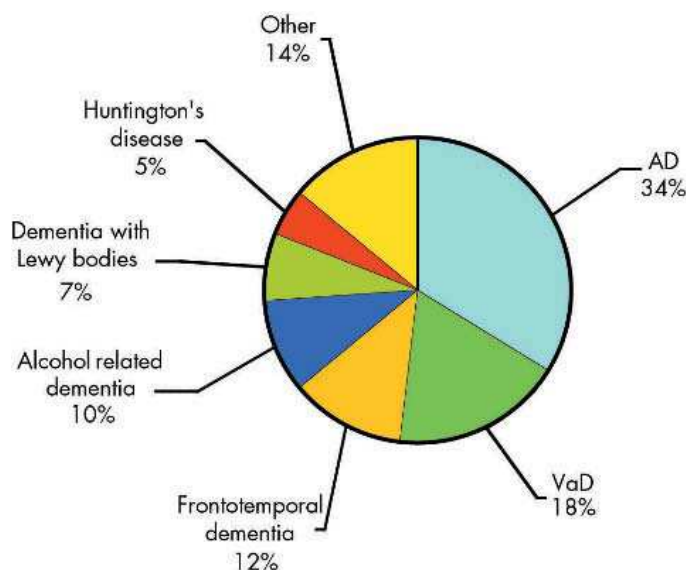


Gráfico 5. Causas de demência de início precoce (< 65 anos). Extraído de Harvey *et al.*, 2003.

Na DAF, mutações nos três genes – proteína precursora do amilóide (APP), presinilina 1 (PSEN1) e presinilina 2 (PSEN2) - têm sido observadas (WOLF e GUÉNETTE, 2007; WANDAU e SHETTY, 2008). Ressalta-se que as três mutações juntas representam aproximadamente 50% dos casos de DAF.

Os pacientes com início tardio da doença (acima de 65 anos) são chamados de casos esporádicos e os mecanismos patogênicos moleculares são dificilmente identificados. Destaca-se nestes casos o papel dos polimorfismos da apolipoproteína E (APOE), no qual o genótipo ϵ -4 relaciona-se ao risco de desenvolvimento da doença e o ϵ -2 à sua proteção (CORDER *et al.*, 1998). A idade, como mencionado anteriormente, é até o momento o principal fator de risco para DA. Alguns estudos ainda mostram constantemente o sexo feminino associado a um maior risco para DA, especialmente em idades mais avançadas (FLIER e SCHELTENS, 2005) e outros ainda enfatizam o baixo nível de escolaridade como um significativo fator que predispõe a doença (RITCHIE *et al.*, 2001; ALLEGRI *et al.*, 2010). Outros fatores de risco para a DA incluem os genéticos, com envolvimento do alelo APOE ϵ 4, e os vasculares, como hipertensão, diabetes mellitus, tabagismo e doenças cardíacas, situações estas que podem apresentar associação com a DA (BRETELER, 2000).

Por outro lado, um importante efeito protetor tem sido investigado atualmente, a reserva cognitiva. É a hipótese que o cérebro maduro é capaz de resistir aos efeitos da doença ou lesão que podem causar a demência clínica. Stern (2002) propôs que componentes passivos e ativos estão envolvidos neste processo. Os componentes ativos abrangem o elevado nível educacional e atividades/ocupações mais complexas, enquanto os componentes

passivos compreendem estruturas cerebrais envolvidas na recuperação da memória, resolução de problemas e no quociente de inteligência (Q.I.). A reserva cognitiva é a capacidade de otimizar o desempenho mental através do recrutamento diferencial das redes neurais, o que reflete na utilização de estratégias alternativas (ALLEGRI *et al.*, 2010).

As características patológicas do cérebro na DA incluem a atrofia cortical (Figura 2), predominantemente no lobo temporal medial e, microscopicamente, perdas neuronais extensas e depósitos fibrilares anormais intra e extracelulares, denominados emaranhados neurofibrilares e placas senis, respectivamente (KAWASHIMA, 2002).

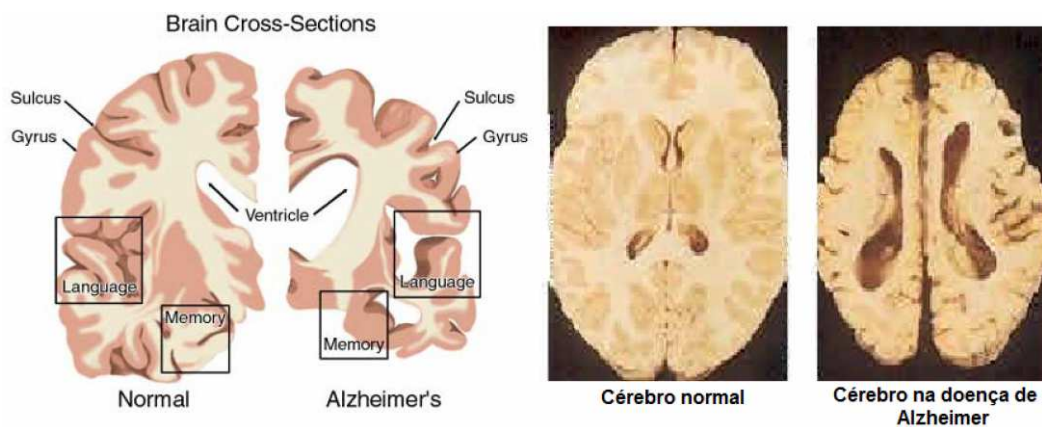


Figura 2. Comparação entre cérebros de indivíduos normais e com DA. Em cérebros com DA verifica-se a atrofia cortical, aumento dos ventrículos, alargamento dos sulcos e giros. Extraído de Deziderio, 2008.

A DA apresenta como principal característica patogênica a deposição excessiva do peptídeo A β no cérebro. A hipótese da cascata A β postula que a placa de amilóide extracelular consiste da agregação de peptídeos A β insolúveis gerados a partir de clivagens proteolíticas da APP causando assim danos em regiões cerebrais e precipitando os sintomas da DA (TANG, 2008).

O A β forma placas difusas ou imaturas *in vivo*, no entanto, essas placas não são suficientes para causar demência. A demência se expressa quando estas placas progridem para placas senis ou neuríticas, as quais contêm outras substâncias além do A β , como proteínas sinápticas e inflamatórias, fibrilas neuríticas, células gliais e outros componentes. As placas senis, portanto, são formações de inúmeras proteínas e restos celulares com um núcleo central de A β (JELLINGER, 2006). O hipocampo é a primeira estrutura acometida pelas placas senis, seguido pela substância cinzenta do neocórtex e subcortical dos lobos temporais, parietais, frontais e occipitais, sendo os núcleos subcorticais atingidos mais tardiamente. Estas porções acometidas estão intimamente relacionadas com os prejuízos

cognitivos, de modo que explica o sinal clínico mais precoce da doença: a perda da memória anterógrada/recente (MESULAM, 2006).

As placas difusas são observadas em cérebros de um limitado número de doenças, incluindo a DA, e parecem ser mais específicas e presentes do que os emaranhados neurofibrilares. No entanto, elas também podem ser observadas na maioria dos cérebros de idosos não demenciados. Assim, o A β acumula-se em sua fração insolúvel no cérebro de humanos normais (não demenciados) durante o envelhecimento (KAWASHIMA, 2002), mas em uma concentração não crítica a ponto de induzir uma extensiva deposição e a formação de placas senis, como é observado em pacientes com DA (EVIN *et al.*, 2003).

O segundo marco patológico de relação direta com os estágios da DA são os emaranhados neurofibrilares, que surgem no meio intracelular dos neurônios e são formados a partir da proteína Tau em associação com microtúbulos. A Tau é de grande importância para a manutenção estrutural e funcional do citoesqueleto dos axônios neuronais (ZHU *et al.*, 2004). Na DA, a Tau sofre o processo da hiperfosforilação, de modo que ocorre sua dissociação dos microtúbulos e em sua agregação nos emaranhados intraneuronais compostos de filamentos helicoidais pareados, induzindo o colapso da estrutura neuronal (MESULAM, 2006). A Figura 3 ilustra os dois principais achados patológicos na DA (as placas senis e os emaranhados neurofibrilares).

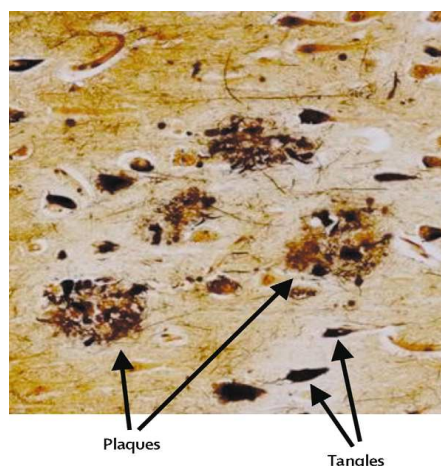


Figura 3. Placas senis e emaranhados neurofibrilares no córtex cerebral na DA. Extraído de Blennow, Leon e Zetterberg, 2006.

Além da perda de neurônios, vários neurotransmissores específicos também são acometidos progressivamente. Entre eles, a acetilcolina é o composto de maior deterioração precoce devido à maioria dos neurônios colinérgicos terem origem no núcleo basal de Meynert na porção anterior do cérebro, uma estrutura afetada precocemente na DA.

Este achado ressalta a hipótese colinérgica, segundo a qual os déficits de acetilcolina levam ao prejuízo cognitivo (TANG, 2008).

A demência na DA é usualmente precedida de um estágio de declínio cognitivo, particularmente com amnésia. Este estágio pré-clínico da DA tem sido conceitualizado como Comprometimento Cognitivo Leve (CCL) e tem ganhado muita atenção como um alvo ideal para a prevenção e intervenções precoces (TANG, 2008).

Para a detecção precoce de demência recomenda-se o diagnóstico de CCL (PETERSEN *et al.*, 2001). O CCL refere-se à zona de transição entre o envelhecimento normal e os estágios mais iniciais da demência, principalmente a DA. Os pacientes em CCL apresentam queixas de memória, maior declínio cognitivo em relação ao esperado para sua faixa etária e grau de escolaridade, mas sem a presença de dificuldades ou déficits funcionais, sendo assim, não há subsídios para o diagnóstico de demência (GAINOTTI *et al.*, 2008).

Atualmente, quatro subtipos de CCL têm sido caracterizados: o CCL amnésico puro (CCL-a), onde apenas a memória episódica está comprometida; CCL amnésico de múltiplos domínios (CCL-amd), no qual além da memória há déficits também em outros domínios cognitivos; CCL não amnésico de único domínio (CCL-naud) no qual outro domínio, que não a memória, está prejudicado e CCL não amnésico de múltiplos domínios (CCL-namd), onde dois ou mais domínios cognitivos, que não a memória estão comprometidos (FISCHER *et al.*, 2007). Estudos sugerem que o CCL-a e CCL-amd são fatores de risco para DA (DINIZ *et al.*, 2009). Apesar de alguns estudos mostrarem que a taxa de conversão de CCL-a para DA é de aproximadamente 10 a 15% ao ano (PETERSEN *et al.*, 2001; LEHRNER *et al.*, 2005), outros trabalhos se mostram mais cautelosos. Isso devido aos critérios diagnósticos que formam grupos muito heterogêneos de idosos, muitos dos quais permanecem com seus déficits estáveis ou até mesmo retornam a níveis cognitivos normais (NORDLUND *et al.*, 2008).

As características clínicas da DA são o comprometimento da memória episódica, deterioração da linguagem, e déficits visuoespaciais. As deficiências motoras e sensoriais e os distúrbios da marcha são incomuns até o início da fase mais avançada da doença (CUMMINGS, 2004).

Por ser uma doença progressiva, a DA pode ser classificada em três fases de acordo com o grau de comprometimento cognitivo e funcional: DA inicial/leve, intermediária/moderada e final/grave. Na fase leve, são observados pequenos esquecimentos, dificuldade de memorização, atenção e concentração, assim como distúrbios visuoespaciais, sintomas depressivos ou agitação, negligência com a aparência, perda sutil de autonomia para

as atividades básicas de vida diária (ABVDs) e atividades instrumentais de vida diária (AIVDs), desorientação temporal e espacial, perda da iniciativa e alterações de personalidade e julgamento crítico. Na fase moderada, verificam-se problemas no reconhecimento de pessoas, aprendizado comprometido, lembranças remotas muito presentes, perambulação, comportamento inadequado, incontинências urinária e fecal, agressividade e irritabilidade.

O último estágio da doença, a fase grave, é marcado pela total dependência do idoso pelo seu cuidador, dado a dificuldade de deglutição, mutismo, restrição ao leito, perda de peso, necessidade de auxílios para a alimentação e higiene, além de importantes variações de humor (INOUYE e OLIVEIRA, 2003).

Atualmente, os tratamentos farmacológicos disponíveis para a DA são apenas de ordem sintomática, de modo que até os dias de hoje não há terapias específicas. Dentre as medicações para a DA, temos a classe dos inibidores da acetilcolinesterase (IChEs), que atualmente é formada pela Donepezila, Rivastigmina e Galantamina. Essas medicações foram aprovadas para as fases leves e moderadas e devem ser administradas com um aumento progressivo da dosagem até seu limite máximo, pois apesar de seus efeitos colaterais serem raros estes podem se apresentar em forma de vômito e diarreia persistentes. Os IChEs podem auxiliar os pacientes afetados a manter suas habilidades de vida diária e terem menos alterações comportamentais, de modo que a sobrecarga do cuidado torna-se reduzida e adia o estabelecimento do idoso em instituições de longa permanência (CUMMINGS, 2004).

Outra medicação em uso é a Memantina, um antagonista do receptor de N-metil-d-aspartato do glutamato, empregada nas fases mais avançadas da doença, que age interferindo na excitotoxicidade glutamatérgica e pode prover uma melhora sintomática através de efeitos na função dos neurônios hipocampais (CUMMINGS, 2004). Entretanto, estudos relatam que o uso da Memantina concomitante com os IChEs concede aos pacientes uma melhora na cognição, redução do declínio das atividades de vida diária e redução da frequência de novos sintomas comportamentais (TARIOT *et al.*, 2004).

Para Cummings (2004), o tratamento da DA deve ser formado por cinco componentes principais: estratégias neuroprotetoras, inibidores da acetilcolinesterase, intervenções não farmacológicas, apoio aos familiares/cuidadores e agentes psicofarmacológicos no intuito de reduzir distúrbios comportamentais, favorecer a manutenção das atividades saudáveis e estabelecer uma aliança de compromisso entre os profissionais de saúde e os membros da família e/ou outros cuidadores responsáveis pelo paciente.

Inicialmente, o diagnóstico da DA no Brasil seguia as recomendações estabelecidas pelo Instituto Nacional de Neurologia dos EUA – o *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* (NINCDS-ADRDA Work Group) (MCKHANN *et al.*, 1984) e pela APS (American Psychiatric Association, 2003). Entretanto, importantes avanços no entendimento da DA ocorreram nos últimos anos, de modo que se tornou necessária a atualização destes critérios.

Nos critérios anteriores, a DA somente era diagnosticada com a presença de demência, enquanto na nova proposta, a DA pode ser diagnosticada em três fases: DA pré-clínica (restrito a pesquisas), CCL devido à DA e demência (SPERLING *et al.*, 2011).

No Brasil, foi recentemente revisto e definido um consenso para o diagnóstico de demência pelos membros do Departamento de Neurologia Cognitiva e do Envelhecimento da Academia Brasileira de Neurologia e publicado no periódico *Dementia & Neuropsychologia* em 2011 (FROTA *et al.*, 2011)

O consenso apresenta *Crítérios clínicos para o diagnóstico de demência (de qualquer etiologia)*, no qual a demência é diagnosticada quando: 1. Há sintomas cognitivos ou comportamentais que interferem nas atividades diárias, representem declínio em relação a desempenhos prévios e não são explicáveis por *delirium* (estado confusional agudo) ou outra doença psiquiátrica; 2. O comprometimento cognitivo deve ser diagnosticado em combinação das informações da anamnese do paciente e do informante com a avaliação cognitiva objetiva ou avaliação neuropsicológica; 3. Os comprometimentos cognitivos ou comportamentais devem afetar no mínimo dois dos seguintes domínios: memória, funções executivas, habilidades visuoespaciais, linguagem (expressão, compreensão, leitura e escrita) e personalidade.

Também aborda os *Crítérios clínicos centrais da demência de Alzheimer*, considerando-se a demência da doença de Alzheimer provável, possível e definida.

A *demência da doença de Alzheimer provável* além de preencher critérios para demência, deve ainda apresentar: início insidioso; observação de piora cognitiva; déficits cognitivos iniciais de apresentação amnésica ou não amnésica com outro domínio afetado para ambas as categorias e realização de tomografia ou preferencialmente ressonância magnética do crânio. Os seguintes itens aumentam o grau de confiabilidade do diagnóstico clínico de demência da DA provável:

- a. Declínio cognitivo progressivo, constatado por avaliações sucessivas;
- b. Presença de mutação genética causadora de DA (genes da APP e presenilinas 1 e 2);
- c. Positividade a biomarcadores relacionados ao processo patogênico da DA (marcadores moleculares por tomografia por emissão de pósitrons (PET) ou líquido; ou neuroimagem estrutural e funcional).

Para a *demência da doença de Alzheimer possível* o paciente preenche os critérios diagnósticos para demência da DA, porém apresenta curso atípico da doença (lentamente progressivo); apresentação mista com evidência de outras etiologias (doença cerebrovascular concomitante; características de demência por corpos de Lewy; outra doença neurológica ou comorbidades não neurológicas ou uso de medicações que possam ter efeito sobre a cognição); além de histórico clínico insuficiente da doença.

Para a *demência da doença de Alzheimer definida* o paciente deve preencher critérios clínicos e cognitivos para demência da DA e exame neuropatológico que comprove a presença de patologia da DA.

O consenso também apresenta critérios para o **Diagnóstico de comprometimento cognitivo leve (CCL) devido à DA**, no qual para a construção deste diagnóstico, dois conjuntos de critérios podem ser utilizados, os critérios clínicos centrais e os critérios de pesquisa clínica (ALBERT *et al.*, 2011). Os critérios clínicos centrais podem ser utilizados para a prática clínica, sem necessidade de procedimentos mais complexos, enquanto que os critérios de pesquisa clínica incorporam a utilização de biomarcadores, destinados a níveis de pesquisas.

Para os *critérios clínicos centrais* é observada a presença de queixa de alteração cognitiva (pelo paciente e informante próximo); evidência (por testes cognitivos) de déficit em um ou mais domínios cognitivos; preservação da independência em atividades funcionais e não preenchimento dos critérios para demência. Com relação a outras etiologias, devem-se excluir outras doenças sistêmicas ou neurológicas; ter evidência do declínio da cognição compatível ao curso natural da DA; apresentar história consistente de DA familiar, pois a presença de alterações genéticas autossômicas dominantes da DA em familiares torna mais provável o CCL devido esta doença.

Já para os *critérios de pesquisa clínica*, após o preenchimento dos critérios clínicos de CCL devido à DA, as informações obtidas através de biomarcadores podem conferir graus de probabilidade da etiologia de DA. Entretanto, essa classificação necessita ser testada em estudos futuros antes de sua aplicação na prática clínica. Os graus são divididos

em: *Alta probabilidade* (biomarcadores de A β e de lesão neuronal positivos); *Probabilidade intermediária* (uma modalidade positiva e outra não testada); *Probabilidade baixa* (biomarcadores de A β e de lesão neuronal negativos) e *Dados inconclusivos* (resultados conflitantes – uma modalidade positiva e outra negativa).

A última abordagem do consenso se aplica sobre o **Diagnóstico de doença de Alzheimer pré-clínica para fins de pesquisa**, sobre o qual se preconiza o uso de biomarcadores para formulação do diagnóstico de DA antes do surgimento dos sintomas clínicos, conforme proposto por Sperling *et al.* (2011). Esta proposta é dividida por estágios e ainda requer validação experimental através de estudos longitudinais.

- **Estágio 1 (Amiloidose cerebral assintomática):** elevada positividade de A β em PET e redução de A β -42 no líquido.

- **Estágio 2 (Amiloidose + Neurodegeneração inicial):** elevada positividade de A β ; disfunção neuronal na tomografia por emissão de pósitrons, tendo como marcador o Flúor-deoxi-glicose (FDG-PET)/MR; aumento da Tau/Tau-fosforilada no líquido; redução da espessura cortical/atrofia hipocampal por ressonância magnética (RM).

- **Estágio 3 (Positividade para amilóide + evidência de neurodegeneração + declínio cognitivo sutil):** preenchimento dos estágios 1 e 2; alteração cognitiva sutil do nível prévio; baixo desempenho em testes complexos e não preenche critérios de CCL (FROTA *et al.*, 2011).

Associado a estes critérios vários testes neuropsicológicos e exames complementares são incluídos para a construção clínica do diagnóstico da DA, conforme o consenso preconiza. Segundo Caramelli *et al.* (2011) os exames laboratoriais, com o intuito de excluir causas secundárias de demência, devem incluir hemograma completo, concentrações séricas de creatinina, hormônio estimulante da tireoide (TSH), albumina, enzimas hepáticas, vitamina B12, ácido fólico, cálcio, reações sorológicas para Sífilis e para vírus da imunodeficiência humana (HIV), neste último, caso o paciente tenha idade inferior a 60 anos e apresentações clínicas atípicas; neuroimagem estrutural por tomografia computadorizada (TC), ou preferencialmente a RM; neuroimagem molecular e funcional, na qual através do PET e/ou tomografia por emissão de fóton único (SPECT) é possível visualizar os depósitos de proteína A β ; exame do líquido cefalorraqueano (LCR) que é indicado para análise de investigação de demência do tipo pré-senil, sintomatologia atípica, hidrocefalia comunicante, evidência ou suspeita de doença inflamatória, infecciosa ou

priônica do sistema nervoso central (SNC). Em ensaios clínicos terapêuticos ou em protocolos de pesquisa, a dosagem do peptídeo A β 1-42, Tau e Tau-fosforilada pode ser empregada. Na prática clínica seu uso pode contribuir para maior precisão diagnóstica da DA, tanto nas fases demenciais quanto no CCL.

O eletroencefalograma (EEG) deve ser utilizado para exclusão de outras condições que interferem na capacidade cognitiva, como epilepsia, encefalopatias tóxico-metabólicas e infecciosas. Não contribui para o diagnóstico precoce de DA.

Além desses exames, encontra-se também presente o estudo genético. Na prática clínica, a genotipagem da APOE e de outros polimorfismos não é recomendada para fins diagnósticos em pacientes com DA, nem como fator preditivo em indivíduos assintomáticos ou com CCL. A investigação de mutações da APP, PSEN1 e PSEN2, quando disponível, é recomendada em casos de DAF compatível com herança autossômica dominante.

Na avaliação neuropsicológica, se destacam vários testes, os quais devem ser empregados no intuito de caracterizar as alterações cognitivas, comportamentais e funcionais dos idosos (Chaves *et al.*, 2011).

Entre os testes recomendados para a avaliação funcional, pode-se citar as escalas IQCODE (*Informant Questionnaire on Cognitive Decline in the Elderly*) (Jorm e Jacomb, 1989), DAFS-R (*Direct Assessment of Functional Status-Revised*) (Loewenstein e Bates, 2006), DAD (*Disability Assessment for Dementia*) (Gauthier *et al.*, 1994), B-ADL (*Bayer Activities of Daily Living Scale*) (Hindmarch *et al.*, 1998), ADL-Q (*Activities of Daily Living Questionnaire*) (Johnson *et al.*, 2004), e a escala Katz (KATZ *et al.*, 1963).

Para avaliação comportamental as escalas NPI (Neuropsychiatric Inventory) (Cummings *et al.*, 1994) e CAMDEX-R (Cambridge Examination for Mental Disorders of the Elderly-Revised Version) (Roth *et al.*, 1998) são recomendadas para avaliação dos sintomas neuropsiquiátricos de pacientes com DA. Para avaliação da depressão na demência, a escala de Cornell (*Cornell Scale for Depression in Dementia*) (Alexopoulos *et al.*, 1988) é a mais indicada.

No rastreio cognitivo o MEEM (Mini-Exame do Estado Mental) (Folstein *et al.*, 1975) é o teste padrão. Entretanto, com o intuito de ampliar o escopo da avaliação cognitiva outros instrumentos, como o CASI-S (*Cognitive Abilities Screening Instrument-Short Form*) (Teng *et al.*, 1994), a Bateria Breve de Rastreio Cognitivo – BBRC e o Exame Cognitivo de Addenbrooke-Revisado (*Addenbrooke's Cognitive Examination-Revised: ACE-R*) (Mioshi *et al.*, 2006) podem ser utilizados.

Entre as baterias multifuncionais que podem ser empregadas, destacam-se a CAMCOG-R (*Cambridge Cognitive Examination-Revised*) (Roth *et al.*, 1998), ADAS-COG (*Alzheimer's Disease Assessment Scale – cognitive subscale*) (Rosen *et al.*, 1984), CERAD (*Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease*) (Morris *et al.*, 1989) e MDRS (*Mattis Dementia rating Scale*) (Vitaliano *et al.*, 1984). Para avaliação de áreas cognitivas específicas, utilizam-se os testes RAVLT (*Rey Auditory Verbal Learning Test*), dez figuras da BBRC e lista de palavras e evocação de figuras da bateria CERAD (para memória); subtestes Dígitos na ordem direta e/ou inversa da Bateria *Wechsler Adult Intelligence Scale III* (WAIS-III) (para atenção); TDR (Teste do Desenho do Relógio) e teste de fluência verbal (fonêmica e semântica) (para funções executivas); O subteste Semelhanças da WAIS-III pode avaliar a capacidade de abstração, como opção prática; cópia da figura do CERAD e o TDR (para habilidades visuoperceptuais e construtivas) e o *Boston Naming* (Kaplan *et al.*, 2001) ou o teste de fluência verbal semântica e/ou mais amplamente as baterias Arizona, Boston ou Beta MT (para linguagem).

A DA tem grande impacto sobre as despesas de saúde, morbidade e mortalidade, impondo enormes custos ao setor assistencial de saúde e aos familiares destes pacientes. A maioria dos casos somente é identificada nos estágios mais avançados, onde o estresse dos cuidadores já está elevado e as opções de tratamento são restritas. Isso decorre da ideia errônea, globalmente difundida, de que a demência é uma consequência normal e inevitável do envelhecimento. Desse modo, a doença não é detectada precocemente e com isso dificulta o diagnóstico e os tratamentos adequados (JELLINGER, 2006).

Segundo Hodges (2006), menos de 50% dos pacientes demenciados recebem um diagnóstico adequado e formal e o número daqueles que fazem uso das medicações corretamente é ainda menor.

Portanto, há uma grande necessidade na área de tratamentos específicos para a DA os quais requerem um diagnóstico preciso e, sobretudo, extremamente baseado na compreensão da fisiopatologia da doença (CUMMINGS, 2004). Atualmente, neste contexto insere-se a relação dos biomarcadores moleculares que apresentam associação direta ou indireta com a patogênese da DA.

Os biomarcadores podem ser utilizados como indicativos destes processos, como por exemplo, monitoramento de respostas farmacológicas, detecção de patologias, entre outras. Através dos biomarcadores, busca-se uma resposta precoce ou pelo menos um indicativo do estágio de tais processos. Além disso, através dos biomarcadores espera-se obter algumas informações, tais como: 1. se um processo patogênico se iniciou; 2. qual o seu

estágio e 3. se o organismo está respondendo de forma efetiva aos tratamentos empregados. Desta forma, os biomarcadores são de grande importância, não apenas para a detecção precoce de patologias, mas também para a monitoração de seu estágio e a eficiência de tratamentos (ATKINSON *et al.*, 2001).

Estudos com este enfoque, normalmente apresentam em suas amostras a comparação entre indivíduos sadios e doentes. Desse modo, é possível a busca por componentes ou produtos protéicos expressos de distintas formas ou que podem apresentar modificações estruturais, sendo assim um possível indicativo do problema em estudo (HANCOCK, 2003).

Um biomarcador para DA deve idealmente ter algumas características. Ele deve detectar um marco fundamental da neuropatologia da doença, com resultados que podem ser validados em casos neurologicamente confirmados. Deve ter sensibilidade maior de 85% e especificidade maior de 75%, deve ser preciso, confiável, de baixo custo, conveniente e com baixo risco para os pacientes. Entretanto, até mesmo aqueles que preenchem parcialmente esses critérios ajudariam tanto na predição de diagnósticos de DA a partir de apresentações de CCL, assim como para monitorar a eficácia de terapias na modificação da doença (TANG, 2008).

2.2 ADAMs e a doença de Alzheimer

O termo ADAM é usado para descrever a presença na proteína de domínios desintegrina e metalopeptidase (*A Disintegrin And Metallopeptidase*). As ADAMs, entretanto, são proteínas multi-modulares (Figura 4) e há evidências de que cada um de seus domínios tenha um papel funcional, e não apenas estrutural, em pelo menos uma das ADAMs identificadas até o momento (BLOBEL, WHITE, 1992; MOSS *et al.*, 1997; YUAN, PRIMAKOFF, MYLES, 1997; IZUMI *et al.*, 1998; LOECHEL *et al.*, 1998; ZHANG *et al.*, 1998; IBA *et al.*, 1999; ROGHANI, 1999). Muitas ADAMs são proteínas transmembrana do tipo I e se ancoram devido à presença do domínio transmembrana próximo à região C-terminal (Figura 5). Algumas ADAMs, entretanto, apresentam também uma forma alternativa solúvel e secretada gerada por *splicing* alternativo. Como exemplos destas ADAMs temos a 11, 12, 17 e 28 (EMI *et al.*, 1993; GILPIN *et al.*, 1998; CERRETTI *et al.*, 1999; ROBERTS *et al.*, 1999). As primeiras ADAMs descobertas estavam envolvidas em processos reprodutivos, particularmente a espermatogênese e a fusão óvulo-espermatozóide (MYLES *et al.*, 1994;

WOLFSBERG e WHITE, 1996). Porém, outros membros desta família de proteínas apresentam funções importantes em processos fisiológicos e no desenvolvimento, tais como clivagem de ectodomínios, fusão de mioblastos, migração, proliferação e sobrevivência celular, entre outros processos (WHITE, 2003).

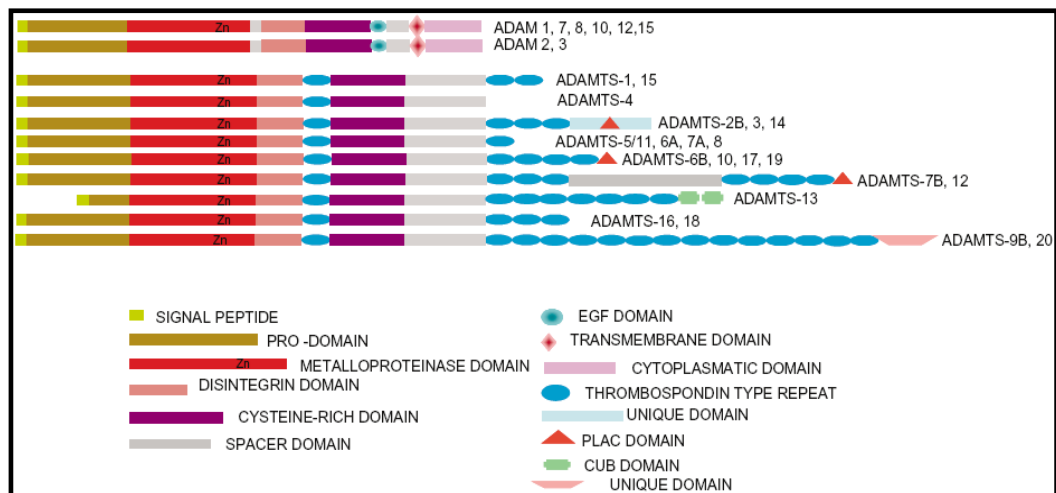


Figura 4. Diagrama esquemático da estrutura das classes das ADAMs (A Disintegrin And Metalloprotease). Extraído de Fox e Serrano (2005).

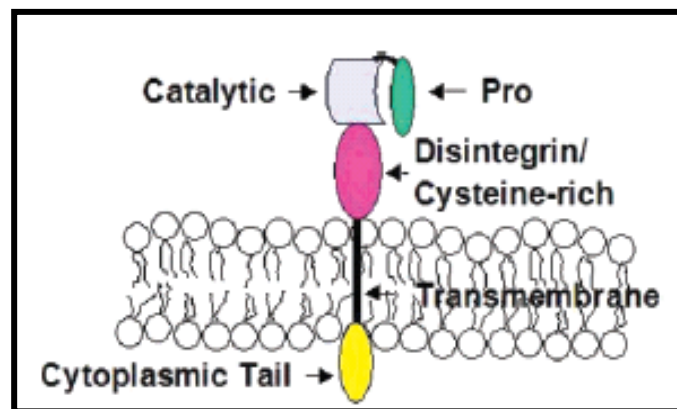


Figura 5. Estrutura em domínios de proteínas da família das ADAMs e sua inserção na membrana celular. Após a remoção do pró-domínio (em verde) por outras proteases ou por auto ativação, o domínio metalopeptidase torna-se ativo. Os outros domínios são: metalopeptidase ou catalítico (em branco), domínios desintegrina e rico em cisteína (em rosa), domínio transmembrana (em preto) e domínio citoplasmático (em amarelo). Extraído de Moss e Bartsch (2004).

As ADAMs são membros da superfamília das proteases dependentes de zinco, que por sua vez, é dividida de acordo com a estrutura primária de seus sítios catalíticos e inclui os subgrupos das gluzincinas, metzincinas, inuzincinas, carboxipeptidases e DD carboxipeptidases (HOOPER, 1994). As ADAMs pertencem ao subgrupo das metzincinas, o

qual é também dividido em serralisinas, astacinas, matrixinas e adamalisinas. As matrixinas são as metalopeptidases de matriz ou MMPs, as quais são proteases responsáveis pela degradação e remodelamento da matriz extracelular (MEC) e possuem importantes funções no desenvolvimento, cicatrização de ferimentos e em doenças como artrite reumatóide e câncer (CHANG e WERB, 2001). As ADAMs também são chamadas de MDCs (*Metalloprotease/Disintegrin/Cystein-rich*) e recebem, seguido ao nome, um número que representa a ordem de sua descoberta. Em humanos, foram identificados até o presente momento cerca de 19 genes que codificam para ADAMs (vide Tabela 2). As ADAMs são encontradas também em outras espécies, incluindo *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila* e *Xenopus*, mas não estão presentes em *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, ou em plantas (SEALS e COURTNEIDGE, 2003).

A região N-terminal das ADAMs possui uma sequência sinal que direciona para a via secretória e um pró-domínio que possui função na maturação, pois sua presença mantém o domínio metalopeptidase inativo. A ativação do domínio metalopeptidase se dá pelo mecanismo de *cystein-switch* (VAN WART e BIRKEDAL-HANSEN, 1990; BECKER, 1995), no qual um resíduo conservado de cisteína, presente no pró-domínio, coordena o íon zinco (Zn^{2+}) do sítio ativo e o mantém inativo. Após a remoção do pró-domínio e a consequente liberação do sítio ativo, o domínio metalopeptidase torna-se ativo e é capaz de realizar suas funções catalíticas. Outra suposta função do pró-domínio seria o de chaperona, ou seja, o pró-domínio poderia servir para fornecer estruturalmente a configuração apropriada para a proteína como um todo ou especificamente para o domínio metalopeptidase (SEALS e COURTNEIDGE, 2003). O domínio metalopeptidase é responsável pelo processamento hidrolítico dos substratos nas ADAMs. Ele possui um sítio ativo que contém um íon Zn^{2+} e moléculas de água, os quais são necessários para o mecanismo catalítico. Três resíduos conservados de histidina e um de metionina coordenam o íon Zn^{2+} do sítio ativo. O resíduo de metionina faz parte de um motivo denominado *Met turn* que rodeia o motivo consenso HExGHxxGxxHD. A maioria das ADAMs possui domínios catalíticos funcionais, mas aquelas que não possuem a sequência HExGHxxGxxHD, consequentemente não possuem atividade de protease (SEALS e COURTNEIDGE, 2003).

Tabela 2. ADAMs humanas. Extraído e modificado de Seals e Courtneidge (2003).

ADAM	Nome comum	Função provável	Expressão
ADAM2	Fertilina- β , PH-30 β	Ligação/fusão espermatozóide/óvulo	Testículo
ADAM7	EAP1		Epidídimo
ADAM8	MS2, CD156		Granulócitos/ Monócitos
ADAM9	Meltrin- γ , MDC9	Migração celular, clivagem de ectodomínios	Células somáticas
ADAM10	Kuz, MADM, SUP-17	Clivagem de ectodomínios, destino celular	Células somáticas
ADAM11	MDC	Repressor tumoral	Cérebro
ADAM12	Meltrin- α	Clivagem de ectodomínios, Fusão de mioblastos	Células somáticas
ADAM15	Metagirdin, MDC15	Ligação célula-célula	Células somáticas
ADAM17	TACE	Clivagem de ectodomínios	Células somáticas
ADAM18	tMDCIII		Testículo
ADAM19	Meltrin- β , MADDAM	Clivagem de ectodomínios, Desenv. Células dendríticas	Células somáticas
ADAM20			Testículo
ADAM21			Testículo
ADAM22	MDC2		Cérebro
ADAM23	MDC3	Adesão Celular, Desenv. Neural	Cérebro
ADAM28	MDC-L	Vigilância imune	Epidídimo, pulmão, linfócitos
ADAM29			Testículo
ADAM30			Testículo
ADAM33		Ligada geneticamente com asma	Células somáticas

Além da região N-terminal e do domínio metalopeptidase, as ADAMs também são compostas por outros domínios, como o desintegrina, rico em cisteína, epidermal growth factor (EGF-like), transmembrana e citoplasmático. As funções destes domínios nas ADAMs ainda não estão completamente esclarecidas (SEALS e COURTNEIDGE, 2003).

Nos últimos anos, vários trabalhos avançaram no entendimento da estrutura e função das proteínas da família das ADAMs, especialmente aqueles relacionados ao domínio metalopeptidase destas moléculas. Sabe-se que a TACE (*TNF α Converting Enzyme*) ou ADAM17 (Rosendahl *et al.*, 1997; Cerretti *et al.*, 1999) e as ADAMs 9 e 10 (Lunn *et al.*, 1997; Roghani *et al.*, 1999; Amour *et al.*, 2000) são responsáveis pela clivagem do fator α de necrose tumoral (TNF α), o qual é uma citocina e como tal, possui importantes funções no desenvolvimento e em processos inflamatórios, além de serem recrutadas em resposta a infecções por microorganismos ou a estados patológicos como artrite reumatoide.

A ADAM10 pode clivar mais de 30 diferentes tipos de proteína de membrana além da APP, como a Notch, betacellulin, klotho a N-caderin. Assim, a ADAM10 é a principal protease de membrana e está envolvida em diferentes processos fisiológicos e patológicos, como o desenvolvimento embrionário, adesão celular, transdução de sinal, sistema imune, câncer e DA (LICHTENTHALER, 2011).

A ADAM17, através de seu domínio metalopeptidase, também participa da liberação por clivagem de várias outras proteínas ancoradas à membrana celular, incluindo o fator α de crescimento transformante (TGF α), receptores de TNF p55 e p75, receptor de interleucina-1 tipo II, molécula de adesão celular vascular (VCAM), fractalinas e APP (BLACK *et al.*, 1997; BUXBAUM *et al.*, 1998; PESCHON *et al.*, 1998; GARTON *et al.*, 2001; TSOU, HASKELL, CHARO, 2001). As ADAMs 9, 10 e 17 também mostram atividade de α -secretase (ASAI *et al.*, 2003; DEUSS, REISS, HARTMANN, 2008).

As ADAMs são proteínas de membrana tipo I da família metzincina e requerem um íon de zinco para a atividade proteolítica (LICHTENTHALER, 2011). Além destas proteínas, outras peptidases de membrana, como a BACE1 também podem estar envolvidas na clivagem da APP (NIKOLAEV *et al.*, 2009).

A ADAM10 é uma proteína de membrana do tipo I de aproximadamente 750 aminoácidos e apresenta uma expressão coordenada com a APP em cérebros humanos, o que é menos visto na ADAM17 (LICHTENTHALER, 2011). Dadas as inconsistências relativas à identidade da α -secretase, dois estudos muito recentes utilizaram uma gama de reagentes, neurônios primários e camundongos condicionados para resolver a identidade da α -secretase (JORISSEN *et al.*, 2010; KUHN *et al.*, 2010). Ambos os estudos chegaram à mesma conclusão e referem que a ADAM10, mas não a ADAM9 ou a ADAM17, é a α -secretase primordial em neurônios primários e, portanto, nas células mais afetadas na DA.

Desta forma, estratégias para aumentar a atividade das α -secretases são consideradas abordagens terapêuticas para pacientes com DA (HOOPER, TURNER, 2002; FAHRENHOLZ, 2007).

A APP tem sido o centro de intensas pesquisas nos últimos anos devido sua associação com a patogênese da DA. Do ponto de vista estrutural, a APP se assemelha a um receptor de membrana celular que compreende um peptídeo sinalizador, uma extensa região extracelular N-terminal, um único domínio transmembrana e uma pequena extremidade C-terminal, cada qual de grande relevância para a patogênese da doença (DI LUCA *et al.*, 2000). A função biológica da APP ainda não é clara, mas pode envolver um papel na adesão celular ou como um receptor de sinal (LICHTENTHALER, 2011).

O ectodomínio da APP pode ser desprendido da membrana por duas alternativas proteolíticas (Figura 6) que envolvem tanto a α ou a β -secretase (EVIN *et al.*, 2003).

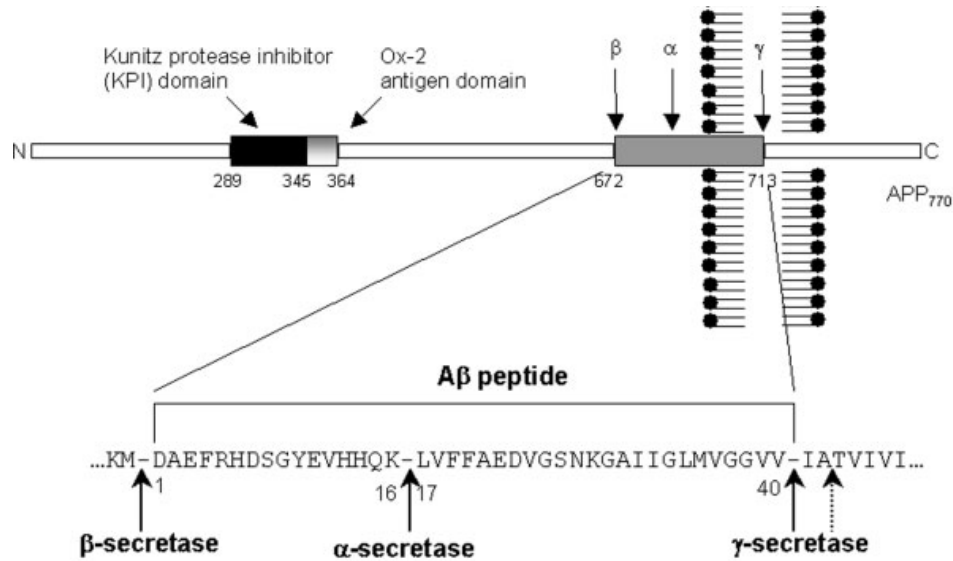


Figura 6. Processamento da Proteína Precursora do Amilóide (APP). APP pode ser clivada pela α -secretase, que inibe a formação do A β , ou pela β -secretase (BACE1), levando à formação do A β . Extraído de Allison *et al.*, 2003.

A β -secretase é a enzima que cliva a APP no sítio β (BACE1 - *Beta-site APP cleaving enzyme*) (COLCIAGHI *et al.*, 2004; COLE e VASSAR, 2007). A clivagem da APP pela β -secretase (BACE-1) no domínio terminal NH₂ do A β produz uma forma solúvel da APP (sAPP β) que é desprendida no meio extracelular e parece ter uma função pró-apoptótica (Nikolaev *et al.*, 2009) e um fragmento C-terminal ligado a membrana (CTF ou C99). A subsequente clivagem da C99 pela γ -secretase no domínio C-terminal do A β libera o A β 1-40 e A β 1-42 (EVIN *et al.*, 2003). A γ -secretase é um complexo de proteases hetero-tetraméricas constituído por quadro subunidades: presenilina, nicastrina, Aph-1 (anterior pharynx-defective 1) e Pen-2 (presenilin enhancer 2) (LICHTENTHALER, 2011). O A β 1-40 termina na Valina40 (Val40) e o A β 1-42 apresenta dois aminoácidos adicionais hidrofóbicos, Isoleucina (Ile) e Alanina (Ala). Como resultado o A β 42 é mais hidrofóbico e apresenta maior potencial de agregação, portanto, mais amiloidogênico (KAWASHIMA, 2002; ZHANG, 2011). A β e γ -secretases foram identificadas há 10 anos e ambas são classificadas como proteínas de membrana (LICHTENTHALER, 2011). Alguns estudos têm mostrado que apesar do nível plasmático de A β 42 isolado não ser suficiente para atuar como um biomarcador, ele está aumentado no início da DA e mudanças em seu nível podem indicar uma transição do CCL para DA (GRAFF-RADFORD, 2007). Outro estudo de coorte mostrou que a relação plasmática do A β 42/40 se apresentou como um útil biomarcador para identificar sujeitos idosos brancos cognitivamente normais em risco para desenvolver CCL ou DA (BLASKO, 2008).

Na via não amiloidogênica, a APP é clivada pela α -secretase entre Lys-16 e Leu-17 no meio da região do A β , deste modo, libera a sAPP α - uma estrutura que tem funções neurotrópica e neuroprotetora - e retém o resíduo C83 na membrana. A clivagem seguinte do C83 pela γ -secretase libera o p3 - que é supostamente benéfico e não é encontrado nas placas amilóides - com início na posição A β 17 (A β 17-40 e A β 17-42), inibindo assim a produção do A β amiloidogênico (KAWASHIMA, 2002), como esquematiza a Figura 7.

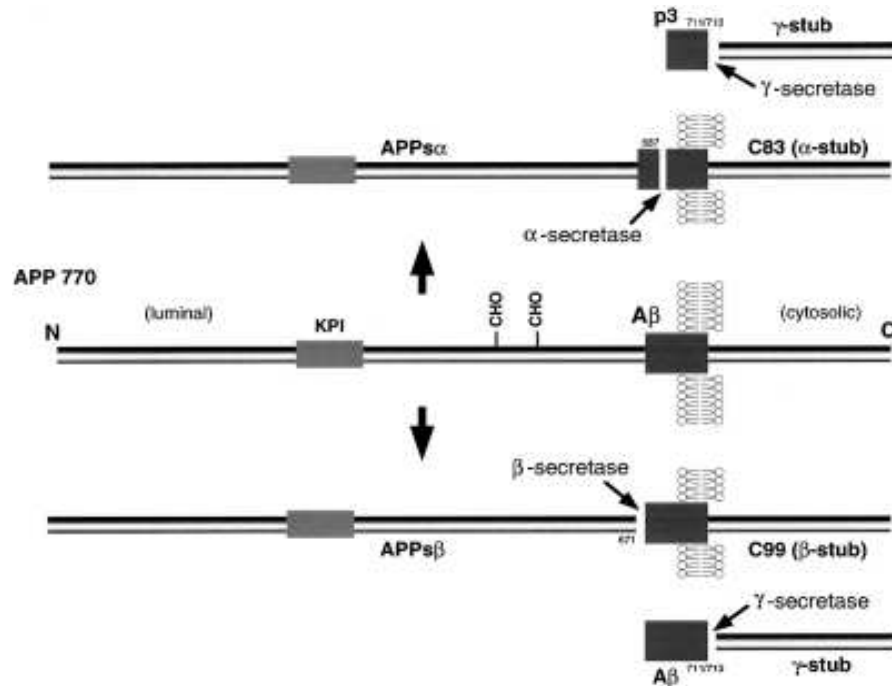


Figura 7. Processos de degradação da APP. Os dois processos proteolíticos são observados (setas largas). Extraído de Kawashima e Ihara, 2002.

O peptídeo A β é uma proteína de 39-43 aminoácidos, com massa molecular de aproximadamente 4kDa e compreende um fragmento proteolítico da APP liberado por clivagens sequenciais via β e γ -secretases (EVIN *et al.*, 2003) (Figura 7). Contudo, a rota predominante de processamento da APP consiste de clivagens sucessivas por α e γ -secretases. As α -secretases clivam a APP dentro de uma sequência do peptídeo A β e, portanto, evitam a formação de peptídeo A β neurotóxico (HOOPER e TURNER, 2002). Após a clivagem por α -secretases, a região N-terminal solúvel da APP (sAPP α), que possui propriedades neuroprotetoras, é liberada. Em pacientes com DA, ocorre uma diminuição do processamento de APP via α -secretases. Devido à formação do A β ocorrer no início da cascata de geração das placas amilóides, os mecanismos de formação e prevenção do A β são alvos de intensa pesquisa, tanto pela academia quanto pelas companhias farmacêuticas (LICHTENTHALER, 2011). As Figuras 8 e 9 mostram a formação das placas amilóides, a partir da APP.

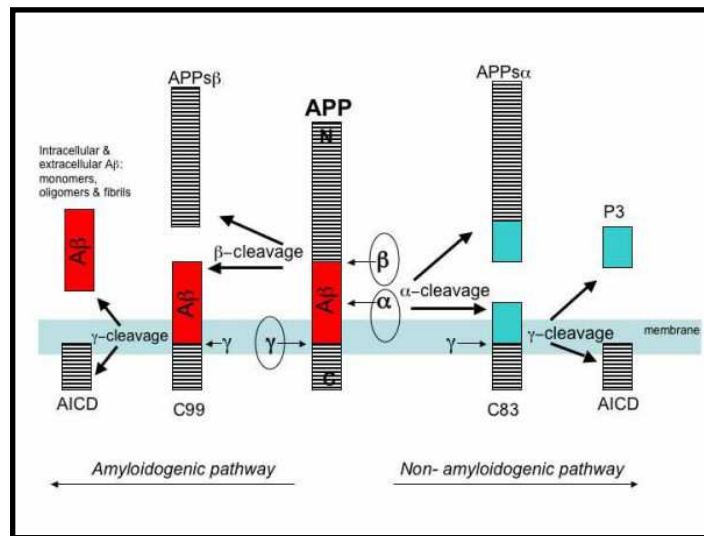


Figura 8. Clivagem da APP por α e β -secretases. A APP é clivada sequencialmente por β -secretases e γ -secretases para gerar peptídeo A β . A formação do peptídeo A β (via amiloidogênica) é prevenida pelas α -secretases (via não amiloidogênica), as quais têm sido identificadas como ADAM9, 10 e 17. Extraído de Cole e Vassar (2007).

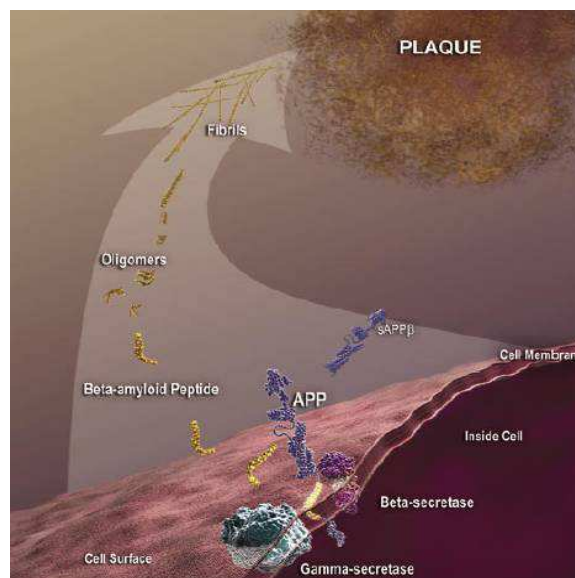


Figura 9. Formação das placas β -amilóides a partir da proteína precursora do amiloide (APP). Extraído de Rogers (2008).

A α e β -secretases parecem competir para o início da clivagem da APP, no entanto, apresentam efeitos opostos na formação do A β (LICHTENTHALER, 2011). Os mecanismos moleculares envolvidos na competição entre a α e β -secretase ainda não são bem compreendidos, mas podem abranger alterações nos compartimentos celulares, onde tipicamente a clivagem ocorre (KUHN *et al.*, 2010).

A clivagem da α -secretase ocorre primordialmente na membrana plasmática, mas também nas redes de Golgi, pelo menos sob estimulação com PMA - phorbol myristate

acetate (SKOVRONSKY *et al.*, 2000). Entretanto, a clivagem da β -secretase ocorre principalmente no endossoma e em menor extensão nas redes de Golgi (KOO e SQUAZZO, 1994; VASSAR *et al.*, 1999).

A competição da APP como substrato foi reportada em estudos anteriores. Kuhn *et al.* (2010) e Vassar *et al.* (1999), utilizaram a super expressão da BACE1 e com isso, verificaram a forte redução da clivagem da APP pela α -secretase, isto porque, a super expressão da BACE1 propicia a clivagem da APP em compartimentos celulares mais internos do caminho secretório antes da APP ter acesso a α -secretase na membrana plasmática.

Uma segunda condição na qual esta competição foi observada seria em casos de mutação na forma APP Sueca (SweAPP), que está relacionada com a forma familiar de DA. A SweAPP apresenta clivagens mais eficientes pela β -secretase, sendo assim apresenta maior capacidade na formação de A β e menor de sAPP α . Isto se deve, provavelmente, pois a SweAPP é clivada precocemente nas redes de Golgi antes de ter acesso a α -secretase (HAASS *et al.*, 1995).

Skovronsky *et al.* (2000) descrevem uma terceira possibilidade em que a competição entre as secretases é observada. Através da ativação da α -secretase pelo PMA, foi observada sua maior atividade nas redes de Golgi, de modo que a APP é clivada pela α -secretase precocemente e menos APP encontra-se disponível para clivagem pela β -secretase.

Recentemente a competição entre as secretases α e γ foi discutida por Kuhn *et al.* (2010). Em estudo com células SH-SY5Y foi observado que o C99 pode ser clivado por dois caminhos. Quando o C99 sofre atividade da γ -secretase a estrutura formada é o A β , entretanto, se clivado pela α -secretase a estrutura liberada é a C83, a qual previne a formação do A β . Este estudo também apresenta que ao diminuir a atividade da ADAM10 o segundo caminho abordado é bloqueado. Entretanto neste estudo a competição da α e β secretases não foi observada em duas diferentes linhagens de célula, diferentemente do observado em neurônios primários, nos quais a diminuição da expressão da ADAM10 resultou em aumento da clivagem pela β -secretase e a formação de A β . Desta forma verifica-se que a competição entre estas proteases pode depender também do tipo de célula estudado e ao fato de que a expressão da BACE1 é muito maior em neurônios do que em linhagens celulares (LICHTENTHALER, 2011).

Apesar das controvérsias que a supressão da ADAM10 aumente os níveis de A β , evidências sugerem que a redução da clivagem pela α -secretase pode contribuir para a patogênese da DA, potencialmente devido ao aumento do A β ou pela redução da sAPP α , ou ainda devido à junção destes dois fatores. Esta hipótese corrobora com a ideia que a ativação

farmacológica da α -secretase pode ser uma abordagem terapêutica para a DA (FAHRENHOLZ, 2007). Entretanto, dado que a ADAM10 cliva mais de 30 diferentes tipos de substratos, será essencial avaliar cuidadosamente as consequências da ativação crônica desta protease (LICHTENTHALER, 2011).

Entre os tecidos periféricos, as plaquetas apresentam os maiores níveis da expressão da APP (EVIN *et al.*, 2003). A adequação no uso de plaquetas está nas múltiplas semelhanças entre elas e as células neuronais. As plaquetas alojam e liberam neurotransmissores e carregam transportadores e receptores apropriados, normalmente expressos por células neuronais (COLCIAGHI *et al.*, 2002). Também são capazes de produzir todos os fragmentos da APP encontrados nos neurônios: a forma secretória e solúvel da APP (sAPP α e sAPP β); o fragmento amiloidogênico C99 e sua contrapartida α -secretase C83; e o peptídeo A β . Isto indica que as plaquetas possuem atividades das α , β e γ -secretases e que assim como os neurônios, elas podem processar a APP por dois caminhos celulares: o amiloidogênico (envolvendo a β e γ secretases) e o não amiloidogênico (envolvendo a α e γ secretases). Encontrando-se os mesmos produtos das secretases nas plaquetas e nos neurônios, reconhece-se, portanto que as plaquetas são facilmente acessíveis e potencialmente úteis como ferramenta clínica para monitorar os efeitos de novas terapias baseadas na inibição da β e γ -secretases e/ou ativação das α -secretases (EVIN *et al.*, 2003).

Em indivíduos saudáveis a clivagem pela α -secretase parece ser o caminho dominante usado pelas plaquetas devido os níveis detectados de sAPP α serem muito maiores do que os níveis de sAPP β . As plaquetas produzem principalmente o peptídeo A β 1-40, entretanto, até o momento, os estudos não foram capazes de detectar o A β 1-42 em plaquetas, ao passo que os neurônios produzem significante concentrações deste A β (EVIN *et al.*, 2003).

Dois estudos pioneiros utilizaram pacientes com DA e mostraram a expressão de ADAM10 em plaquetas. No estudo de Colciaghi *et al.* (2002), 33 idosos com DA e 26 controles pareados segundo a idade se submeteram à análise da ADAM10. Este estudo também tinha como objetivo verificar a relação da ADAM10 com a presença do segmento proteico α APPs. Através do método laboratorial *Western Blotting*, amostras biológicas de plaquetas e do líquido cefalorraqueano foram analisadas. Foi verificado que a níveis plaquetários, a expressão da ADAM10 e da sAPP α de idosos com DA está reduzida, quando comparada aos de controles. De mesmo modo, a redução da sAPP α líquórica foi observada entre idosos com DA.

Em Colciaghi *et al.* (2004), alterações plaquetárias na APP, ADAM10 e BACE foram avaliadas em 31 idosos com DA (11 com DA muito leve – CDR 0,5 e 10 com DA leve

– CDR1) e 15 controles pareados pela idade. Neste estudo o método *Western Blotting* foi empregado para análise das amostras. Com o avanço do quadro clínico, a redução dos níveis da APP e da ADAM10 foi verificada, de modo que a BACE apresentou comportamento inverso.

2.3. Mini-Exame do Estado Mental, *Clinical Dementia Rating* e doença de Alzheimer

O cuidado a indivíduos com maior risco de demência (como é o caso de idosos) deve incluir sempre a avaliação das funções cognitivas.

As escalas CAMCOG (*Cambridge Cognitive Examination*) (ROTH, TYM, MOUNTJOY *et al.*, 1986), BDRS (*Blessed Dementia Rating Scale*) (BLESSED, TOMLINSON, ROTH, 1968), ADAS-cog (*Alzheimer's Disease Assessment Scale – cognitive subscale*) (MOHS e COHEN, 1988), Mini-Exame do Estado Mental (MEEM) (FOLSTEIN, FOLSTEIN, MCHUGH, 1975) e o *Clinical Dementia Rating* (CDR), são exemplos de instrumentos desenvolvidos com esse objetivo. Entre essas, o MEEM é seguramente a escala mais amplamente utilizada e estudada em todo o mundo (TOMBAUGH, MCINTYRE, 1992; ALMEIDA, 1998; LOURENÇO e VERAS, 2006; SCAZUFCA, ALMEIDA, VALLADA *et al.*, 2009), apresentando alto grau de acurácia na detecção das demências (KERWIN, 2009).

O MEEM é um teste breve de rastreamento da deterioração cognitiva, utilizado internacionalmente e traduzido em mais de 50 idiomas (KERWIN, 2009). É composto por itens que testam a orientação temporoespacial, memória de curto prazo, atenção, cálculo, linguagem e praxia construcional, possibilitando uma avaliação concisa do estado mental de um paciente. Suas principais aplicações atualmente são a avaliação do desempenho cognitivo em idosos com suspeita de quadros demenciais e de delirium; para o acompanhamento clínico dos quadros de delirium, por meio de avaliações seriadas; para avaliar a progressão de transtornos cognitivos; para avaliar a eficácia de tratamentos, farmacológicos ou não, para controle de déficit cognitivo e para avaliar o desempenho cognitivo de indivíduos sadios (TOMBAUGH e MCINTYRE, 1992; HILL *et al.*, 1993; LIU *et al.*, 1994; ENGELHARDT *et al.*, 1998; ALMEIDA, 1998; HERRERA *et al.*, 1998; CARAMELLI *et al.*, 1998; AEVARSSON e SKOOG, 2000; DINIZ *et al.*, 2002; DINIZ *et al.*, 2007).

O MEEM é composto por diversas questões usualmente agrupadas em sete categorias, as quais foram desenvolvidas com o intuito de avaliar as funções cognitivas específicas: *orientação para tempo* (5 pontos), *orientação para local* (5 pontos), *registro de 3*

palavras (3 pontos), *atenção e cálculo* (5 pontos), *lembrança das 3 palavras* (3 pontos), *linguagem* (8 pontos), e *capacidade construtiva visual (1 ponto)* (ALMEIDA, 1998; BRUCKI *et al.*, 2003; SCAZUFCA, ALMEIDA, VALLADA, 2009). O escore do MEEM pode variar de um mínimo de 0 até um total máximo de 30 pontos.

Entretanto, o desempenho do paciente no MEEM sofre influências de fatores não relacionados às funções cognitivas, como nível educacional, déficits de linguagem, e prejuízos motores ou visuais (BOUSTANI, PETERSON, HANSON *et al.*, 2003; KERWIN, 2009). A nota de corte, pontuação que indica provável presença de alterações cognitivas, varia de acordo com o nível de escolaridade dos indivíduos, como mostra a Tabela 3 (TOMBAUGHT e MCINTYRE, 1992; HILL *et al.*, 1993; LIU *et al.*, 1994; ENGELHARDT *et al.*, 1998; HERRERA *et al.*, 1998; ALMEIDA, 1998; AEVARSSON e SKOOG, 2000; DINIZ *et al.*, 2007). Pontuações maiores no MEEM indicam melhor desempenho cognitivo.

Tabela 3. Notas de corte no MEEM de acordo com o nível de escolaridade. Nitrini *et al.*, 2005.

Analfabetos (se souber escrever o nome, mas não frequentou a escola)	18 pontos
1 a 3 anos de escolaridade	21 pontos
4 a 7 anos de escolaridade	24 pontos
8 anos de escolaridade ou mais	26 pontos

O CDR, entretanto, vem ganhando espaço entre os instrumentos utilizados para o diagnóstico de demências, principalmente devido a sua precisão em detectar DA, diferenciando-a das demais demências, além do fato de possuir um valor preditivo positivo de 100% e negativo de 97,6% (MONTAÑO e RAMOS, 2005; MAIA *et al.*, 2006). O CDR consiste em uma entrevista semi estruturada direcionada para o informante chave e para o paciente. A entrevista demora cerca de uma hora para ser aplicada. O CDR classifica os indivíduos em cinco classes, 0 (sem alteração cognitiva); 0,5 (demência questionável); 1 (demência leve); 2 (demência moderada) e 3 (demência grave). Estes mesmos escores são aplicados nas seis categorias do exame: memória, orientação, julgamento e solução de problemas, relações comunitárias, lar e passatempos e cuidados pessoais. Essas categorias são avaliadas de acordo com as informações do informante chave, uma pessoa que convive diariamente com o paciente e que tenha conhecimento de sua rotina (geralmente o cônjuge, filhos ou em último caso os vizinhos). Essas informações são posteriormente conferidas na aplicação do teste com o paciente (HUGHES *et al.*, 1982). Os dados obtidos em cada categoria são posteriormente analisados de acordo com as regras elaboradas e testadas por Morris (MORRIS, 1993; ROTH, TYM, MOUNTJOY *et al.*, 1986; BLESSED,

TOMLINSON, ROTH, 1968; MOHS e COHEN, 1988; FOLSTEIN, FOLSTEIN, MCHUGH, 1975).

Devido ao fato de o CDR comparar o desempenho atual do paciente com o seu desempenho passado os resultados são muito precisos em definir a presença ou não de alterações cognitivas, o estágio da doença e a velocidade de progressão da mesma. Esse fator também possibilita a sua aplicação em diferentes grupos culturais, uma vez que não se baseia em escores estabelecidos a partir de estudos em culturas diferentes, mas sim no desempenho anterior do paciente e nas informações do informante chave.

Deste modo, parece importante e pertinente relacionar os sintomas cognitivos de desenvolvimento da doença – revelados por instrumentos como o MEEM e CDR – com biomarcadores moleculares, tais como os níveis plaquetários da proteína ADAM10. Isto devido à grande importância científica e clínica desta correlação para o desenvolvimento de metodologias que atuem na detecção e intervenção precoces da DA.

Existem várias técnicas por imagem pelas quais o diagnóstico na DA é realizado, sendo elas, por neuroimagem estrutural, a tomografia computadorizada (TC) e a ressonância magnética (RM) e por neuroimagem molecular e funcional, a tomografia por emissão de pósitrons (PET) e a tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT) (IBANEZ e DEIBER, 2009; CARAMELLI *et al.*, 2011).

Estudos recentes demonstram a utilização dessas técnicas como importantes ferramentas no rastreamento da demência e diagnóstico precoce e preciso da DA (FAGAN *et al.*, 2006; JACK *et al.*, 2009).

Portanto, a associação dos níveis de biomarcadores moleculares, tais como os níveis plaquetários da proteína ADAM10 a estas técnicas, juntamente com testes de avaliação cognitiva, como o MEEM e o CDR seria de eficiência muito maior, o que poderia convergir em um diagnóstico mais preciso da doença.

As necessidades de assistência contínua ao paciente com DA originam gastos importantes e relevantes para a família, pois atualmente é inexistente um sistema de atenção à saúde que prevê uma oferta suficiente de serviços necessários para uma população de síndromes demenciais com crescimento ascendente. A relevância econômica dos gastos com esses pacientes exige que sejam realizadas análises sistemáticas para fornecer aos profissionais de saúde informações, as quais darão subsídio para um suporte de planejamento assistencial de qualidade e economicamente viável para as famílias cuidadoras.

Como a DA representa uma das principais causas de acometimento da qualidade de vida do idoso e de seus familiares, e os cuidados que requer oneram tanto as

famílias quanto o governo, há grande interesse e dispêndio na promoção de pesquisas e programas de cuidado ao idoso demenciado.

Dado os desafios aqui apresentados para a construção do diagnóstico da DA, a associação de novos biomarcadores aos métodos já existentes se faz necessária. Marcadores biológicos plaquetários, como a ADAM10, se destacam, pois além de sua contribuição para o diagnóstico precoce e preciso da DA, possuem reduzido custo e método de obtenção menos invasivo, situações estas opostas aos procedimentos atualmente empregados.



Risadas e bons momentos são importantes para todos, mas estes por vezes faltam às pessoas com demência. Este cuidador numa unidade com idosos com DA em Kyoto soube trazer bom humor, risadas e boa disposição às pessoas com quem trabalhava. Fonte: ADI, 2009.

3. OBJETIVO GERAL

Verificar a relação entre o Mini-Exame do Estado Mental – MEEM e o *Clinical Dementia Rating* – CDR com a expressão da ADAM10 em dois grupos de idosos.

3.1. Objetivos Específicos

1. Descrever o perfil sociodemográfico dos dois grupos de idosos avaliados;
2. Examinar o desempenho de idosos no CDR e no Mini-Exame do Estado Mental nos dois grupos avaliados;
3. Examinar os níveis plaquetários da proteína ADAM10 nos dois grupos de idosos avaliados;
4. Correlacionar o desempenho no Mini-Exame do Estado Mental e no CDR com níveis plaquetários da proteína ADAM10 nos dois grupos de idosos avaliados;
5. Comparar o grau de associação entre o Mini-Exame do Estado Mental e o CDR com níveis plaquetários da proteína ADAM10 entre os dois grupos de idosos avaliados;
6. Examinar a acurácia da ADAM10 plaquetária como biomarcador para a DA.



Len e Bette estão casados há 63 anos. Ele cuidou dela em sua casa em Ohio, EUA, durante os primeiros anos de suas dificuldades cognitivas, até que os seus devaneios e outros problemas levaram o médico e os seus filhos a insistir que fosse institucionalizada. Len está devastado por tudo o que ela perdeu e ele também perdeu. “Em casa deixei tudo como era costume tal como se ela pudesse voltar para casa. Mas em longo prazo sei que isso não é verdade. Eu a perdi. Ela está entre nós, mas eu a perdi. Daria a minha estrela de bronze se a conseguissem trazer de volta”. Fonte: ADI, 2009.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Unidade Saúde Escola e pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos, Nº. 427/2009 (ANEXO A) e seguiu todos os aspectos éticos disciplinados pela Resolução 196/96 regulamentada pelo Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 1997).

Trata-se de um estudo experimental do tipo caso-controle, descritivo e transversal baseado nos pressupostos da pesquisa quantitativa. Foi realizado no município de São Carlos que é conhecido como “Capital da Alta Tecnologia”. Este município situa-se na região central do estado de São Paulo e foi fundado em 1857. Segundo o censo de 2000, divulgado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a população da cidade era de 192.998 habitantes, dos quais 11% apresentavam 60 anos ou mais. O novo Censo 2010, entretanto, mostra um aumento de 13% da população absoluta (221.936), sendo que 49,06% (108.875) são do sexo masculino e 50,94% (113.061) do sexo feminino. Segundo a faixa etária foi verificado um aumento de 2% na população acima de 60 anos em comparação ao censo 2000, de modo que a população absoluta de idosos registrada foi de 28.696, destes 57% do sexo feminino e 43% do sexo masculino. Dentre os dados apresentados, verifica-se também que 96,01% (213.070) da população é urbana e apenas 3,99% (8.866) rural (IBGE, 2010).

Esta pesquisa foi desenvolvida em parceria com três grupos de pesquisa. O Grupo de Pesquisa “Saúde e Envelhecimento” liderado pela Prof.^a Dr.^a Sofia Cristina Iost Pavarini do Departamento de Enfermagem da UFSCar que conta com a colaboração dos pesquisadores Prof.^o Dr.^o Francisco de Assis Carvalho do Vale do Departamento de Medicina (DMed - UFSCar) e com a Prof.^a Dr.^a Elizabeth Joan Barhan do Departamento de Psicologia (DPsico - UFSCar). O Grupo de Bioquímica e Biologia Molecular é coordenado pela Prof.^a Dr.^a Heloisa Sobreiro Selistre de Araújo do Departamento de Ciências Fisiológicas (DCF - UFSCar) e o Grupo de Pesquisa “Biologia do Envelhecimento” liderado pela pesquisadora Prof.^a Dr.^a Márcia Regina Cominetti do curso de Gerontologia da UFSCar.

4.1 Unidades de Referência e Contra Referência

Unidades de Saúde da Família (USFs)

São Carlos conta atualmente com quinze Unidades de Programa de Saúde da Família. Este Programa é voltado para a promoção, prevenção, cuidados e reabilitação da saúde das famílias. Os atendimentos são realizados nas unidades de saúde e por meio de visitas domiciliares pelos membros da equipe de saúde, em atuação interdisciplinar (médico, enfermeiro, auxiliares de enfermagem, cirurgião dentista, auxiliar de consultório dentário e agentes comunitários de saúde). São atendidas pelo programa, aproximadamente 39.768 habitantes, o que representa uma cobertura de 20% da população total do município.

Em 2007, o Grupo de Pesquisa “Saúde e Envelhecimento” coordenado pela orientadora desta pesquisa, desenvolveu com financiamento da FINEP (Financiadora de Estudos e Projetos) um banco de dados com informações de 1.200 idosos cadastrados nas Unidades de Saúde da Família de São Carlos. Entre outras informações, o banco conta com resultados de avaliações cognitivas e funcionais destes idosos, como o desempenho no Mini-Exame do Estado Mental. Naquele ano, o número de idosos cadastrados nas Unidades de Saúde da Família em dezembro de 2007 era de aproximadamente 4.700 pessoas, correspondendo a 12,8% do total de pessoas de todas as idades cadastradas.

Unidade Saúde Escola (USE)

Inaugurada no final de 2004 e localizada na área de expansão norte da UFSCar, a USE foi construída para o desenvolvimento do ensino, pesquisa e extensão na área da saúde, na qual a interdisciplinaridade é o fio condutor de suas ações. A educação e a pesquisa acontecem de forma articulada com assistência aos usuários do Sistema Único de Saúde e por meio de capacitação de recursos humanos que atuam na área da saúde. Os atendimentos são realizados por docentes, profissionais de saúde da unidade e, principalmente, por estagiários dos cursos de saúde da UFSCar, como Fisioterapia, Terapia Ocupacional, Psicologia, Enfermagem, Gerontologia, Educação Física e Medicina.

No sistema de saúde, a USE se configura como um ambulatório de média complexidade vinculado ao Departamento Regional de Saúde - DRS 3, de Araraquara, e abrange os municípios de São Carlos, Ibaté, Descalvado, Santa Rita do Passa Quatro, Porto Ferreira, Dourado e Ribeirão Bonito. As ações na USE são organizadas por Linhas de

Cuidado, a Linha de Cuidado da criança e do adolescente e a Linha de Cuidado do adulto e do idoso. Dentro de cada Linha, existe uma variedade de Programas desenvolvidos na USE, dentre os quais se destaca o Programa de Atenção ao Idoso, uma referência em demência para o município e região.

Centro Municipal de Especialidades – CEME

O CEME é um ambulatório público de referência (setor secundário) em 24 especialidades em saúde da cidade de São Carlos e microrregião. Os agendamentos são feitos diretamente nas Unidades Básicas de Saúde e Unidades de Saúde da Família. Os retornos são marcados no CEME após a consulta. Este Centro comporta as seguintes especialidades:

- Angiologia - Consulta médica ambulatorial com especialista em circulação sanguínea.
- Cardiologia - Consulta médica ambulatorial com especialista em doenças do coração.
- Cirurgia plástica - Consulta médica ambulatorial com especialista em cirurgias reparadoras.
- Cirurgias oncológicas - Consulta médica ambulatorial com especialista em cirurgias de tumores.
- Cirurgias pediátricas - Consulta médica ambulatorial com especialista em patologias cirúrgicas da infância.
- Cirurgia de Mão - atendimento médico especializado.
- Dermatologia - Consulta médica ambulatorial com especialista em problemas da pele.
- Endocrinologista - Consulta médica ambulatorial com especialista em diabetes, tireóide, obesidade, problemas com crescimento e distúrbios do colesterol e triglicérides.
- Gastroenterologia e cirurgia geral - Consulta médica ambulatorial com especialista em doenças do aparelho digestivo e/ou cirúrgicas.
- Hematologia - Consulta médica ambulatorial com especialista em doenças do sangue.
- Infectologia - Consulta médica ambulatorial com especialista em moléstias infecciosas.
- Nefrologia - Consulta médica ambulatorial com especialista em doenças dos rins.
- Neurologia - Consulta médica ambulatorial com especialista em doenças do sistema nervoso.
- Neurocirurgia - atendimento médico especializado
- Oftalmologia - Consulta médica ambulatorial com especialista em problemas oculares.
- Oftalmologia - Retinopatia Diabética - atendimento médico especializado
- Oncologia - Consulta médica ambulatorial com especialista em tumores.
- Ortopedia - Consulta médica ambulatorial com especialista em ossos, músculos e articulações.
- Otorrinolaringologia - Consulta médica ambulatorial com especialista em ouvido, nariz e garganta.
- Proctologia - Consulta médica ambulatorial com especialista em doenças do intestino grosso, reto e ânus.
- Retinopatia Diabética - atendimento médico especializado.
- Reumatologia - Consulta médica ambulatorial com especialista em doenças das articulações.

- Tisiologia - Consulta médica ambulatorial com especialista em tuberculose.
- Urologia - Consulta médica ambulatorial com especialista em problemas no aparelho urinário.
- Atendimento de Reabilitação em fisioterapia - apenas para pacientes na área de oncologia.
- Serviço de Reabilitação em Fisioterapia - assistência a pessoas com incapacidades físicas definitivas ou temporárias.
- Serviço de Reabilitação em Fonoaudiologia - assistência a pessoas de distúrbios da fala.
- Serviços de Apoio - Curativos; pequenas cirurgias e biópsias; mielograma e biópsia de medula óssea.
- Ambulatório de DST/Aids - atendimento por equipe multiprofissional de pacientes com DST/Aids.
- Ambulatório de Hepatites Virais - atendimento por equipe multiprofissional de pessoas com Hepatite B e C.
- Ambulatório de Tuberculose - atendimento por equipe multiprofissional de pessoas com hanseníase.
- Ambulatório de Tuberculose- atendimento por equipe multiprofissional de pessoas com Tuberculose.
- Ambulatório de Psiquiatria Infantil - atendimento médico e psicológico para crianças e adolescentes de 04 a 17 anos.
- Ambulatório de Genética - atendimento na área de genética.
- Ambulatório de Gastroenterologia Infantil - atendimento de distúrbios gastrointestinais infantis.
- Ambulatório de Sexualidade Humana - atendimento especializado em terapia Sexual.
- Ambulatório de Asma Grave - atendimento especializado de crianças e adolescentes até 17 anos.
- Ambulatório de Feridas - atendimento por equipe multiprofissional em lesões graves.
- Atendimento de Reabilitação em fisioterapia apenas para pacientes na área de oncologia.
- PAVAS - Programa de Atendimento a Vítimas de Abuso e Violência Sexual.
- PAD - Programa de Atendimento Domiciliar - para pacientes encaminhados pelas unidades de saúde.
- Programa Cuidando do Cuidador - reuniões com cuidadores de usuários de pacientes acamados.

Através do CEME também é possível a realização de exames especializados, como:

- Exames de apoio ao diagnóstico e tratamento.
- Eletroencefalograma - exame para diagnóstico de problemas neurológicos.
- Eletrocardiograma - exame para diagnóstico de problemas no coração.
- Teste Tuberculínico (PPD) - teste cutâneo realizado em pacientes com suspeita de tuberculose.
- Ultrassonografia - realização de exame com imagens internas dos órgãos.
- Exames especiais - autorização para realização de tomografia, ressonância magnética, densitometria, etc.
- Cirurgias não urgentes - autorização para realização de cirurgias não urgentes.

Esta pesquisa envolveu a interação entre essas três unidades de referência e contra referência no atendimento a idosos com demência no município.

4.2 Participantes

Foram sujeitos desta pesquisa pessoas com idade de 60 ou mais, usuários de três serviços de saúde do município de São Carlos, serviços de referência e contra referência em demência: USE, CEME e USFs. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (**APÊNDICE A**) foi assinado por todos os idosos ou pelo seu familiar responsável, quando este pertenceu ao Grupo com DA.

Os participantes foram divididos em dois grupos: Grupo DA e Grupo Controle. Para preservar o anonimato, a sigla DA (sujeito com doença de Alzheimer) e C (sujeito controle) seguida por um número foi utilizada para identificar cada um dos sujeitos da pesquisa.

Grupo DA. Idosos cadastrados na Unidade Saúde Escola ou Centro Municipal de Especialidades, com diagnóstico de DA leve (CDR1), moderada (CDR2) ou avançada (CDR3) de acordo com o critério NINCDS–ADRDA (MCKHAN, DRACHMAN, FOLSTEIN *et al.*, 1984).

Grupo Controle. Idosos usuários das Unidades de Saúde da Família, cadastrados no banco de dados do Grupo de Pesquisa “Saúde e Envelhecimento”, sem presença de sinais ou sintomas de declínio cognitivo ou doença neurológica (identificados através do CDR0).

4.3 Critérios de Inclusão e Exclusão

Para a inclusão dos sujeitos em seus respectivos grupos foram aplicados os seguintes critérios:

Critérios de Inclusão dos sujeitos para o Grupo DA

1. Residir no município de São Carlos;
2. Ser cadastrado nas instituições USE e/ou CEME;
3. Ter acompanhamento ou ter sido acompanhado por médico da USE ou do CEME;

4. Apresentar diagnóstico de provável DA¹ leve, moderada ou avançada de acordo com o *Clinical Dementia Rating* (CDR);
5. Estar em uso das medicações para a doença de Alzheimer (Donepezila, Rivastigmina, Galantamina e/ou Memantina).

CrITÉrios de Inclusão dos sujeitos para o Grupo Controle

1. Residir no município de São Carlos;
2. Ser usuário de uma USF;
3. Ser cadastrado no banco de dados do Grupo de Pesquisa “Saúde e Envelhecimento”;
4. Não apresentar alteração cognitiva de acordo com o CDR.

Além das características acima, todos os participantes da pesquisa (Grupo DA e Grupo Controle) deveriam ser submetidos aos critérios de exclusão, os quais se encontram apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Critérios de exclusão estabelecidos para a pesquisa.

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO²
Transtorno Depressivo Maior ³
Transtorno Bipolar ³
Esquizofrenia ³
Retardo Mental ³
Transtorno por uso de substância ³
Hidrocefalia ⁴
Massa intracraniana ⁴
Doença cerebrovascular <i>significativa</i> participando como etiologia da demência;
Alterações clinicamente significativas na vitamina B12;
Alterações clinicamente significativas na Sorologia de Sífilis;
História de Trauma craniano (clinicamente significativo em relação ao quadro demencial);
Outra doença neurológica (clinicamente significativa em relação ao quadro demencial);
Déficits Auditivos (clinicamente significativos e sem correção);
Déficits Visuais (clinicamente significativos e sem correção);
Doenças sistêmicas <i>clinicamente significativas</i> ou <i>não compensadas</i> , incluindo: DIA, HAS, Hipotireoidismo, Câncer, Doenças Hepáticas, Doenças Renais, Doenças Cardíacas, Doenças Pulmonares.
Em uso de medicações: Antiplaquetárias, Anticoagulantes e/ou Corticosteróides.

¹ De acordo com o critério NINCDS–ADRDA (Mckhan, Drachman, Folstein *et al.*, 1984).

² Extraído de Colciaghi *et al.* Platelet APP, ADAM10 and BACE alterations in the early stages of Alzheimer disease. *Neurology*. Febr., 2004.

³ De acordo com os critérios do DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders).

⁴ Por Tomografia Computadorizada ou Ressonância Magnética nos últimos 18 meses.

4.4 Métodos de Seleção dos Participantes para as Amostras

Seleção dos Participantes do CEME

Após contato e apresentação da pesquisa para a diretoria do CEME, foi obtida uma lista de pacientes atendidos pelo Programa de Medicamento Excepcional (PME)⁵ do município. Através desta lista a busca pelos pacientes cadastrados e atendidos pelo CEME teve início, de modo que todos os nomes dos pacientes foram submetidos a um Programa Computacional da Instituição, que armazena os cadastros de todos os pacientes atendidos pelo CEME com seus respectivos números de identificação. Após reconhecimento destes, foi realizada a busca dos arquivos no setor de prontuários da Instituição e análise manual das informações (nome completo, endereço, telefone de contato, diagnóstico, comorbidades e medicações em uso). Este levantamento teve duração de dois meses.

A listagem do PME era formada por 293 pacientes. Destes, 172 apresentavam cadastro no CEME, no entanto, 48 prontuários não foram encontrados. Deste modo, foram encontrados e analisados 124 prontuários. Durante esta análise, verificou-se que 32 pacientes não eram acompanhados por médicos neurologistas do CEME, reduzindo a amostra de pacientes para 92. Entre estes pacientes (92), foram aplicados os critérios de exclusão da pesquisa, de modo que 16 pacientes foram incluídos na amostra (Grupo DA), como apresentam as Figuras 10 e 11.

⁵ Conhecido popularmente como Programa de Medicamento de Alto Custo atende pacientes que necessitam de medicamentos contemplados pelas Portarias Ministerial e Estadual dentro dos critérios de inclusão e apresentação dos documentos necessários (receita médica, formulário de solicitação do medicamento preenchido pelo médico requisitante, exames que comprovem a patologia, RG, CPF, comprovante de residência). Os critérios de inclusão e exclusão, determinados pelo Protocolo Ministerial, são elaborados por uma equipe técnica de competentes médicos especialistas que têm conhecimento do quadro clínico e da resposta que o paciente terá com o uso do medicamento (BRASIL, 2006). Neste programa, qualquer pessoa com diagnóstico médico de DA pode solicitar sua medicação gratuita, tanto para os que são atendidos no Sistema Único de Saúde (SUS) quanto na rede particular.

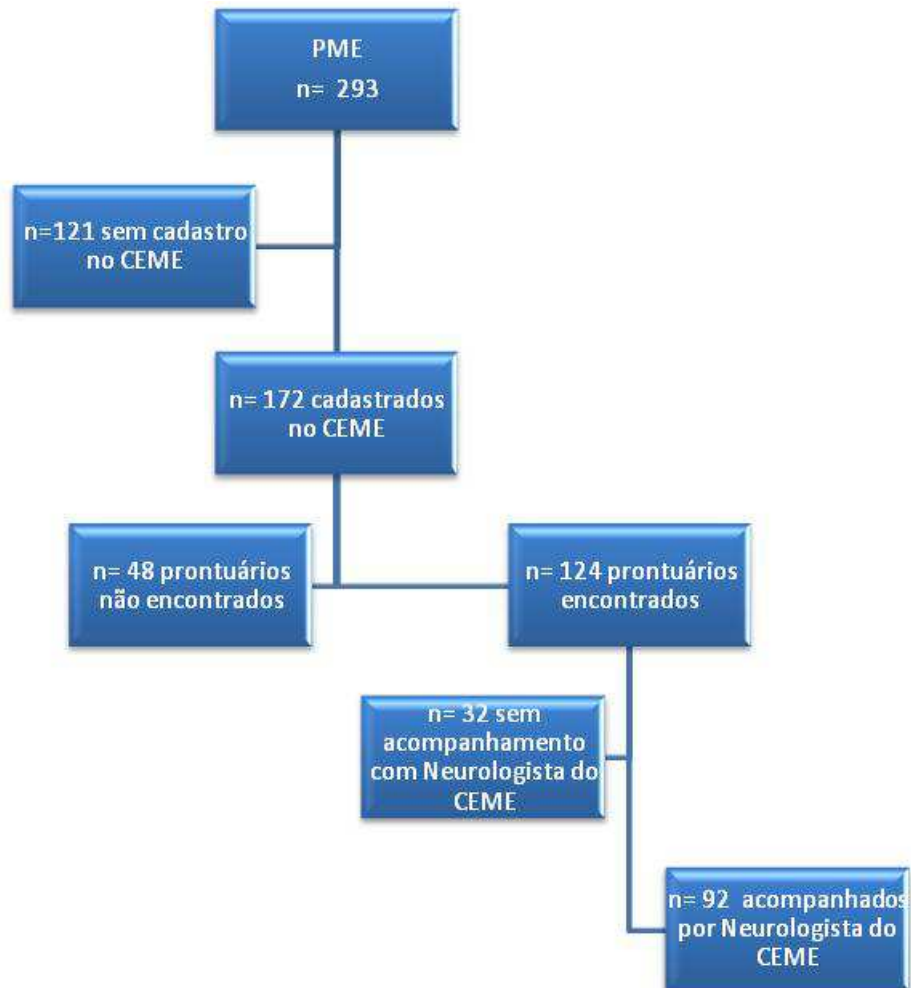


Figura 10. Organograma da metodologia de busca utilizada para os pacientes cadastrados no Programa de Medicamento Excepcional do município de São Carlos/SP em Setembro de 2010. CEME (Centro Municipal de Especialidades); PME (Programa de Medicamento Excepcional). São Carlos, 2012.

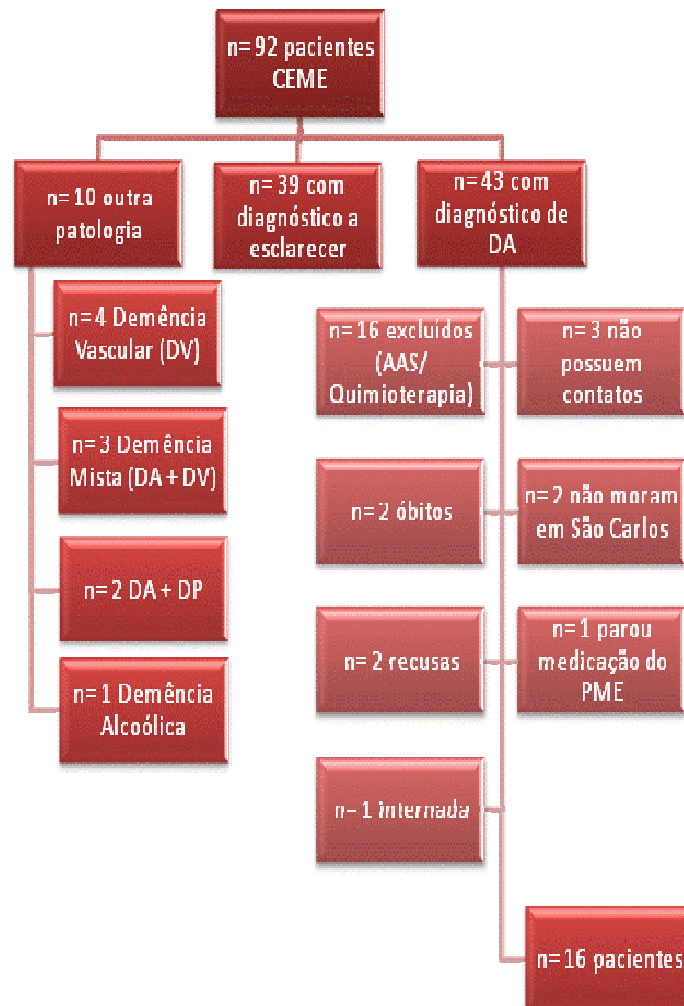


Figura 11. Organograma da metodologia de busca utilizada para descrever as características dos pacientes cadastrados no CEME. DV (demência vascular); DP (doença de Parkinson), AAS (ácido acetilsalicílico); CEME (Centro Municipal de Especialidades); DA (doença de Alzheimer); PME (Programa de Medicamento Excepcional). São Carlos, 2012

Seleção dos Participantes da USE

Após aprovação do projeto pela Comissão de Pesquisa da Instituição (**ANEXO B**) foi iniciado o processo de coleta dos dados à seção de prontuários da USE. Inicialmente, todos os Programas destinados a participantes idosos com alterações cognitivas foram rastreados, de modo que fizeram parte desta busca os seguintes Programas: Atenção ao Idoso, Saúde Mental e Atenção à Pessoa com Necessidades Especiais. Os integrantes dos Grupos - Gerontologia, Alzheimer, Atendimento Psicoterápico cognitivo comportamental para idosos com Depressão, Parkinson, Atenção à demência, COIC – Centro de Orientação ao Idoso e seu Cuidador, Estimulação cognitiva para idosos com demência e Estimulação da linguagem de pessoas com afasia por meio da musicoterapia - tiveram seus prontuários analisados.

Foram encontrados e analisados 86 prontuários, dos quais 69 foram excluídos pelos critérios de seleção da pesquisa. Os participantes excluídos pertenciam aos seguintes critérios: doença de Parkinson (n=2), Cisticercose no Sistema Nervoso Central (n=1), mudança para outra cidade (n=1), demência fronto-temporal (n=2), diagnóstico a esclarecer (n=7), demência vascular (n=26), paciente em uso de AAS (n=9), óbito (n= 6), demência por Corpos de Lewy (n=1), quadro depressivo isolado (n=10), demência orgânica (n=1), CCL (n=2) e paciente internado (n=1). Ao final, foram selecionados para a pesquisa n=17 pacientes com diagnóstico clínico de doença de Alzheimer, como mostra a Figura 12.

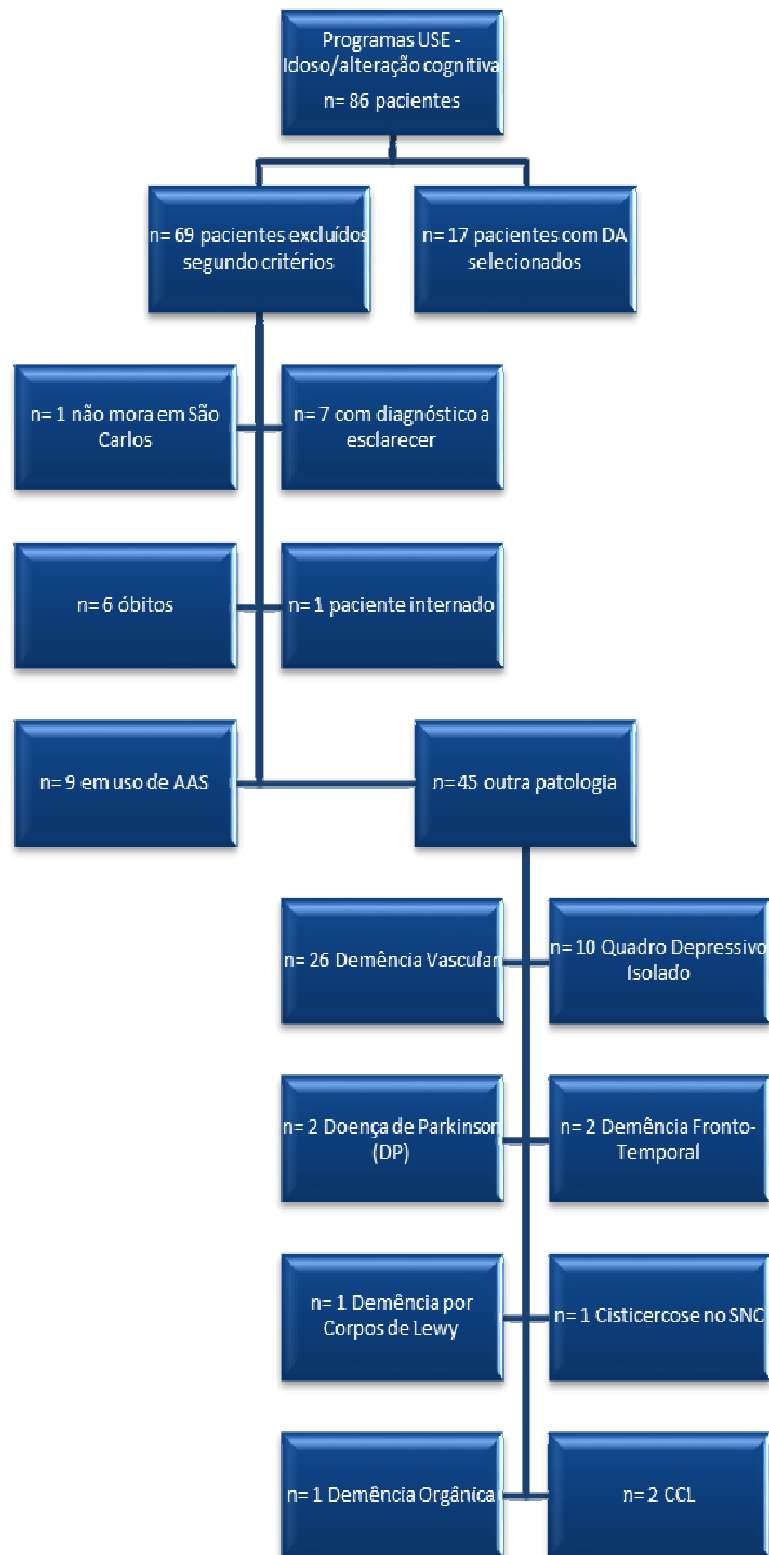


Figura 12. Organograma da metodologia de busca utilizada para os pacientes com DA cadastrados na USE. DP (doença de Parkinson), AAS (ácido acetilsalicílico); DA (doença de Alzheimer); CCL (Comprometimento cognitivo leve); SNC (Sistema Nervoso Central); USE (Unidade Saúde Escola). São Carlos, 2012.

4.5 Procedimentos para a coleta de dados

Inicialmente, a mestranda se submeteu ao curso de capacitação para aplicação do CDR, sendo devidamente treinada e habilitada para esta avaliação. Este curso é disponibilizado *online* pelo Centro de Pesquisa em doença de Alzheimer da Universidade de Washington (UW), St. Louis (USA) e conta com nove módulos de ensino. Somente após a realização do curso e do acerto mínimo de 80% nas avaliações o certificado é emitido, permitindo que o profissional de saúde possa aplicar o CDR.

A coleta dos dados teve início com os pacientes do Grupo DA. Esta coleta ocorreu entre os meses de Janeiro à Abril de 2011. Através de contato prévio por telefone foi agendada uma visita domiciliar. Na entrevista realizada no domicílio do idoso, era explicado o objetivo da pesquisa e após a assinatura do TCLE, iniciava-se a entrevista coletando dados pessoais e socioeconômicos através da Ficha de Caracterização dos Sujeitos (**APÊNDICE B**) assim como a aplicação do instrumento CDR com o familiar e o idoso. Nos casos dos idosos com DA o cuidador/familiar também deveria assinar o TCLE. Em seguida era agendada uma avaliação do idoso nas dependências da Unidade Saúde Escola. A coleta de dados na USE constituiu-se da aplicação do MEEM em sala de atendimento individual, para avaliação ou reavaliação das condições cognitivas, a qual foi realizada sempre pelo mesmo pesquisador e da realização da coleta do material biológico (sangue) pelos profissionais de enfermagem da Unidade Saúde Escola.

No mês de Março de 2011 foram iniciadas as avaliações neurológicas, realizadas pelo Ambulatório de Neurologia Cognitiva e Comportamental da USE (ANCC-USE) sob a coordenação do Prof.º Dr.º Francisco de Assis Carvalho do Vale. Essas avaliações compreendiam anamnese, exame físico e neurológico completo e aplicação do protocolo do ANCC-USE. Estas avaliações foram necessárias para padronizar os diagnósticos dos idosos uma vez que estes eram atendidos em dois serviços diferentes. Reuniões sistemáticas de discussão de casos para o consenso foram realizadas durante o primeiro semestre de 2011.

Até meados do mês de Abril todas essas ações foram focadas nos sujeitos pertencentes ao Grupo DA. Em seguida, foi realizada uma busca no Banco de Dados do Grupo de Pesquisa Saúde e Envelhecimento, por idosos cadastrados nas Unidades de Saúde da Família do município em 2007 e com pontuação no MEEM acima da nota de corte, totalizando 703 idosos dos 1200 avaliados. Foram então realizados os pareamentos da amostra, segundo escolaridade (considerando a nota de corte no MEEM), sexo e idade, através dos auxílios do Programa Computacional Microsoft Office Excel 2007. Assim, foram

selecionados os possíveis pacientes controles. A partir de maio de 2011, foram realizadas visitas domiciliares aos pacientes pertencentes ao Grupo Controle.

Portanto, ao final, nossa amostra ficou constituída por 30 idosos com doença de Alzheimer (Grupo DA) e um Grupo Controle de 25 idosos pareados por sexo, idade e grau de escolaridade, totalizando 55 sujeitos. O poder amostral encontrado foi de 99,5%.

Aplicação do Mini-Exame do Estado Mental e Coleta do Material

Biológico

Todos os sujeitos da pesquisa foram submetidos à aplicação individual do MEEM. Após agendamento da consulta por contato telefônico, a aplicação do instrumento MEEM e a coleta de sangue ocorriam no mesmo dia, de modo que primeiramente o paciente era dirigido até a sala de atendimento individual com a pesquisadora principal, na maioria das vezes com a presença do cuidador e/ou familiar. Estas intervenções tiveram aproximadamente 15 minutos de duração para cada paciente.

Em alguns casos os idosos foram buscados em domicílio para o desenvolvimento desta etapa, devido à falta de conduções ou dificuldades motoras importantes.

Posteriormente a aplicação do MEEM, o idoso e seu cuidador eram encaminhados até a Enfermaria da USE, localizada no Bloco 2 da unidade para a realização da coleta de sangue pela equipe de enfermagem, e com acompanhamento da pesquisadora principal desta pesquisa.

4.6 Instrumentos

Mini-Exame do Estado Mental (MEEM) (Brucki *et al.*, 2003) (**ANEXO C**): o MEEM é um instrumento de rastreamento de deterioração cognitiva, utilizado internacionalmente, que fornece informações sobre diferentes dimensões cognitivas. Sinaliza se é provável que haja alguma alteração cognitiva e em que área ocorre. Foi utilizada a versão sugerida de Bruck *et al.* (2003), versão 30 pontos. Neste trabalho, optou-se também pela análise da Razão do MEEM, que é a pontuação obtida pelo idoso dividido pela sua nota de corte. Esta razão se mostra relevante, de modo que a escolaridade assim como a diferença entre estes parâmetros pode ser considerada.

Clinical Dementia Rating (CDR) (ANEXO D): A Escala de Avaliação Clínica da Demência foi desenvolvida em 1979 por Hughes *et al.* (1982) e adaptada por Morris (1993) na Universidade de Washington (UW), St. Louis, Missouri, USA, com o objetivo de graduar a demência, em especial na doença de Alzheimer, além de identificar casos questionáveis, ou seja, aqueles que não são enquadrados como normais. Sua versão para o português do Brasil foi primeiramente validada por Montañó e Ramos em 2005 e por Maia *et al.*, 2006, sendo esta última, a opção adotada neste estudo.

Ficha de Caracterização dos Idosos (APÊNDICE B): foi construído um instrumento para a caracterização dos idosos, contendo dados como nome, sexo, idade, data de nascimento, endereço, nível de escolaridade, ocupação, renda, entre outros.

4.7 Procedimentos Laboratoriais

Processamento do sangue e preparação das plaquetas

O sangue dos sujeitos da pesquisa foi coletado pela equipe de Enfermagem da Unidade Saúde Escola e pela técnica do Laboratório do Departamento de Enfermagem da UFSCar.

Tubos contendo solução de citrato de sódio (3,8%) e glicose (136 mM) foram utilizados para coleta do sangue (8,5ml). Após as coletas, os tubos eram mantidos a temperatura de 4°C durante o período de armazenamento e transporte. Os tubos contendo anticoagulante foram, imediatamente após a coleta, transportados até o Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular (LBBM), misturados por inversão e então centrifugados a 1.200 rpm por 10 minutos, obtendo-se assim o plasma rico em plaquetas (PRP), o qual foi congelado à temperatura de -80°C até o momento do uso.

A partir do PRP, as plaquetas foram coletadas por centrifugação a 2.400 rpm por 10 minutos, em seguida lavadas 2x em solução de Tampão fosfato salino (PBS) (250 µL em cada eppendorf) a 3.000 rpm por 10 minutos. Em seguida as plaquetas foram ressuspensas em 100 µL de tampão de lise (RIA Buffer) composto por NaCl 200mM, EDTA 10 mM, Na₂HPO₄ 10 mM, NP40 0,5%, SDS 0,1% e inibidores de protease (Sigma Fast).

Posteriormente, foi realizada uma nova centrifugação das amostras para separação dos sobrenadantes, os quais foram utilizados para mensuração das concentrações proteicas utilizando o *kit Bradford* (BioRad). O conteúdo proteico das amostras (100 µg) foi

separado através de eletroforese em gel de poliacrilamida 10% (SDS-PAGE - *Sodium dodecyl sulfate poliacrilamide gel electrophoresis*) (LAEMMLI, 1970) e transferido para membranas de nitrocelulose.

SDS-PAGE e Western Blotting

Após medida da concentração proteica, o volume necessário para obtenção total de 100 µg de proteína para cada amostra foi diluído em 10 µL de tampão de amostra para SDS-PAGE (LAEMMLI, 1970) [Tris-HCl 0,125M pH 6,8, SDS 4% (w/v), glicerol 20% (v/v), β-mercaptoetanol 0,1M e azul de bromofenol 0,02% (w/v)]. Antes da aplicação no gel, as amostras foram fervidas a 100 °C por 5 minutos no banho seco, desnaturando as proteínas, desenovelando-as completamente, a fim de facilitar a separação das mesmas durante a corrida eletroforética. Um volume de 10 µL do marcador padrão de massa molecular *Page-Ruler Prestained* (Fermentas) foi utilizado em todas as corridas.

A corrida da eletroforese foi realizada durante 90 minutos a 120 V e em seguida as proteínas presentes no gel foram transferidas para membranas de nitrocelulose (Sigma) através do sistema de transferência *Mini Trans-Blot Cell* (BioRad) em tampão Tris-HCl (25 mM), glicina (92 mM), metanol (20%) e SDS (0,1%). A transferência foi realizada a 350 mA (mili-Ampéres) durante uma hora.

Para confirmar a eficiência da transferência, o gel de poliacrilamida foi corado com 0,25% de *Comassie Blue R-250* (Sigma) dissolvido em 50% de isopropanol e 10% de ácido acético e a membrana de nitrocelulose foi corada com Ponceau 0,5% (m/v) em ácido acético 0,1% (v/v).

Para os próximos passos, o kit *Amplified Opti-4CN Substrate* (BioRad) foi utilizado. Após a transferência proteica para as membranas, estas foram mantidas em solução de bloqueio (*Blocker 3%* - BioRad) por uma hora. As membranas foram então incubadas em 10 mL do anticorpo primário anti-*ADAM10 (A-3) Mouse Monoclonal SC-48400* (Santa Cruz Biotechnology) (1:100) por uma hora, seguido pela incubação em 10 mL do Anticorpo secundário *Goat Anti-Mouse IgG-HRP SC-2005* (Santa Cruz Biotechnology) (1:2000) por uma hora. A diluição dos anticorpos foi realizada em solução de *PBST1x/BSA 1%* e a incubação em temperatura ambiente, com leve agitação em plataforma agitadora.

Posteriormente, as membranas foram incubadas no reagente *BioRad Amplification (BAR 1x)* por 10 minutos e lavadas 4x em 20% *DMSO/PBST* por 5 minutos. Em seguida, as membranas foram incubadas em solução de *Streptavidin-HRP* (1:1000 em solução

PBST1x/BSA 1%) por 30 minutos e reveladas por detecção colorimétrica com *Opti-4CN Substrate Kit* (BioRad). Em todas as lavagens das membranas, realizadas entre as etapas do protocolo, foi utilizada a solução PBST 1x (2x por 5 minutos cada).

O protocolo para detecção da β -actina (controle endógeno) seguiu os mesmos procedimentos da ADAM10. As membranas foram incubadas no anticorpo anti- β -actina (1-19) conjugado a HRP SC-1616 (Santa Cruz Biotechnology) (1:200 em PBST1x/BSA1%).

Densitometria das bandas

Após a revelação da membrana no experimento de *Western Blotting*, as bandas marcadas pela reação com os anticorpos (anti-ADAM10 e anti- β -actina) foram quantificadas com auxílio do software *Quantity One* (BioRad). Utilizou-se como parâmetro para análise o volume ajustado das bandas, que significa o volume total, diminuído do *background*.

Para a quantificação das amostras foi implantada a análise cega dos sujeitos.

4.8 Procedimentos para análise dos dados

O método da análise estatística dos dados é apresentado de forma resumida segundo o fluxograma da Figura 13.

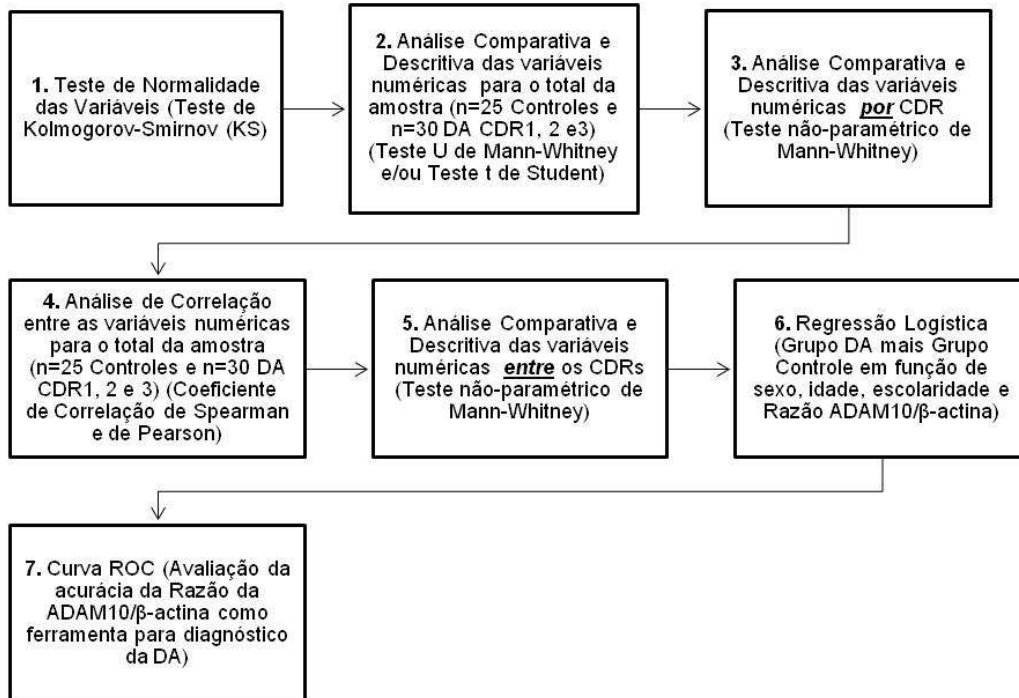


Figura 13. Fluxograma dos procedimentos implementados na análise estatística. São Carlos, 2012.

Os testes estatísticos e os gráficos foram construídos utilizando-se os *softwares* GraphPad Prism 5, Matlab 2009 e Stata 9.2. O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5%, ou seja, $p < 0,05$ e notação do p -valor de $*p < 0,05$; $**p < 0,01$; $***p < 0,001$ e $****p < 0,0001$.



Assim que Mandakini tornou-se mais confusa, ficou claro que ela não poderia mais viver sozinha. Dois de seus filhos indicaram que não poderiam cuidar dela, porque tinham filhos pequenos. Seu outro filho Satish e sua esposa Neha, que também têm crianças, a levaram para sua casa, onde cuidam dela com o auxílio de um cuidador profissional. A neta Srushti de oito anos encontrou maneiras de se relacionar com sua avó e sua irmã de dois anos de idade não demonstra nenhum medo. Apesar de Mandakini falar muito pouco, Srushti descobriu que sua avó gosta de cânticos religiosos que foram importantes para ela durante toda sua vida. Agora elas cantam juntas. Fonte: ADI, 2010.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização socioeconômica dos idosos

A Tabela 5 apresenta os dados socioeconômicos dos 30 idosos pertencentes ao Grupo DA e dos 25 idosos do Grupo Controle. Os dados estão distribuídos segundo o sexo, faixa etária, grau de escolaridade, comorbidades e renda do idoso.

Tabela 5. Dados socioeconômicos gerais dos sujeitos do Grupo DA e Grupo Controle. São Carlos, 2012.

	GRUPO DA		GRUPO CONTROLE		
	n	%	n	%	
Sexo					<i>p</i> valor* 0,8454
Feminino	20	67	16	64	
Masculino	10	33	9	36	
Faixa Etária					<i>p</i> valor* 0,5366
60-69	7	23	6	24	
70-79	11	37	12	48	
80-89	11	37	6	24	
90-	1	3	1	4	
Grau de Escolaridade					<i>p</i> valor* 0,9419
Alfabetização de Adultos	2	7	0	0	
Ensino Fundamental incompleto	17	57	17	68	
Ensino Fundamental incompleto + Alfabetização de adultos	1	3	0	0	
Ensino Fundamental completo	1	3	1	1	
Ensino Médio completo	3	10	3	12	
Ensino Superior	6	20	4	16	
Comorbidades					<i>p</i> valor* 0,7307
hipertensão (HAS)	6	20	10	40	
diabetes (DIA)	2	7	1	4	
hipotireoidismo (HIPOT)	3	10	1	4	
HAS + DIA	6	20	1	4	
HAS + HIPOT	2	7	0	0	
HAS + DIA + HIPOT	1	3	1	4	
Ausência	10	33	11	44	
Renda do Idoso					<i>p</i> valor* 0,6616
de 1/2 a 1 salário mínimo	6	20	2	8	
de 1 a 2 salários mínimos	9	30	13	52	
de 2 a 3 salários mínimos	8	27	3	12	
de 3 a 4 salários mínimos	2	7	3	12	
de 4 a 5 salários mínimos	1	3	3	12	
de 5 a 6 salários mínimos	0	0	1	4	
de 6 a 7 salários mínimos	1	3	0	0	
acima de 7 salários mínimos	1	3	0	0	
Sem renda própria	2	7	0	0	

* *p*-valor referente ao teste U de Mann-Whitney.

O Grupo DA compreendeu 30 idosos, sendo 20 (67%) do sexo feminino e 10 (33%) do sexo masculino. Esta mesma proporção foi verificada no Grupo Controle, dos quais 16 (64%) são do sexo feminino e 9 (36%) do sexo masculino (Tabela 5).

Estes números são semelhantes aos encontrados por Colciaghi *et al.* (2002), em um estudo feito com 59 idosos (33 com DA e 26 controles pareados pela idade). Esta pesquisa mostrou que aproximadamente 63% da amostra total eram do sexo feminino e que dentre os grupos (DA e Controle), observa-se respectivamente 61% e 65% desta correspondência.

Marra *et al.* (2007) realizaram um estudo a fim de avaliar e comparar o desempenho cognitivo de idosos em diferentes níveis de demência. Participaram deste estudo 90 idosos com diagnóstico clínico de demência e atendidos pelo Centro de Referência ao Idoso de Minas Gerais. Os achados mostraram a predominância do sexo feminino (76%) na amostra.

Em Colciaghi *et al.* (2004), esta mesma proporção foi verificada, de modo que dos 46 idosos participantes (31 com DA e 15 controles pareados pela idade), 61% eram do sexo feminino. Esta observação também foi mantida dentro dos grupos da pesquisa, sendo representada por 61% no DA e 60% no controle. Em Lenardt *et al.* (2011), 55 idosos com DA foram submetidos a avaliações das atividades básicas e instrumentais da vida diária, de modo que 74,55% da amostra era formada por mulheres. Assim, pode-se verificar que o predomínio do sexo feminino na DA observado neste estudo corrobora com achados de outras pesquisas recentes.

Com relação à faixa etária, verifica-se que a maior concentração dos idosos encontra-se acima dos 70 anos de idade para ambos os Grupos (Tabela 5), sendo que a média de idade do Grupo DA foi de 76,06 anos com desvio padrão (DP) de 7,70 e no Grupo Controle média de 75,74 anos com DP de 6,95. Estes dados vão de encontro com os observados por Lemos, Gazzola e Ramos (2006), Morra *et al.* (2007) e Lenardt *et al.* (2011), no qual o predomínio da demência se estabeleceu na idade média de 79,17; 75,46 e 76,24 anos respectivamente. Dados semelhantes também foram encontrados por Nitrini *et al.* (2009), com o objetivo de verificar o perfil epidemiológico e a prevalência da DA em estudos da América Latina (AL). Os resultados mostraram que o sexo feminino é predominante entre os idosos tanto nos estudos da AL quanto em estudos Europeus e tal relação é ainda maior com o avanço da idade.

Segundo o grau de escolaridade observa-se nos grupos o predomínio do Ensino Fundamental Incompleto, sendo 57% no Grupo DA e 68% no Grupo Controle. No Grupo DA, a Alfabetização de Adultos e esta associada ao Ensino Fundamental Incompleto foi

representada por 3 idosos, entretanto, no Grupo Controle não foi observada tal escolaridade na amostra. O Ensino Fundamental Completo apresentou $n = 1$ idoso para ambos os grupos, seguido do Ensino Médio Completo $n = 3$ idosos e pelo Ensino Superior, sendo observado $n = 6$ idosos com DA e $n = 4$ idosos Controles. Verifica-se deste modo, que há o predomínio de até quatro anos de estudo entre os pacientes com DA (Ensino Fundamental Incompleto). Estes resultados corroboram com Lemos, Gazzola e Ramos (2006), no qual 62,1% dos idosos com DA apresentavam até quatro anos de estudo. Dados semelhantes foram registrados no estudo de Luzardo, Gorini e Silva (2006), no qual a escolaridade de idosos com DA variou em torno de quatro anos.

A maioria dos idosos apresenta renda de um a dois salários mínimos, 30% e 52%, para os Grupos DA e Controle respectivamente. No Grupo DA verifica-se ainda que $n = 8$ idosos possuem renda de dois a três salários mínimos e $n = 6$ de meio a um salário mínimo. Nenhum idoso deste grupo referiu renda entre 5-6 salários mínimos. Ressalta-se que duas idosas não possuem nenhuma fonte de renda própria. Entre o Grupo Controle, houve representação de 12% dos idosos para as faixas de renda de dois a três, três a quatro e quatro a cinco salários mínimos. Apenas $n = 2$ idosos (8%) possuem renda entre meio a um salário mínimo e 4% de cinco a seis. As demais faixas não foram verificadas neste grupo.

Associado a estes dados, destaca-se a distribuição geográfica dos idosos participantes da pesquisa no município de São Carlos (Figura 14). As marcações em verde representam os idosos do Grupo Controle e as marcações em vermelho correspondem ao Grupo DA.

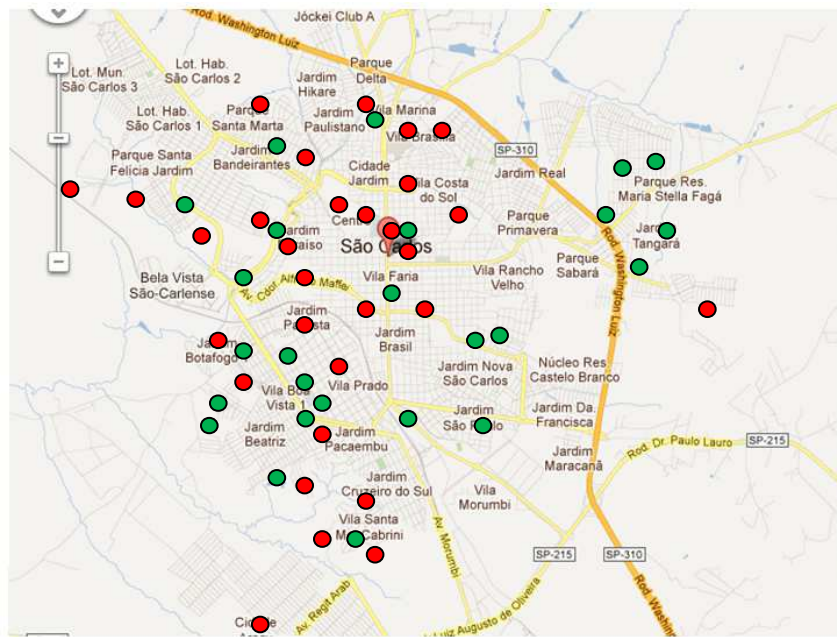


Figura 14. Distribuição geográfica dos idosos da pesquisa (Grupo DA em vermelho e Grupo Controle em verde). São Carlos, 2012.

Observa-se uma apropriada distribuição dos participantes para o Grupo DA e Controle. Sendo assim, os fatores socioeconômicos também foram adequadamente pareados, de modo que idosos em diferentes contextos sociais fizeram parte da amostragem de ambos os grupos.

Em relação à renda total da família, no Grupo DA, verifica-se que oito idosos são totalmente responsáveis pela renda familiar; três por 75% da renda; quatro por 67%; um por 60%; seis por 50%; um por 40%; três por 30%, dois por 25% e duas idosas não apresentam nenhuma renda. No Grupo Controle, a responsabilidade pela renda total da família também foi observada em oito idosos; três por 80% da renda; oito por 70 a 75%; um por 60%; dois por 50% e três por 20 a 30% da renda familiar. Deste modo, é possível observar em ambos os grupos a importante contribuição financeira dos idosos dentro das famílias.

Estes dados corroboram com Souza, Skubs e Brêtas (2007) onde afirmam que na dinâmica familiar os idosos se mostram cada vez mais ativos, seja sustentando ou contribuindo no sustento dos membros da família. Rosa (2004) ainda salienta que na literatura raramente é citado o papel do idoso como cuidador ou provedor de apoio e sustento familiar.

A grande maioria dos idosos com DA ($n = 19$), ou seja, 63% mora com seus cônjuges juntamente com outros membros familiares, sendo assim pode-se observar o auxílio de outras rendas no sustento da família. No Grupo Controle esta situação foi observada em

oito famílias (32%). Residem somente com seus cônjuges $n = 11$ (37%) do Grupo DA e $n = 13$ (52%) do Grupo Controle, fato este que torna de maior relevância a renda dos idosos com doença de Alzheimer nestas situações.

Esta diferença entre os grupos pode ser explicada pela presença da DA, de modo que o suporte e o convívio familiar multigeracional na mesma residência é observado na maioria das famílias dos idosos com DA. Dados semelhantes foram encontrados em um estudo realizado com 49 idosos de um município do interior paulista, no qual o número médio de três pessoas vivendo junto com o idoso demenciado foi observado. 32,6% destes idosos residiam com mais duas outras pessoas na mesma residência e 20% viviam com mais três pessoas (PAVARINI *et al.*, 2008).

Perante os cuidados que a DA exige, o convívio multigeracional torna-se de grande importância à medida que os membros da família podem assumir papéis de cuidadores secundários, com conseqüente diminuição da sobrecarga do cuidador principal (GONÇALVES *et al.*, 2006).

Os quadros de comorbidades também se apresentaram muito significativos entre os sujeitos selecionados, de modo que para ambos os grupos foi observada a prevalência de alguma patologia (hipertensão, diabetes melitus ou hipotireoidismo), 67% e 56% nos Grupos DA e Controle respectivamente (Tabela 5).

Entretanto, segundo os critérios de exclusão estabelecidos estas comorbidades estavam controladas e não eram significativamente relevantes no quadro demencial da doença de Alzheimer. No Grupo DA, em ordem decrescente de porcentagem, 20% do total de idosos ($n = 6$) apresentaram somente hipertensão, 10% ($n = 3$) somente quadro de hipotireoidismo e 7% ($n = 2$) somente diabetes mellitus. Alguns idosos também apresentaram associações destas três patologias. Sendo assim, encontrou-se que 20% dos idosos selecionados tinham hipertensão e diabetes mellitus, 7% hipertensão e hipotireoidismo e 3% ($n = 1$) apresentaram hipertensão, diabetes mellitus e hipotireoidismo. No Grupo Controle, a hipertensão isolada foi representada por 40% da amostra; 4% apresentaram diabetes mellitus isolado, hipotireoidismo isolado, hipertensão associada ao diabetes ou associação entre as três doenças (hipertensão, diabetes e hipotireoidismo). A ausência de comorbidades foi identificada entre 33% dos idosos do Grupo DA e 44% do Grupo Controle (Tabela 5).

A partir destes dados, verifica-se que a presença de comorbidades é representativa diante de ambos os grupos, sendo a hipertensão arterial a doença de maior prevalência entre os casos. O estudo de Feliciano, Moraes e Freitas (2004), realizado na cidade de São Carlos, analisou os dados de 593 idosos e identificou que destes a hipertensão

arterial foi referida por 61% e o diabetes mellitus por 20%. Dados semelhantes foram identificados por Rodrigues *et al.* (2008) em estudo de 195 idosos atendidos por um serviço ambulatorial de Ribeirão Preto - SP, no qual a prevalência da hipertensão arterial atingiu a marca de 72,3% entre as comorbidades relatadas pelos idosos.

Observa-se desta forma, que diante das características socioeconômicas apresentadas entre os dois grupos de idosos, as diferenças dos *p* valores não foram estatisticamente significantes para nenhuma das variáveis analisadas, conforme mostra a Tabela 5.

5.2 Desempenho no CDR e no MEEM pelos idosos do Grupo DA e Grupo Controle.

O grau clínico da demência na doença de Alzheimer foi identificado através do instrumento CDR e os resultados podem ser visualizados no Gráfico 6. Observa-se que dentre os 30 sujeitos com doença de Alzheimer, $n = 10$ (33%) estão no estágio 1 (Demência Leve), $n = 11$ (37%) no estágio 2 (Demência Moderada) e $n = 9$ (30%) no estágio 3 (Demência Grave).

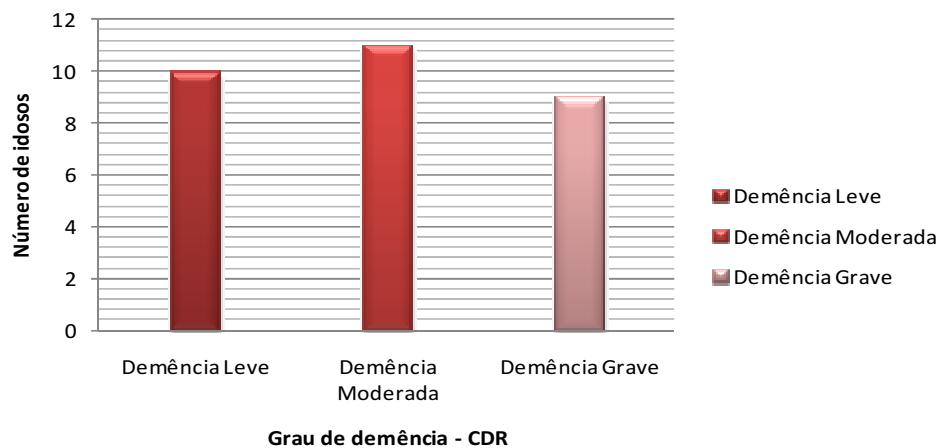


Gráfico 6. Distribuição do número de idosos com doença de Alzheimer segundo o CDR. São Carlos, 2012.

A Tabela 6 ilustra as pontuações obtidas no MEEM segundo a nota de corte (estabelecida segundo o grau de escolaridade) entre os sujeitos com DA e seus respectivos controles.

Tabela 6. Pontuação obtida pelos idosos com DA e Controles no CDR e MEEM. São Carlos, 2012.

Sujeitos com DA	CDR	MEEM	Sujeitos Controles	CDR	MEEM
DA-8	1	22/21	C-17	0	24/21
DA-12	1	10/24	C-19	0	25/24
DA-19	1	21/24	C-18	0	28/24
DA-20	1	12/21	C-10	0	25/21
DA-23	1	14/21	C-4	0	24/21
DA-28	1	11/26			
DA-33	1	23/24	C-20	0	29/24
DA-36	1	13/21			
DA-38	1	15/24	C-16	0	28/24
DA-44	1	21/26	C-29	0	28/26
DA-7	2	12/24	C-8	0	29/24
DA-27	2	15/24	C-12	0	29/24
DA-9	2	11/26	C-5	0	29/26
DA-30	2	14/21	C-27	0	26/21
DA-32	2	6/24			
DA-3	2	9/24			
DA-34	2	10/24	C-2	0	25/24
DA-13	2	22/26	C-28	0	27/26
DA-45	2	10/26			
DA-46	2	19/24	C-14	0	26/24
DA-2	2	14/24	C-1	0	25/24
DA-29	3	6/26	C-13	0	27/26
DA-21	3	0/26	C-6	0	28/26
DA-37	3	3/24	C-21	0	28/24
DA-40	3	0/21	C-25	0	26/21
DA-41	3	0/24	C-22	0	30/24
DA-42	3	0/26	C-26	0	30/26
DA-43	3	0/26	C-23	0	30/26
DA-16	3	0/26	C-15	0	29/26
DA-26	3	4/24	C-7	0	27/24

Ressalta-se que o número de sujeitos do Grupo Controle ($n = 25$) foi menor que o número de sujeitos do Grupo DA ($n = 30$) porque um mesmo sujeito controle pode ser pareado em mais de uma situação.

5.3 Expressão da proteína ADAM10 nos idosos do Grupo DA e Grupo Controle

A análise da expressão da proteína ADAM10 foi realizada por comparação entre os sujeitos controles (n = 25) e sujeitos com DA (n = 30), pareados por sexo, idade e grau de escolaridade, classificando os pacientes de acordo com o CDR.

A expressão da proteína ADAM10 foi relativizada pela expressão da proteína que serviu de controle endógeno, a β -actina, que migra no gel de SDS-PAGE com uma banda de massa molecular de 43 kDa. Esta proteína foi utilizada, pois sua quantidade não varia de sujeito para sujeito, servindo assim, de controle adicional do nível de expressão da ADAM10.

As figuras 15 a 22 ilustram as imagens das membranas obtidas através do método *Western Blotting*. A proteína ADAM10 apresenta banda de massa molecular 60 kDa e sua presença está esquematizada em sequência com seus respectivos controles. Abaixo da ADAM10, constam as imagens referentes à banda β -actina correspondente a cada sujeito.

Os dados referentes ao valor da ADAM10 bruta, β -actina, razão ADAM10/ β -actina, MEEM bruto e razão MEEM de todos os sujeitos da pesquisa constam no APÊNDICE C.

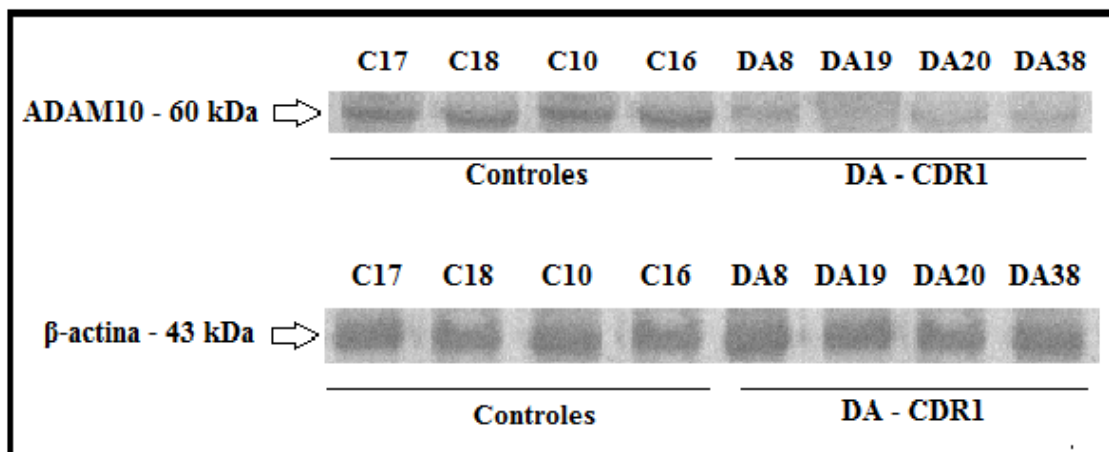


Figura 15. As plaquetas dos sujeitos pertencentes ao Grupo Controle (C) e dos sujeitos com DA, classificados como CDR1, foram coletadas, lisadas e o conteúdo proteico foi aplicado em gel de poliacrilamida (10%). As proteínas foram transferidas para membrana de nitrocelulose e incubadas com anticorpo anti-ADAM10 ou anti- β -actina. A revelação das bandas foi realizada utilizando o *kit Amplified Opti-4CN Substrate* (BioRad). As membranas foram escaneadas e a imagem das bandas específicas para a banda da ADAM10 e β -actina estão apresentadas nesta figura. São Carlos, 2012.

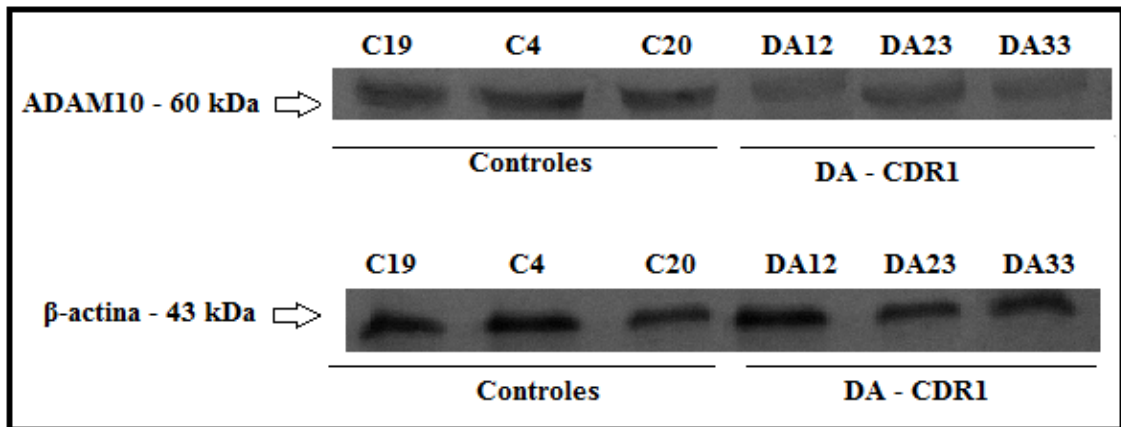


Figura 16. As plaquetas dos sujeitos pertencentes ao Grupo Controle (C) e dos sujeitos com DA, classificados como CDR1, foram coletadas, lisadas e o conteúdo proteico foi aplicado em gel de poli-acrilamida (10%). As proteínas foram transferidas para membrana de nitrocelulose e incubadas com anticorpo anti-ADAM10 ou anti- β -actina. A revelação das bandas foi realizada utilizando o *kit Amplified Opti-4CN Substrate* (BioRad). As membranas foram escaneadas e a imagem das bandas específicas para a banda da ADAM10 e β -actina estão apresentadas nesta figura. São Carlos, 2012.

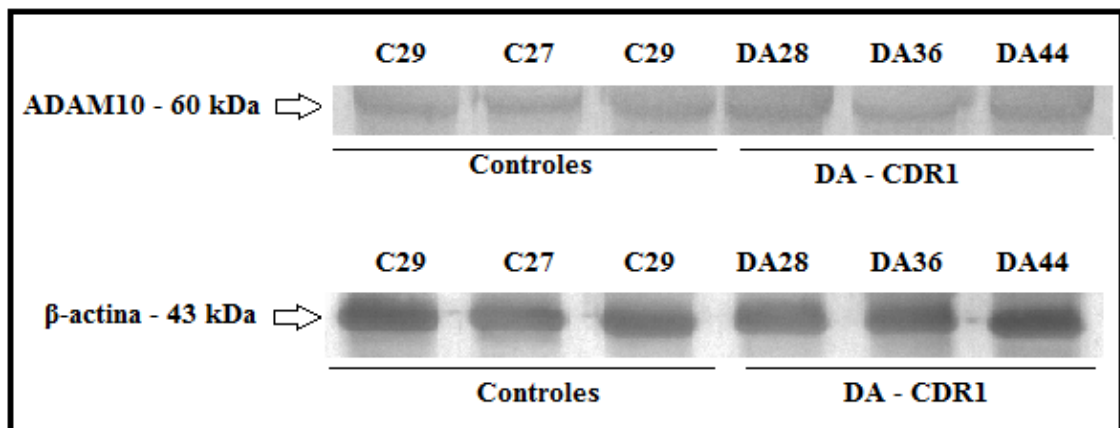


Figura 17. As plaquetas dos sujeitos pertencentes ao Grupo Controle (C) e dos sujeitos com DA, classificados como CDR1, foram coletadas, lisadas e o conteúdo proteico foi aplicado em gel de poli-acrilamida (10%). As proteínas foram transferidas para membrana de nitrocelulose e incubadas com anticorpo anti-ADAM10 ou anti- β -actina. A revelação das bandas foi realizada utilizando o *kit Amplified Opti-4CN Substrate* (BioRad). As membranas foram escaneadas e a imagem das bandas específicas para a banda da ADAM10 e β -actina estão apresentadas nesta figura. São Carlos, 2012.

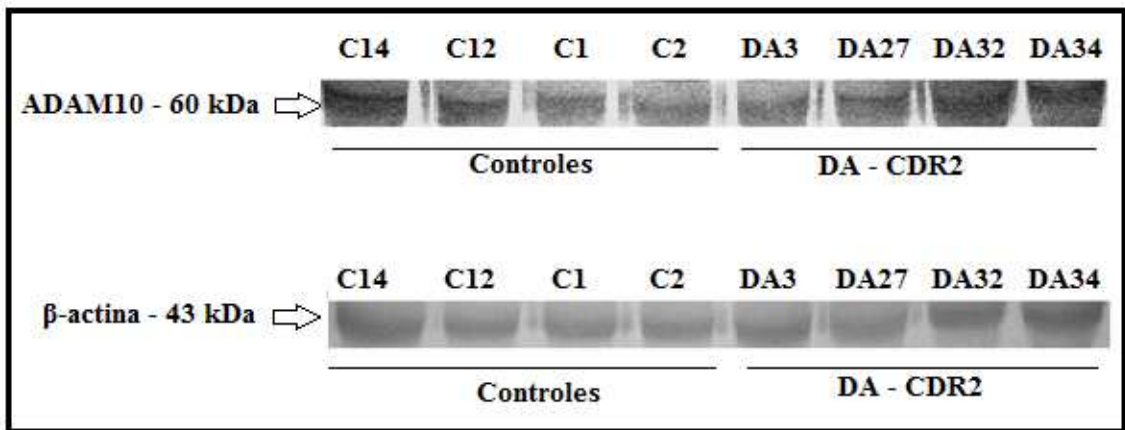


Figura 18. As plaquetas dos sujeitos pertencentes ao Grupo Controle (C) e dos sujeitos com DA, classificados como CDR2, foram coletadas, lisadas e o conteúdo proteico foi aplicado em gel de poliacrilamida (10%). As proteínas foram transferidas para membrana de nitrocelulose e incubadas com anticorpo anti-ADAM10 ou anti-β-actina. A revelação das bandas foi realizada utilizando o *kit Amplified Opti-4CN Substrate* (BioRad). As membranas foram escaneadas e a imagem das bandas específicas para a banda da ADAM10 e β-actina estão apresentadas nesta figura. São Carlos, 2012.

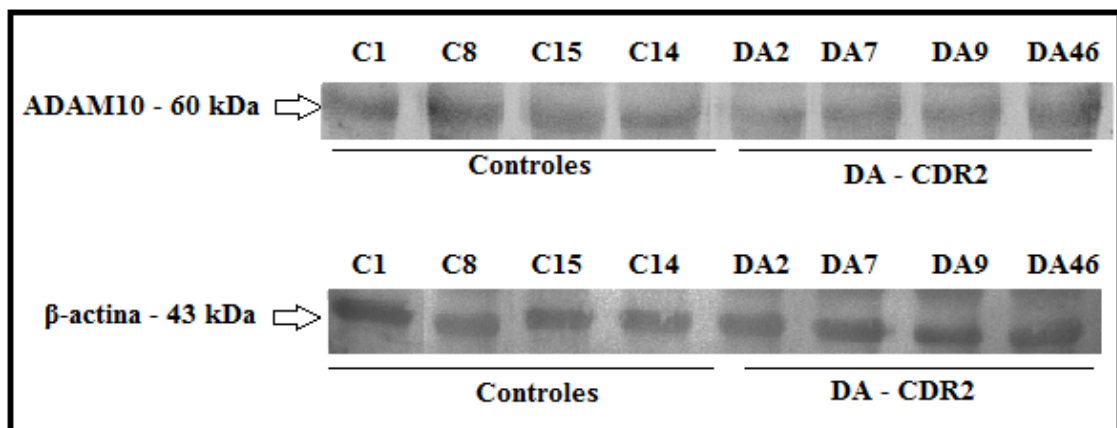


Figura 19. As plaquetas dos sujeitos pertencentes ao Grupo Controle (C) e dos sujeitos com DA, classificados como CDR2, foram coletadas, lisadas e o conteúdo proteico foi aplicado em gel de poliacrilamida (10%). As proteínas foram transferidas para membrana de nitrocelulose e incubadas com anticorpo anti-ADAM10 ou anti-β-actina. A revelação das bandas foi realizada utilizando o *kit Amplified Opti-4CN Substrate* (BioRad). As membranas foram escaneadas e a imagem das bandas específicas para a banda da ADAM10 e β-actina estão apresentadas nesta figura. São Carlos, 2012.

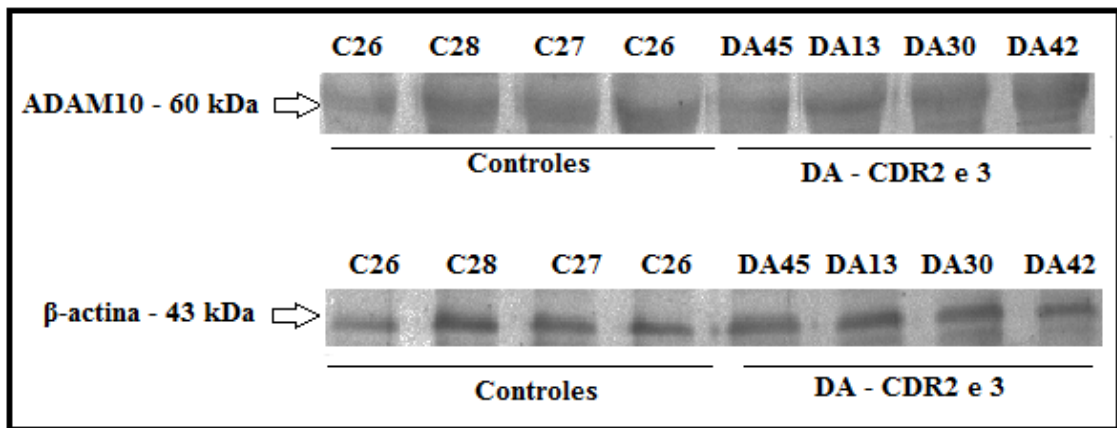


Figura 20. As plaquetas dos sujeitos pertencentes ao Grupo Controle (C) e dos sujeitos com DA, classificados como CDR2 e CDR3, foram coletadas, lisadas e o conteúdo proteico foi aplicado em gel de poliacrilamida (10%). As proteínas foram transferidas para membrana de nitrocelulose e incubadas com anticorpo anti-ADAM10 ou anti-β-actina. A revelação das bandas foi realizada utilizando o *kit Amplified Opti-4CN Substrate* (BioRad). As membranas foram escaneadas e a imagem das bandas específicas para a banda da ADAM10 e β-actina estão apresentadas nesta figura. São Carlos, 2012.

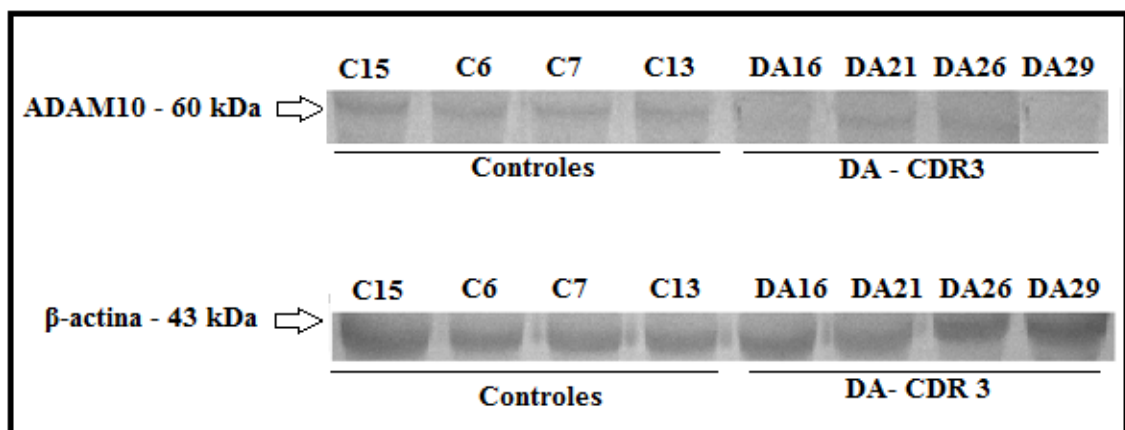


Figura 21. As plaquetas dos sujeitos pertencentes ao Grupo Controle (C) e dos sujeitos com DA, classificados como CDR3, foram coletadas, lisadas e o conteúdo proteico foi aplicado em gel de poliacrilamida (10%). As proteínas foram transferidas para membrana de nitrocelulose e incubadas com anticorpo anti-ADAM10 ou anti-β-actina. A revelação das bandas foi realizada utilizando o *kit Amplified Opti-4CN Substrate* (BioRad). As membranas foram escaneadas e a imagem das bandas específicas para a banda da ADAM10 e β-actina estão apresentadas nesta figura. São Carlos, 2012.

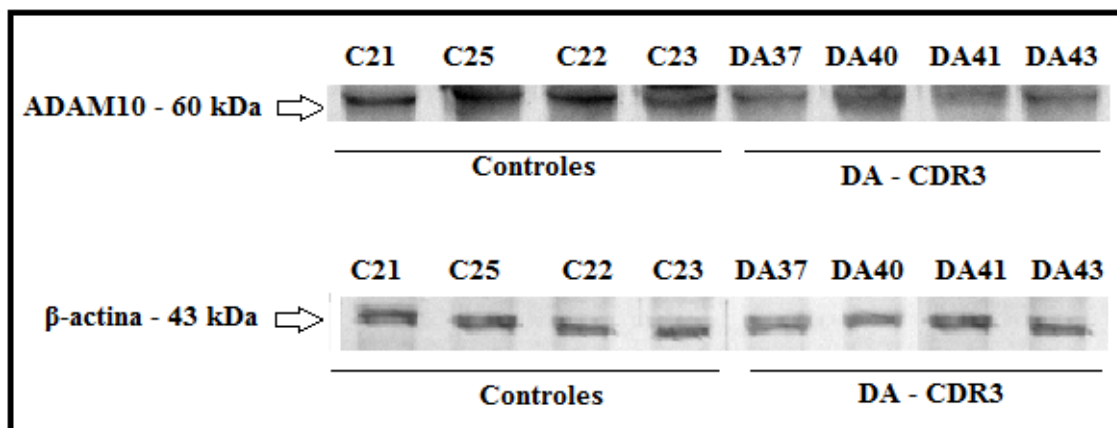


Figura 22. As plaquetas dos sujeitos pertencentes ao Grupo Controle (C) e dos sujeitos com DA, classificados como CDR3, foram coletadas, lisadas e o conteúdo proteico foi aplicado em gel de poliacrilamida (10%). As proteínas foram transferidas para membrana de nitrocelulose e incubadas com anticorpo anti-ADAM10 ou anti- β -actina. A revelação das bandas foi realizada utilizando o *kit Amplified Opti-4CN Substrate* (BioRad). As membranas foram escaneadas e a imagem das bandas específicas para a banda da ADAM10 e β -actina estão apresentadas nesta figura. São Carlos, 2012.

5.4 Comparação, Correlação e Associação entre o desempenho no MEEM e CDR com os níveis plaquetários da ADAM10 nos dois grupos de idosos

Visto que a normalidade dos dados a serem utilizados influencia na escolha dos procedimentos estatísticos, o presente trabalho emprega o Teste de Kolmogorov-Smirnov (KS) a fim de detectar a normalidade, garantindo assim maior confiabilidade para a análise proposta.

Os resultados do KS Teste para as variáveis ADAM10 bruta, razão ADAM10/ β -actina, MEEM bruto e razão MEEM, para os Grupos DA e Controle são exibidos na Tabela 7. Ressalta-se que os *p*-valores exibidos na Tabela 7 informam a probabilidade de uma variável possuir distribuição normal. Isto significa que quanto mais próximo de 1 for o *p*-valor, maior é a probabilidade de uma variável possuir distribuição normal, visto que a hipótese nula do KS Teste refere-se a esta possibilidade.

Tabela 7. Valores do KS Teste para as variáveis ADAM10 bruta, razão ADAM10/ β -actina, MEEM bruto e razão MEEM, para os Grupos DA e Controle. São Carlos, 2012.

Variável	n	KS Test* <i>p</i> -valor
ADAM10 Bruta C	25	0,2366
ADAM10 Bruta DA	30	0,1697
razão ADAM10/β-actina C	25	0,3504
razão ADAM10/β-actina DA	30	0,1669
MEEM Bruto C	25	0,4384
MEEM Bruto DA	30	0,7160
razão MEEM C	25	0,8335
razão MEEM DA	30	0,7330

*KS Test (Kolmogorov-Smirnov) para detecção de normalidade.

Para todas as variáveis analisadas observa-se que há aceitação da hipótese nula (Normalidade), entretanto, as variáveis ADAM10 e razão ADAM10/ β -actina apresentam *p*-valores não muito elevados. Desta forma, para confirmação dos resultados dos testes paramétricos foram implementados testes não paramétricos em algumas análises (itens 2 e 4 da Figura 13).

Para descrever e comparar o perfil da amostra segundo as variáveis em estudo foram calculadas as estatísticas descritivas (média, desvio-padrão, valores mínimos e máximos, e mediana) das variáveis (ADAM10 bruta, razão ADAM10/ β -actina, MEEM bruto, e razão MEEM - uma razão do escore bruto dividido pela nota de corte da faixa de escolaridade). Quando encontrada razão menor que um, denota-se que o sujeito obteve escore abaixo do esperado para sua nota de corte. No entanto, quando encontrada razão acima de um, se observa ausência de déficit cognitivo, dado que a nota do MEEM foi superior à nota de corte.

Para comparar as variáveis numéricas entre os dois grupos (Controle vs DA) foi utilizado o teste não paramétrico U de Mann-Whitney e o teste paramétrico *t* de student. Tal procedimento foi realizado em duas etapas distintas, primeiramente para o total da amostra (Controles n = 25 e DA – CDR 1, 2 e 3 n = 30), e posteriormente para cada CDR separadamente.

A Tabela 8 apresenta a análise descritiva e comparativa das variáveis para o total da amostra (Controles e DA – CDR1, 2 e 3).

Tabela 8. Análise descritiva e comparativa das variáveis numéricas para o total da amostra (Controles e DA – CDR 1, 2 e 3). São Carlos, 2012.

Variável	n	Média	D.P.	Min.	Máx.	Mediana	<i>p</i> -valor U*	<i>p</i> -valor <i>t</i> **
ADAM10 bruta C	25	1906,00	1239,00	480,50	4729,03	1435,00	<i>p</i> <0,0001	<i>p</i> <0,0001
ADAM10 bruta DA	30	761,16	496,54	206,21	1813,70	618,08		
razão ADAM10/ β-actina C	25	0,74	0,40	0,19	1,38	0,63	<i>p</i> <0,0001	<i>p</i> <0,0001
razão ADAM10/ β-actina DA	30	0,31	0,21	0,08	0,83	0,22		
MEEM bruto C	25	27,28	1,90	24,00	30,00	28,00	<i>p</i> <0,0001	<i>p</i> <0,0001
MEEM bruto DA	30	10,57	7,44	0,00	23,00	11,00		
razão MEEM C	25	1,14	0,07	1,04	1,25	1,14	<i>p</i> <0,0001	<i>p</i> <0,0001
razão MEEM DA	30	0,45	0,32	0,00	1,05	0,42		

* *p*-valor referente ao teste U de Mann-Whitney. ** *p*-valor referente ao teste *t* de student.

Os valores da razão ADAM10/β-actina para os dois grupos (Controle e DA) apresentados na Tabela 8 são ilustrados via Box-Plot no Gráfico 7.

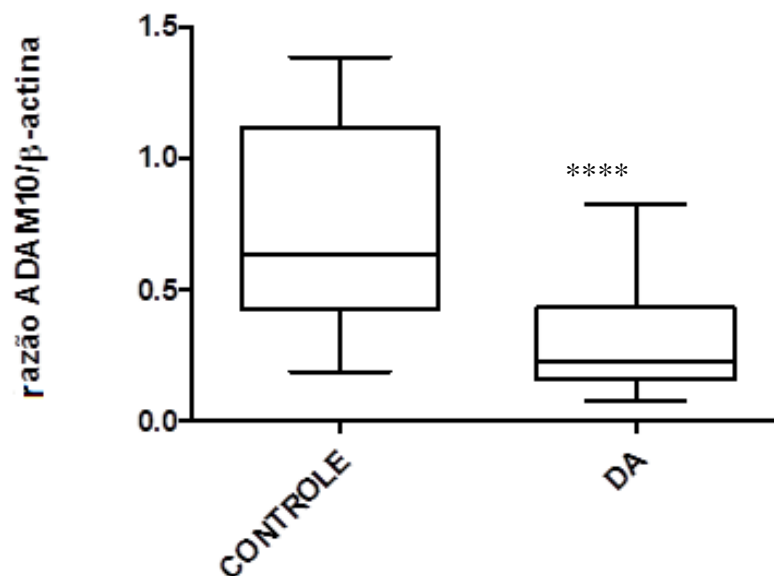


Gráfico 7. Box-Plot da razão ADAM10/β-actina para os grupos Controle e DA (CDR1, CDR2 e CDR3). Teste estatístico U de Mann-Whitney (*****p* < 0,0001) e teste *t* de student (*****p* < 0,0001). São Carlos, 2012.

Segundo os resultados exibidos na Tabela 8 e no Gráfico 7, verifica-se uma diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos tendo em vista ambos os testes estatísticos ($p < 0,0001$) para as variáveis ADAM10 bruta (maiores valores no Grupo Controle), razão ADAM10/ β -actina (maiores valores no Grupo Controle), MEEM bruto (maiores valores no Grupo Controle) e razão MEEM (maiores valores no Grupo Controle).

Os valores da razão ADAM10/ β -actina obtidos neste estudo corroboram com achados internacionais. No estudo de Colciaghi *et al.* (2004) a média da razão ADAM10/ β -actina do Grupo Controle foi de 0,801 em comparação ao Grupo DA que apresentou razão de 0,560, resultados muito semelhantes com os obtidos nesta pesquisa (0,74 no Grupo Controle e 0,31 no Grupo DA).

Resultados semelhantes também são apresentados em Colciaghi *et al.* (2002), no qual a razão ADAM10/ β -actina do Grupo Controle também apresentou diferença significativa de $p < 0,0001$ em relação ao Grupo DA.

Estudos anteriores também utilizaram outros parâmetros plaquetários para diferenciar idosos com DA de controles. No estudo de Padovani *et al.* (2001), observou-se que entre os idosos com DA, a média da razão das isoformas da APP plaquetária foi de $0,35 \pm 0,18$ enquanto os demais grupos controles apresentaram média de razão acima de 0,83.

Em Di Luca *et al.* (1996), conduzido por *Western Blotting* e com utilização do anticorpo monoclonal 22C11 foi avaliado a imunoreatividade das isoformas da APP plaquetária em idosos com DA. Neste estudo foi evidenciado que pacientes com DA apresentam reduzida razão entre a APP-130 sobre a APP-106/110, quando comparado com controles saudáveis e pacientes com outro tipo de demência. Observa-se, portanto, que outros biomarcadores descritos na literatura de relação direta com a ADAM10 também corroboram com estes achados.

Considerando-se as pontuações obtidas no MEEM bruto (média de 27,28 no Grupo Controle e 10,57 no Grupo DA), os estudos também apontam para resultados semelhantes. Colciaghi *et al.* (2002) apresenta média no score MEEM de 29,28 para o Grupo Controle e 18,0 para o Grupo DA. Enquanto em Colciaghi *et al.* (2004) esta variação foi de 29,30 para idosos controles e em torno de 23,50 para idosos com DA, ressaltando-se que neste último estudo os sujeitos apresentavam diagnóstico de DA muito leve ou leve.

É importante salientar que por ser o MEEM um teste de rastreamento cognitivo que sofre influência da escolaridade, os achados deste estudo podem ser explicados pela menor escolaridade dos idosos em relação aos de países desenvolvidos, além da participação

de vários idosos CDR3 com pontuação nula, fato este que reduz a média das pontuações obtidas.

Quanto ao uso da medicação para a DA, por questões éticas, todos os sujeitos do Grupo DA estavam em uso contínuo dessas medicações. O estudo de Padovani *et al.* (2001), também foi realizado com pacientes em uso dos IChEs. No entanto, alguns outros estudos internacionais, o uso da medicação foi um critério de exclusão utilizado (COLCIAGHI *et al.*, 2002 e 2004). O uso de IChEs pode modificar o processamento da APP em plaquetas de pacientes com DA, de modo que aumentam a liberação de sAPP α (RACCHI e GOVONI, 1999). Esta relação também foi observada sobre a α -secretase. Small *et al.* (1991), aborda que a acetilcolinesterase e as α -secretases podem formar agrupamentos na membrana plasmática. Assim, a interação de IChEs com a acetilcolina pode iniciar um processo de modificação na forma da enzima que reflete no aumento da atividade da α -secretase.

Entretanto, segundo os resultados, mesmo os pacientes estando em uso da medicação para DA, há uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos, sugerindo que se a exclusão da medicação fosse possível na prática clínica as diferenças encontradas entre os valores da ADAM10 bruta e da razão ADAM10/ β -actina seriam provavelmente ainda maiores entre os sujeitos DA e controles.

De mesma forma, pontuações em testes cognitivos como o MEEM e CDR podem sofrer influência da medicação para a DA, de modo que os IChEs aumentam a função colinérgica e esse aumento poderia trazer a melhora clínica, dado que parte dos sintomas da DA decorrem deste déficit (VALE *et al.*, 2011). No entanto, estudos recentes trazem que as dosagens usualmente utilizadas na prática clínica dos IChEs são insuficientes para o estabelecimento da melhora cognitiva, mensurável através de testes neuropsicológicos (SABBAGH e CUMMINGS, 2011).

No estudo prospectivo de Santoro *et al.* (2010), 938 pacientes com DA leve e moderada em uso de IChEs (Donepezila, Galantamina e Rivastigmina) foram acompanhados durante 36 semanas. Este estudo tinha por objetivo avaliar e comparar as atividades funcionais, cognitivas e comportamentais dos idosos em uso de IChEs através de testes neuropsicológicos, entre eles o MEEM e CDR. O estudo concluiu que não houve diferença significativa nos testes neuropsicológicos com a administração dos IChEs. Sendo assim, as pontuações obtidas pelos sujeitos desta pesquisa no MEEM e CDR podem conter influências da medicação para DA em uso, entretanto, a suporte dos estudos encontrados, esse viés é pouco relevante para a avaliação e diferenciação clínica dos casos (segundo nota de

corte do MEEM e/ou nível do CDR). Mesmo assim, em pesquisas futuras, o tempo de uso das medicações pelos sujeitos poderá ser uma variável de controle. Esta foi uma limitação do nosso estudo.

As Tabelas 9, 10 e 11 apresentam a análise descritiva e comparativa entre os sujeitos com DA por CDR e seus respectivos Controles.

Tabela 9. Análise descritiva e comparativa das variáveis numéricas entre os Controles e DA – CDR1. São Carlos, 2012.

Variável	n	Média	D.P.	Mín.	Máx.	Mediana	p-valor U*
ADAM10 bruta C	8	2170,00	958,70	1219,00	3647,91	1733,00	0,0031
ADAM10 bruta DA	10	999,50	424,42	448,29	1537,99	1147,88	
razão ADAM10/ β-actina C	8	1,25	0,14	1,07	1,38	1,29	<u>p<0,0001</u>
razão ADAM10/ β-actina DA	10	0,57	0,15	0,42	0,83	0,52	
MEEM bruto C	8	26,38	2,07	24,00	29,00	26,50	0,0004
MEEM bruto DA	10	16,20	5,01	10,00	23,00	14,50	
razão MEEM C	8	1,14	0,06	1,04	1,21	1,15	0,0006
razão MEEM DA	10	0,70	0,22	0,42	1,05	0,65	

* p-valor referente ao teste U de Mann-Whitney.

Tabela 10. Análise descritiva e comparativa das variáveis numéricas entre os Controles e DA – CDR2. São Carlos, 2012.

Variável	n	Média	D.P.	Mín.	Máx.	Mediana	p-valor U*
ADAM10 bruta C	8	2455,46	1403,05	610,19	4729,03	2415,32	0,0118
ADAM10 bruta DA	11	881,86	538,46	304,40	1813,70	766,32	
razão ADAM10/ β-actina C	8	0,53	0,16	0,40	0,86	0,47	<u>0,0002</u>
razão ADAM10/ β-actina DA	11	0,22	0,06	0,12	0,31	0,21	
MEEM bruto C	8	27,00	1,77	25,00	29,00	26,50	0,0003
MEEM bruto DA	11	12,91	4,59	6,00	22,00	12,00	
razão MEEM C	8	1,12	0,08	1,04	1,24	1,10	0,0003
razão MEEM DA	11	0,53	0,19	0,25	0,85	0,50	

* p-valor referente ao teste U de Mann-Whitney.

Tabela 11. Análise descritiva e comparativa das variáveis numéricas entre os Controles e DA – CDR3. São Carlos, 2012.

Variável	n	Média	D.P.	Mín.	Máx.	Mediana	<i>p</i> -valor U*
ADAM10 bruta C	9	1183,93	1059,23	480,54	3935,49	915,71	0,0005
ADAM10 bruta DA	9	348,84	215,34	206,21	909,58	287,81	
razão ADAM10/ β-actina C	9	0,46	0,21	0,19	0,70	0,56	<u>0,0005</u>
razão ADAM10/ β-actina DA	9	0,14	0,05	0,08	0,21	0,14	
MEEM bruto C	9	28,33	1,50	26,00	30,00	28,00	0,0004
MEEM bruto DA	9	1,44	2,30	0,00	6,00	0,00	
razão MEEM C	9	1,15	0,07	1,04	1,25	1,15	0,0004
razão MEEM DA	9	0,06	0,09	0,00	0,23	0,00	

* *p*-valor referente ao teste U de Mann-Whitney.

Os dados das Tabelas 9, 10 e 11 mostram uma diferença estatisticamente significativa entre os sujeitos com DA e seus respectivos Controles para todos os CDRs. Entre os resultados obtidos, ressalta-se que a razão ADAM10/β-actina apresentou *p*-valores relevantes quanto à existência de diferenças por grupos (CDR1: $p < 0,0001$; CDR2: $p = 0,0002$; CDR3: $p = 0,0005$).

No estudo de Colciaghi *et al.* (2004) a razão ADAM10/β-actina em diferentes níveis de demência (muito leve e leve) também apresentou diferenças significantes em relação ao Grupo Controle ($p < 0,05$ e $p < 0,0001$ respectivamente), dados estes que corroboram com os resultados e com a hipótese desta pesquisa. De mesma forma, observa-se que a pontuação do MEEM assume relação negativa com o avanço da doença (Tabelas 9,10 e 11), dados que também corroboram com o estudo de Colciaghi *et al.* (2004), no qual sujeitos com DA muito leve apresentaram média na pontuação do MEEM de 25,7 enquanto na DA leve essa média alcançou o valor de 21,3 pontos.

Observa-se, portanto, que para os sujeitos classificados como CDR1, CDR2 e CDR3, o nível de expressão da proteína ADAM10 bruta ou em razão pela β-actina está diminuído, comparado aos níveis de ADAM10 dos sujeitos controles. Estes resultados estão de acordo com o observado na literatura, em que os níveis de expressão da proteína ADAM10 também foram menores em pacientes com DA (COLCIAGHI *et al.*, 2002 e 2004).

Padovani *et al.* (2001) observou que em relação ao nível da demência, a razão entre as isoformas da APP plaquetária foi de $0,45 \pm 0,12$ no CDR1, $0,31 \pm 0,17$ no CDR2 e $0,22 \pm 0,10$ no CDR3, indicando que este parâmetro periférico também já apresenta-se alterado em estágios iniciais da doença e difere-se significativamente com o avanço do quadro clínico, o que corrobora com os dados observados com a proteína ADAM10.

Para analisar a presença de correlação entre as variáveis numéricas (MEEM bruto/ razão MEEM vs ADAM10 bruta e MEEM bruto/ razão MEEM vs razão ADAM10/ β -actina) foram utilizados os coeficientes de correlação de Pearson (paramétrico) e de Spearman (não paramétrico). O coeficiente de correlação de Pearson é apresentado na Tabela 12, seguido pelo cálculo do coeficiente de correlação de Spearman na Tabela 13.

Tabela 12. Análise das correlações entre as variáveis numéricas (MEEM bruto/ razão MEEM vs ADAM10 bruta e MEEM bruto/ razão MEEM vs razão ADAM10/ β -actina), para o total da amostra (Controles n = 25 e DA – CDR1,2 e 3 n = 30). São Carlos, 2012.

GRUPO CONTROLE			
		ADAM10 BRUTA C	razão ADAM10/β-actina C
MEEM BRUTO C*	r=	- 0,0671	-0,2186
	p=	0,7501	0,2939
razão MEEM C	r=	0,0128	0,158
	p=	0,9515	0,4505
GRUPO DA			
		ADAM10 BRUTA DA	razão ADAM10/β-actina DA
MEEM BRUTO DA*	r=	0,4837	0,5301
	p=	<u>0,0068</u>	<u>0,0026</u>
razão MEEM DA	r=	0,4599	0,5404
	p=	<u>0,0105</u>	<u>0,002</u>

* r=coeficiente de correlação de Pearson; p=p-valor.

Tabela 13. Análise das correlações entre as variáveis numéricas (MEEM bruto/ razão MEEM vs ADAM10 bruta e MEEM bruto/ razão MEEM vs razão ADAM10/ β -actina), para o total da amostra (Controles n = 25 e DA – CDR1, 2 e 3 n = 30). São Carlos, 2012.

GRUPO CONTROLE			
		ADAM10 BRUTA C	razão ADAM10/β-actina C
MEEM BRUTO C*	r=	-0,041	-0,189
	p=	0,858	0,365
razão MEEM C	r=	0,257	0,062
	p=	0,273	0,783
GRUPO DA			
		ADAM10 BRUTA DA	razão ADAM10/β-actina DA
MEEM BRUTO DA*	r=	0,602	0,611
	p=	<u>0,00043</u>	<u>0,00033</u>
razão MEEM DA	r=	0,599	0,624
	p=	<u>0,00048</u>	<u>0,00023</u>

* r=coeficiente de correlação de Spearman; p=p-valor.

As correlações estatisticamente significantes estão sublinhadas na Tabela 12 e 13. Verifica-se que para o Grupo DA houve correlação positiva para todas as variáveis analisadas, com p -valores estatisticamente significantes. Por exemplo, houve correlação significativa entre razão MEEM e razão ADAM10/ β -actina no Grupo DA segundo o r de Pearson ($r = 0,5404$; $p = 0,002$), ou seja, quanto menor o valor do MEEM, menor o valor da ADAM10, o que indica a validação da hipótese desta pesquisa.

Entretanto, apesar do MEEM bruto e a razão MEEM possuírem correlação positiva com os valores da ADAM10 bruta e a razão ADAM10/ β -actina, estas não são associações extremamente fortes, tendendo a serem moderadas. Isto se deve provavelmente a capacidade do MEEM em rastrear e graduar alterações cognitivas.

Padovani *et al.* (2001) ao estudar a razão entre as isoformas da APP plaquetária também observou correlação com a severidade da doença, medida tanto através do CDR quanto do MEEM, sugerindo deste modo que os valores da razão variam de acordo com a progressão dos sintomas clínicos. Deve-se ressaltar que na pesquisa realizada por Padovani *et al.* (2001), o uso de inibidores da acetilcolinesterase assim como de antiplaquetários não foi um critério de exclusão da amostra, o que pode indicar uma limitação do estudo, tendo em vista que estas medicações parecem interagir com o metabolismo da APP (RACCHI e GOVONI, 1999).

O Gráfico 8 ilustra a associação linear entre as variáveis razão ADAM10/ β -actina vs razão MEEM para o Grupo DA.

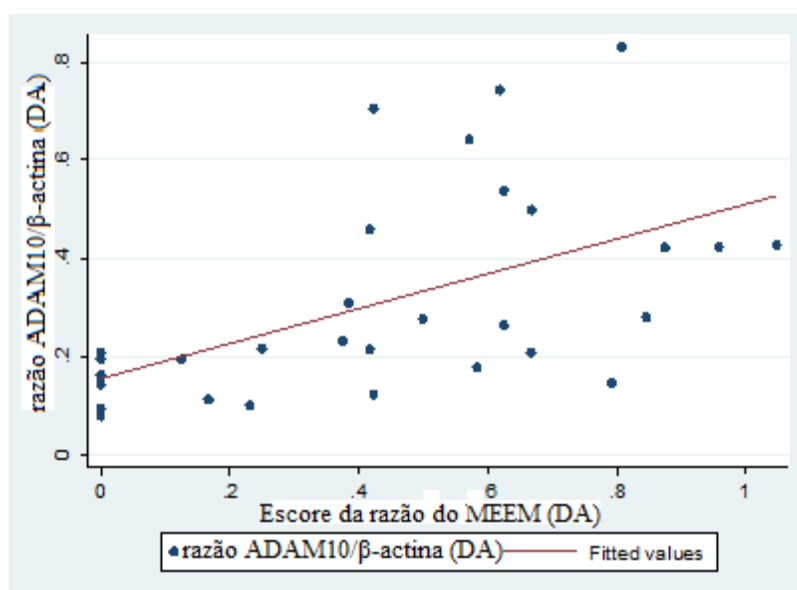


Gráfico 8. Associação linear entre as variáveis razão ADAM10/ β -actina vs razão MEEM para o Grupo DA ($n = 30$). São Carlos, 2012.

Para comparar as variáveis numéricas *entre* os três grupos de CDR (CDR1 vs CDR2; CDR1 vs CDR3 e CDR2 vs CDR3) foi utilizado o teste U de Mann-Whitney, devido ao tamanho reduzido de amostras para cada CDR e à ausência de distribuição normal das variáveis.

As Tabelas 14, 15 e 16 apresentam a comparação das variáveis (n, média, desvio padrão, valor mínimo e máximo, mediana e *p*-valor) *entre* os subgrupos de CDRs e os dados referentes à razão ADAM10/ β -actina são apresentados no Box-Plot do Gráfico 9. Os *p*-valores estatisticamente significantes constam sublinhados nas tabelas.

Tabela 14. Análise descritiva e comparativa das variáveis numéricas entre os grupos de CDR1 vs CDR2. São Carlos, 2012.

CDR	Variável	n	Média	D.P.	Mín.	Máx.	Mediana	<i>p</i> -valor U*
1	ADAM10 bruta DA	10	999,50	424,42	448,29	1537,99	1147,88	0,5035
	razão ADAM10/ β -actina DA	10	0,57	0,15	0,42	0,83	0,52	<u>0,0001</u>
	MEEM bruto DA	10	16,20	5,01	10,00	23,00	14,50	0,1471
	razão MEEM DA	10	0,70	0,22	0,42	1,05	0,65	0,0841
2	ADAM10 bruta DA	11	881,86	538,46	304,40	1813,70	766,32	
	razão ADAM10/ β -actina DA	11	0,22	0,06	0,12	0,31	0,21	
	MEEM bruto DA	11	12,91	4,59	6,00	22,00	12,00	
	razão MEEM DA	11	0,53	0,19	0,25	0,85	0,50	

* *p*-valor referente ao teste U de Mann-Whitney para comparação das variáveis entre os dois grupos de CDR (1 vs 2).

A Tabela 14 apresenta os dados de comparação entre os CDRs 1 vs 2. Observa-se que apenas a variável razão ADAM10/ β -actina foi estatisticamente significativa ($p = 0,0001$) entre os subgrupos. O MEEM bruto e a razão MEEM não apresentaram significância. Isto se deve possivelmente à reduzida capacidade deste instrumento na diferenciação entre estes dois estágios da doença. Ressalta-se aqui a importância, portanto, da razão ADAM10/ β -actina, visto que sua aplicação nestes casos poderia auxiliar no diagnóstico diferencial entre estas fases da DA.

Tabela 15. Análise descritiva e comparativa das variáveis numéricas entre os grupos de CDR1 vs CDR3. São Carlos, 2012.

CDR	Variável	n	Média	D.P.	Mín.	Máx.	Mediana	<i>p</i> -valor U*
1	ADAM10 bruta DA	10	999,50	424,42	448,29	1537,99	1147,88	<u>0,0003</u>
	razão ADAM10/ β-actina DA	10	0,57	0,15	0,42	0,83	0,52	<u><i>p</i><0,0001</u>
	MEEM bruto DA	10	16,20	5,01	10,00	23,00	14,50	<u>0,0003</u>
	razão MEEM DA	10	0,70	0,22	0,42	1,05	0,65	<u><i>p</i><0,0001</u>
3	ADAM10 bruta DA	9	348,84	215,34	206,21	909,58	287,81	
	razão ADAM10/ β-actina DA	9	0,14	0,05	0,08	0,21	0,14	
	MEEM bruto DA	9	1,44	2,30	0,00	6,00	0,00	
	razão MEEM DA	9	0,06	0,09	0,00	0,23	0,00	

* *p*-valor referente ao teste U de Mann-Whitney para comparação das variáveis entre os dois grupos de CDR (1 vs 3).

Na Tabela 15, os dados mostram a comparação entre os subgrupos CDR1 vs 3. Verifica-se que todas as variáveis apresentam *p*-valores significantes, sendo a razão ADAM10/β-actina e a razão MEEM os resultados mais incisivos desta comparação (*p* < 0,0001). De mesma forma, também verifica-se tal diferenciação entre o CDR2 vs 3, na qual a razão ADAM10/β-actina atingi *p*-valor de 0,0049 (Tabela 16).

Estas maiores significâncias da razão MEEM são esperadas devido à grande diferença clínica entre estes estágios da doença (CDR1 vs CDR3 e CDR2 vs CDR3). Entretanto, a associação da razão ADAM10/β-actina pode ser um passo inicial para auxiliar na formação do diagnóstico diferencial entre as fases da DA, como apontam os dados.

Tabela 16. Análise descritiva e comparativa das variáveis numéricas entre os grupos de CDR2 vs CDR3. São Carlos, 2012.

CDR	Variável	n	Média	D.P.	Mín.	Máx.	Mediana	<i>p</i> -valor U*
2	ADAM10 bruta DA	11	881,86	538,46	304,40	1813,70	766,32	<u>0,0049</u>
	razão ADAM10/ β-actina DA	11	0,22	0,06	0,12	0,31	0,21	<u>0,0049</u>
	MEEM bruto DA	11	12,91	4,59	6,00	22,00	12,00	<u>0,0002</u>
	razão MEEM DA	11	0,53	0,19	0,25	0,85	0,50	<u>0,0002</u>
3	ADAM10 bruta DA	9	348,84	215,34	206,21	909,58	287,81	
	razão ADAM10/ β-actina DA	9	0,14	0,05	0,08	0,21	0,14	
	MEEM bruto DA	9	1,44	2,30	0,00	6,00	0,00	
	razão MEEM DA	9	0,06	0,09	0,00	0,23	0,00	

* *p*-valor referente ao teste de Mann-Whitney para comparação das variáveis entre os dois grupos de CDR (2 vs 3).

Portanto, os resultados indicam diferença significativa entre os dois grupos (CDR1 vs CDR2) para a variável razão ADAM10/ β -actina (maiores valores no grupo CDR1). Também apontam diferenças significativas entre os grupos (CDR1 vs CDR3) para as variáveis ADAM10 bruta (maiores valores no grupo CDR1), razão ADAM10/ β -actina (maiores valores no grupo CDR1), MEEM bruto (maiores valores no grupo CDR1) e razão MEEM (maiores valores no grupo CDR1).

Entre os subgrupos CDR2 vs CDR3 também se verificam diferenças significantes para as variáveis ADAM10 bruta (maiores valores no grupo CDR2), razão ADAM10/ β -actina (maiores valores no grupo CDR2), MEEM bruto (maiores valores no grupo CDR2) e razão MEEM (maiores valores no grupo CDR2) (Tabela 16).

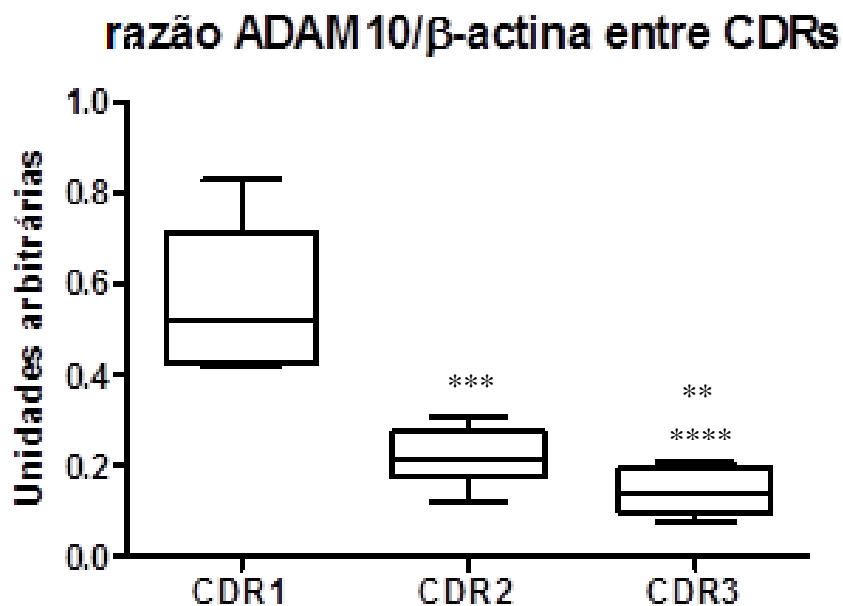


Gráfico 9. Box-Plot da razão ADAM10/ β -actina para os grupos DA (CDR1 vs CDR2 vs CDR3). O teste estatístico utilizado foi o de Mann Whitney (CDR1 vs CDR2 *** $p = 0,0001$; CDR1 vs CDR3 **** $p < 0,0001$; CDR2 vs CDR3 ** $p = 0,0049$). São Carlos, 2012.

Os resultados apresentados nas Tabelas 14,15 e 16 e no Gráfico 9 denotam que com o avanço do quadro clínico da demência, os níveis plaquetários da ADAM10 assim como a razão ADAM10/ β -actina, tendem a apresentar valores cada vez mais reduzidos. O estudo de Colciaghi *et al.* (2004) sugere resultados semelhantes, de modo que com o avanço da doença (muito leve e leve) ocorre a diminuição expressiva da razão ADAM10/ β -actina em relação aos controles, como ilustra o Gráfico 10, retirado do trabalho publicado por estes autores.

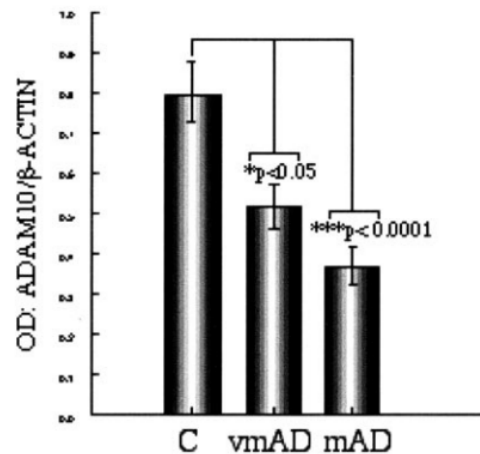


Gráfico 10. Representação da média da razão ADAM10/β-actina no Grupo Controle (C), DA muito leve (vmAD) e DA leve (mAD). Extraído de Colciaghi *et al.* (2004).

A fim de verificar a associação entre os graus de CDR e os níveis de razão da ADAM10/β-actina foi realizada a Regressão Logística Ordenada. Esta técnica foi empregada, pois diferentemente da Regressão Logística usual, os graus de CDR seguem uma ordenação natural (1, 2 e 3) (CAMERON e TRIVEDI, 2009).

Os resultados do modelo logístico ordenado estimado são apresentados na Tabela 17.

Tabela 17. Regressão Logística Ordenada entre a variável CDR (qualitativa) em função da razão da ADAM10/β-actina. São Carlos, 2012.

Variável dependente		
CDR		
Variável independente	Coef.	p-valor
razão ADAM10/β-actina	-35,72823	<u>0,001</u>

É possível verificar pela Tabela 17 que a variável independente razão ADAM10/β-actina é estatisticamente significativa para explicar a variação do CDR. Contudo, nesse caso o coeficiente estimado não é passível de interpretação em termos de magnitude absoluta ou relativa (variações percentuais), dado a natureza do modelo Logístico. Porém, o sinal do coeficiente estimado (negativo) pode ser interpretado de forma correta, o que denota

uma relação inversa entre as variáveis, ou seja, quando ocorre diminuição dos valores da razão ADAM10/ β -actina existe aumento do grau do CDR, ou vice-versa.

Da mesma forma, observa-se que a variável independente razão ADAM10/ β -actina também é estatisticamente significativa para explicar a variação da razão MEEM. Adversamente neste caso, visto que o modelo foi estimado por mínimos quadrados ordinários (MQO) é possível interpretar o impacto da variação unitária da razão ADAM10/ β -actina em função da razão do MEEM. Assim, uma variação unitária na razão ADAM10/ β -actina ocasiona um aumento da ordem de 0,8219 sobre a razão MEEM (Tabela 18), dados estes que corroboram com as Análises de Correlação (Item 4 da Figura 13) e confirmam a hipótese desta pesquisa.

Tabela 18. Regressão por mínimos quadrados ordinários (MQO) entre a variável razão MEEM (numérica contínua) em função da razão da ADAM10/ β -actina. São Carlos, 2012.

Variável dependente		
razão MEEM		
Variável independente	Coef.	<i>p</i>-valor
razão ADAM10/ β -actina	0,8219	<u>0,002</u>

Portanto, a partir destes resultados, é possível descrever que há correlação significativa entre os valores da razão da ADAM10/ β -actina com os instrumentos de avaliação cognitiva CDR e MEEM.

Observa-se que a correlação da razão da ADAM10/ β -actina ocorre de forma proporcional com os níveis de CDR e as pontuações do MEEM e que em alguns casos a razão da ADAM10/ β -actina é ainda mais sensível do que a utilização isolada destes instrumentos (CDR1 vs CDR2). O MEEM é um teste de rastreamento de alterações cognitivas que sofre influência da escolaridade, comprometimentos visuais, auditivos e motores, limitando o seu uso. Ao contrário, a ADAM10 plaquetária encontra-se livre do impacto destas variáveis, embora sofra influência de outros fatores como uso de determinados medicamentos. Assim, a utilização da ADAM10 como um biomarcador plaquetário se mostra como uma importante ferramenta auxiliadora no diagnóstico clínico da DA.

Com o intuito de verificar possíveis fatores determinantes para o aumento da probabilidade de ocorrência da DA foi realizada uma nova Regressão Logística com o propósito de computar a significância e o impacto das variáveis Sexo, Escolaridade, Idade e

razão ADAM10/ β -actina para a ocorrência da DA, a qual é identificada no Modelo de Regressão como uma variável binária (1 se o paciente possuir DA ou 0 se o paciente for um Controle). Os resultados estão sumarizados na Tabela 19.

Tabela 19. Regressão Logística entre a variável Presença da DA em função do sexo, escolaridade, idade e razão ADAM10/ β -actina. São Carlos, 2012.

Variável dependente: Presença da DA	Coef.	p-valor
Sexo	-0,5008	0,5300
Escolaridade	-0,2758	0,2240
Idade	0,0305	0,5580
razão ADAM/β-actina	-5,7451	<u>0,0010</u>
intercepto	7,4195	0,2830

Efeito Marginal (em elasticidade - %)	Coef. (ey/ex)	p-valor
Sexo	-0,085	0,532
Escolaridade	-3,260	0,239
Idade	1,138	0,559
razão ADAM/β-actina	-1,433	<u>0,010</u>

Diferentemente da regressão estimada na Tabela 17, é possível computar a magnitude do efeito de uma variação nas variáveis explicativas para a ocorrência da DA, visto que a diferenciação entre doentes e controles permite o cálculo dos efeitos marginais tendo em vista o tamanho amostral ($n = 30$ sujeitos com DA).

Verifica-se neste estudo que as variáveis sexo, escolaridade e idade não apresentam significância estatística e, portanto, não são determinantes para o aumento da probabilidade de ocorrência da DA. Estes dados se justificam possivelmente devido à grandeza de critérios de exclusão, pois os sujeitos desta amostra foram estritamente selecionados segundo as necessidades do estudo.

É observável na Tabela 19 que apenas o p -valor referente à variável razão ADAM10/ β -actina é estatisticamente significativo ($p = 0,01$), cujo coeficiente em termos de elasticidade (interpretável também para pequenas variações) é da ordem de -1,433. A título de exemplo, um aumento de 10% da razão ADAM10/ β -actina ocasiona uma diminuição de 14,33% na probabilidade de ocorrência da DA. Assim, ressalta-se que entre as variáveis explicativas consideradas na análise, apenas a diminuição da razão ADAM10/ β -actina se mostra como um fator relevante para o aumento do risco de ocorrência da doença.

A Tabela 20 apresenta as variações da sensibilidade e especificidade para diferentes valores de corte, sendo assim, uma ferramenta adequada para medir e especificar problemas no desempenho do diagnóstico da DA neste estudo.

Tabela 20. Valores da Especificidade e Sensibilidade da razão ADAM10/ β -actina para diferentes pontos de corte. São Carlos, 2012.

Ponto de Corte	Especificidade 1 - %	Sensibilidade%
< 0,2775	11,54	60,00
< 0,2939	11,54	63,33
< 0,3208	11,54	66,67
< 0,3682	15,38	66,67
< 0,4120	19,23	66,67
< 0,4212	19,23	70,00
< 0,4219	23,08	70,00
< 0,4246	23,08	73,33
< 0,4275	23,08	76,67
< 0,4380	26,92	76,67
< 0,4531	30,77	76,67
< 0,4758	30,77	80,00
< 0,4954	34,62	80,00
< 0,5166	34,62	83,33
< 0,5364	38,46	83,33
< 0,5466	38,46	86,67
< 0,5881	42,31	86,67
< 0,6268	46,15	86,67
< 0,6379	50,00	86,67
< 0,6606	50,00	90,00
< 0,6792	53,85	90,00
< 0,6886	57,69	90,00
< 0,7008	61,54	90,00
< 0,7230	61,54	93,33
< 0,7641	61,54	96,67
< 0,8075	65,38	96,67
< 0,8428	65,38	100,00
< 0,9630	69,23	100,00
< 1,071	73,08	100,00
< 1,114	76,92	100,00
< 1,200	80,77	100,00
< 1,290	84,62	100,00

Considerando os valores apresentados na Tabela 20, verifica-se que a interpretação da curva ROC depende da importância de alguns critérios para diagnosticar a DA (ter menos falsos positivos – alta especificidade; ou ter menos falsos negativos – alta sensibilidade). Se uma destas situações é mais importante do que a outra para o diagnóstico da DA, é preciso indicar o ponto de corte que mantenha 100% dessa característica (sensibilidade ou especificidade) e que ao mesmo tempo possua o menor valor da outra. Por exemplo, na

Tabela 20, o ponto de corte $< 0,8428$ capta 100% dos sujeitos com DA, contudo, diagnostica erroneamente 65,38% dos sujeitos controles como doentes (falsos positivos).

Caso nenhuma das características possua maior relevância para o diagnóstico da DA, recomenda-se o uso de um ponto de corte que obtenha ao mesmo tempo um valor mais alto de sensibilidade e mais baixo de especificidade. Nesse caso, por exemplo, situa-se o ponto de corte $< 0,4212$ da Tabela 20, que capta sensibilidade de 70% e especificidade de 80,77%, ou seja, 70% dos sujeitos com DA e 19,23% de controles como doentes. O Gráfico 11 ilustra a curva ROC obtida a partir dos valores de especificidade e Sensibilidade da razão ADAM10/ β -actina.

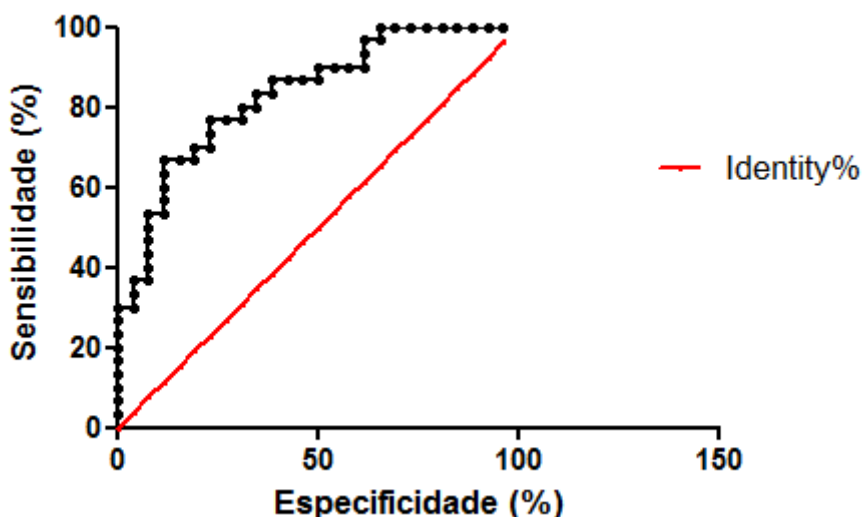


Gráfico 11. Curva ROC referente aos valores de Especificidade e Sensibilidade da razão ADAM10/ β -actina. São Carlos, 2012.

Padovani *et al.* (2001), avaliaram 85 pacientes com DA e 95 controles, sendo 52 controles saudáveis e 43 idosos com outro tipo de demência, com o intuito de verificar a acurácia da razão das isoformas da APP plaquetária, um parâmetro de forte relação com a ADAM10. Em seu estudo, a curva ROC acusou o ponto de corte menor ou igual a 0,57 da razão entre as isoformas da APP com sensibilidade de 88,2% e especificidade de 89,4%.

Nos últimos anos, a literatura científica internacional vem discutindo sobre a atividade da ADAM10 como um possível biomarcador para a DA (COLCIAGHI *et al.*, 2002 e 2004; BORRONI *et al.*, 2001, 2006 e 2010; KUHN *et al.*, 2010; EPIS *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2011; LICHTENTHALER, 2011). Diante da cascata β -amilóide envolvida na doença, vários outros marcadores plaquetários além da ADAM10 têm sido sugeridos, como a sAPP α

(Colciaghi *et al.*, 2002), sAPP β (Holsinger *et al.*, 2002), A β (Tang *et al.*, 2006; Song *et al.*, 2009), secretases como a BACE1 (Borroni *et al.*, 2006; Tang *et al.*, 2006), γ -secretase (Kuhn *et al.*, 2010), níveis de C99 e C83 (Evin *et al.*, 2003), razão da APP (Di Luca *et al.*, 2000; Borroni *et al.*, 2001 e 2010), assim como a associação destes com métodos diagnósticos já estabelecidos na prática clínica (BORRONI *et al.*, 2005). Entretanto, mais estudos com amostragem ampliada e que padronizem a metodologia de busca, coleta e análise se fazem necessários.

Recentemente a identidade da α -secretase foi amplamente investigada. Em estudo de Kuhn *et al.* (2010), um novo anticorpo (4B4) foi utilizado para detectar o subproduto da clivagem da APP pela α -secretase (sAPP α), um outro possível marcador para a DA. Foi verificado que através da supressão da ADAM10 a sAPP α foi completamente bloqueada em duas linhagens de células e em neurônios primários. Os achados deste estudo mostram que a ADAM10 é a α -secretase primordial do processo patofisiológico de clivagem da APP e que o 4B4 pode ser útil na busca de novos biomarcadores para a DA, devido sua maior especificidade para sAPP α .

Além disso, alterações dos níveis de sAPP α podem contribuir na identificação de mutações no pró-domínio da ADAM10, as quais reduzem sua atividade de secretase ocasionando aumento no risco de desenvolver a DA (KIM, *et al.*, 2009).

A ADAM10 é, portanto, a principal protagonista do metabolismo fisiológico da APP, atuando como α -secretase via não-amiloidogênica (BORRONI *et al.*, 2010). Evidências retratam que as plaquetas contêm todos os mecanismos enzimáticos para produzir os subprodutos da α e β secretases, sendo deste modo, uma forma mais acessível ao material humano para o estudo bioquímico da APP e seu metabolismo, tanto em condições fisiológicas quanto patológicas (COLCIAGHI *et al.*, 2002; EVIN *et al.*, 2003).

Diante do exposto, ressalta-se que biomarcadores têm sido desenvolvidos para o diagnóstico, prognóstico e avaliação da progressão da doença. Os motivos destas iniciativas se fundamentam sobre a hipótese de que um biomarcador deve apresentar pelo menos uma relação indireta com o processo patológico da doença ou idealmente uma associação direta com seus mecanismos primários (BORRONI *et al.*, 2010).

Nos últimos anos, o grupo de pesquisa italiano se atenta principalmente sobre a busca de biomarcadores periféricos em plaquetas, utilizando-se de formas da APP e secretases, compostos chaves da patogênese da DA (KUHN *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2011).

No estudo de Epis *et al.* (2010), a interferência durante duas semanas entre o complexo ADAM10 e proteína 97 (uma estrutura de membrana pós-sináptica) foi suficiente para causar aumento do metabolismo amiloidogênico da APP e permitir a reprodução da fase inicial da DA em um modelo animal não transgênico.

Outros estudos também avaliaram a razão das isoformas da APP em estágios precoces da doença, como no CCL. No estudo prospectivo de Borroni *et al.* (2003) 12 idosos em CCL foram acompanhados e avaliados após dois anos. Foi verificado que entre os idosos que desenvolveram DA a razão das isoformas da APP plaquetária foi significativamente reduzida ($0,36 \pm 0,28$) em comparação com os idosos que mantiveram-se estáveis cognitivamente ($0,73 \pm 0,32$), com p -valor $< 0,01$. Entre os idosos que desenvolveram outro tipo de demência a razão encontrada foi de $0,83 \pm 0,27$ e $p = 0,03$. A curva ROC com ponto de corte 0,6 apresentou sensibilidade para detecção de DA pré-clínica de 83% e especificidade de 71%.

O estudo de Borroni *et al.* (2003) apresenta, portanto, que alterações na razão das isoformas da APP plaquetária ocorrem precocemente, antecedendo os sintomas clínicos da DA em até pelo menos dois anos. Também conclui que este parâmetro pode ser muito útil para detectar a DA pré-clínica em sujeitos com CCL. Este achado vai de acordo com as hipóteses gerais de que alterações biológicas ocorrem antes do início da sintomatologia das doenças neurodegenerativas (BORRONI *et al.*, 2003). Estes achados estimulam a continuidade desta pesquisa no sentido de mensurar a ADAM10 em outros níveis de demência, como no CCL.

Di Luca *et al.* (2005), também utilizaram da associação de três parâmetros (ADAM10, BACE e razão das isoformas da APP) para discriminar a DA em estágios precoces. Estes resultados concordam com a literatura recente, que sugere a combinação de diferentes biomarcadores para alcançar maior acurácia no diagnóstico da DA pré-clínica. Os achados de Borroni *et al.* (2005) também corroboram com esta hipótese. Com o intuito de identificar a DA pré-clínica em sujeitos com CCL, a curva ROC apresentou sensibilidade e especificidade de 87% e 90% respectivamente quanto utilizado a combinação da razão das isoformas da APP com o SPECT.

Assim, destaca-se que os marcadores diagnósticos para a DA serão de expressiva relevância nos estágios iniciais da doença, antes que a neurodegeneração esteja muito severa e disseminada. A dispersão do conhecimento sobre a DA na população e a conscientização da possibilidade de tratamentos medicamentosos tem ocasionado o procura

por informações médicas precocemente, quando o quadro clínico característico da demência ainda é muito sutil e pouco perceptível (BORRONI *et al.*, 2010).

Associado a isso, a aplicação do termo Comprometimento Cognitivo Leve nos últimos anos tem definido a população com maior risco de desenvolvimento da DA, o que é crucial para o início imediato de intervenções, e futuramente um próximo passo de investigação para este grupo de pesquisa.

6. CONCLUSÕES

O presente estudo permitiu conhecer o perfil sociodemográfico, as condições cognitivas e plaquetárias da ADAM10 de 30 idosos com diagnóstico de DA atendidos pelo Centro Municipal de Especialidades e pela Unidade Saúde Escola além de 25 idosos atendidos pelas Unidades de Saúde da Família do município.

Os dados mostram que os idosos selecionados para esta pesquisa são em sua maioria do sexo feminino, de 70 anos ou mais, com ensino fundamental incompleto e renda mensal de um a dois salários mínimos. A maioria dos idosos revelou ser hipertensa. A alocação geográfica dos sujeitos se mostrou com boa distribuição territorial pelo município.

Em relação aos níveis de CDR, verificou-se que 33% dos idosos apresentam CDR1, 37% CDR2 e 30% CDR3. Considerando-se as pontuações obtidas no MEEM bruto, a média encontrada foi de 27,28 no Grupo Controle e 10,57 no Grupo DA, correspondendo aos valores de 1,14 e 0,45 para a razão MEEM respectivamente.

Os resultados mostram que há redução plaquetária da proteína ADAM10 em idosos brasileiros com DA. Até este momento, não foi encontrada nenhuma literatura brasileira que tenha estudado a expressão da ADAM10 em idosos com DA. Verifica-se uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$) entre idosos com DA (CDR1, CDR2 e CDR3) e controles pareados segundo sexo, idade e escolaridade para as variáveis ADAM10 bruta, razão ADAM10/ β -actina, MEEM bruto e razão MEEM.

Os dados mostram uma diferença estatisticamente significativa entre os sujeitos com DA e seus respectivos controles para todos os CDRs individualmente. Entre os resultados obtidos, observa-se que para os sujeitos classificados como CDR1, CDR2 ou CDR3, o nível de expressão da proteína ADAM10 bruta ou em razão pela β -actina está diminuída, comparado aos níveis dos sujeitos controles. De mesma forma, observa-se que a pontuação do MEEM assume relação negativa com o avanço da doença.

Quanto aos dados de correlação do MEEM com a ADAM10, verifica-se que para o Grupo DA houve correlação positiva para todas as variáveis analisadas (MEEM bruto/razão MEEM vs ADAM10 bruta/ razão ADAM10/ β -actina), com p -valores estatisticamente significantes. Do mesmo modo, a variável independente razão ADAM10/ β -actina é estatisticamente significativa para explicar a variação do CDR, ou seja, quando ocorre diminuição dos valores da razão ADAM10/ β -actina existe aumento do grau do CDR, ou vice-versa.

Portanto, a partir destes resultados, é possível afirmar que há correlação significativa entre os valores da razão da ADAM10/ β -actina com os instrumentos de avaliação cognitiva CDR e MEEM.

A análise *entre* os níveis de CDR que com o avanço do quadro clínico da demência, os níveis plaquetários da ADAM10, tendem a apresentar valores cada vez mais reduzidos.

Os resultados mostram que as variáveis sexo, escolaridade e idade não apresentam significância estatística e, portanto, não são variáveis determinantes para o aumento da probabilidade de ocorrência da DA. Apenas o *p*-valor referente à variável razão ADAM10/ β -actina foi estatisticamente significativa ($p = 0,01$), ou seja, a diminuição da razão ADAM10/ β -actina se mostra como um fator relevante para o aumento do risco de ocorrência da doença.

A análise da curva ROC permitiu uma visualização da possibilidade (dado a Especificidade vs Sensibilidade) da aplicação da razão ADAM10/ β -actina como uma ferramenta de auxílio no diagnóstico da DA. Contudo, verifica-se que a adequação dos pontos de corte não permite uma perfeita acurácia do teste. Portanto, apesar da razão ADAM10/ β -actina possuir um relevante potencial para diferenciação do diagnóstico da DA entre controles e doentes além da gradação da doença em seus diversos estágios, algumas considerações devem ser abordadas com o intuito da melhoria do teste. Isto pode ser explicado devido às técnicas laboratoriais empregadas neste estudo (*Western Blotting* e Revelação Colorimétrica). Dado que os procedimentos que envolvem a obtenção das bandas de ADAM10 e β -actina foram realizados em momentos diferentes para cada grupo de CDR, os dados encontrados podem apresentar vieses. Como exemplo cita-se a utilização inicial da solução de anticorpos em comparação a sua reutilização, fato este que torna menos evidente a presença da proteína estudada. Este evento também influenciou outro importante parâmetro: o tempo de exposição da membrana para a revelação, o qual sofreu variações em questão da qualidade do anticorpo utilizado (fresco ou reutilizado).

Entretanto, cabe ressaltar que a diferenciação entre os sujeitos com DA e seus respectivos controles foi mantida e provavelmente se encontra livre das interações citadas acima, visto que as amostras pareadas eram procedidas no mesmo experimento (mesmo gel e membrana).

Em vista disso, a implementação de uma técnica laboratorial mais sensível e que sofra menos influências externas pode vir a ser um próximo passo na busca de resultados

ainda mais fidedignos e que também comprovem a capacidade promissora da razão ADAM10/ β -actina como um biomarcador plaquetário da DA.

Embora nenhum grupo de pesquisa brasileiro tenha publicado ainda sobre a ADAM10, o interesse pelos biomarcadores tem crescido significativamente no meio científico.

Nesta pesquisa algumas limitações podem ser apontadas, como o número reduzido da amostra e a extensa gama de critérios de exclusão. Mesmo diante das dificuldades e limitações apontadas, a ADAM10 plaquetária parece ser uma proteína biomarcadora para a doença de Alzheimer e a continuidade desta linha de pesquisa se faz necessária. Além de sua contribuição para o diagnóstico da DA, a ADAM10 plaquetária possui reduzido custo e método de obtenção menos invasivo do que os procedimentos atualmente empregados.

Nossos achados da redução da ADAM10 em idosos com DA e sua correlação com testes cognitivos são promissores e nos entusiasma a avançar nesta linha de investigação.

REFERÊNCIAS

- AEVARSSON, O.; SKOOG, I. A longitudinal population study of the mini-mental state examination in the very old: relation to dementia and education. **Dement. Geriatr. Cogn. Disord.**, 11:166-175, 2000.
- ALBERT, M.S.; DEKOSKY, S.T.; DICKSON, D. *et al.* The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging and Alzheimer's Association workgroup. **Alzheimer's & Dementia**, 2011.
- ALEXOPOULOS, G.S.; ABRAMS, R.C.; YOUNG, R.C. *et al.* Cornell Scale for Depression in Dementia. **Biol Psychiatry**, 23:271-284, 1988.
- ALLEGRI, R.F., *et al.* Role of cognitive reserve in progression from mild cognitive impairment to dementia. **Dement. Neuropsychol.**, 4(1):28-34, 2010.
- ALLISON, T.M.J.; PARKIN, E.T.; TURNER, A.J. *et al.* ADAMs Family Members As Amyloid Precursor Protein α -Secretases. **Journal of Neuroscience Research.**, 74:342-352, 2003.
- ALMEIDA, O.P. Mini-exame do estado mental e o diagnóstico de demência no Brasil. **Arq. Neuropsiquiatr.**, 56(3B):605-12, 1998.
- ALVES, A.M. Os idosos, as redes de relações sociais e as relações familiares. In: NERI, A.L. (Org.). **Idosos no Brasil: vivências, desafios e expectativas na terceira idade.** São Paulo: Editora Fundação Perseu Abramo, 2007. p.125-139.
- ALZHEIMER DISEASE INTERNATIONAL (ADI). **World Alzheimer Report - Prevalence and Impact of Dementia from a Global perspective.** Londres, 2009. 16p.
- ALZHEIMER DISEASE INTERNATIONAL (ADI). **World Alzheimer Report - The Global Economic Impact of Dementia.** Londres, 2010. 16p.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION – APA. **Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais.** 4. ed. Porto Alegre: Artmed. 2003. p.168-177.
- AMOUR, A., *et al.* The in vitro activity of ADAM-10 is inhibited by TIMP-1 and TIMP-3. **FEBS Lett.**, 473(3):275-279, 2000.
- ARAÚJO, C.L.; NICOLI, J.S. Uma revisão bibliográfica das principais demências que acometem a população brasileira. **Revista Kairós Gerontologia**, 13(1): 231-244, 2010.
- ASAI, M., *et al.* Putative function of ADAM9, ADAM10, and ADAM17 as APP alpha-secretase. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 301(1): 231-235, 2003.
- ATKINSON, A.J.; COLBURN, W.A.; DEGRUTTOLA, V.G. *et al.* Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. **Clin. Pharmacol. Ther.**, 69:89–95, 2001.

ÁVILA, R.; MIOTTO, E. Reabilitação neuropsicológica de déficits de memória em pacientes com demência de Alzheimer. **Rev. Psiq. Clín.**, 29(4):190-196,2002.

BARRETO, K.M.L., *et al.* Perfil sócio epidemiológico demográfico das mulheres idosas da Universidade Aberta à Terceira Idade no estado de Pernambuco. **Rev. Bras. Saúde Mater. Infant.**, 3(3):339-354, 2003.

BECKER, Y. Computer simulations to predict the availability of peptides with known HLA class I motifs possibly generated by proteolysis of HIV-1 proteins in infected cells. **Virus Genes**, 10(3): 227-37, 1995.

BLACK, R.A., *et al.* A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor-alpha from cells. **Nature**, 385(6618): 729-33, 1997.

BLASKO, I.; JELLINGER, K.; KEMMLER, G. Conversion from cognitive health to mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: Prediction by plasma amyloid beta 42, medial temporal lobe atrophy and homocysteine. **Neurobiology of Aging**, 29(1):1-11, 2008.

BLENNOW, K.; LEON, M.J.; ZETTENBERG, H. Alzheimer's disease. **Lancet**, 368:387-403, 2006.

BLESSED,G.; TOMLINSON, B.E.; ROTH, M. Observations on the brains of demented old people. **Journal of the Neurological Sciences**, 7:331-356, 1968.

BLOBEL, C.P.; WHITE, J.M. Structure, function and evolutionary relationship of proteins containing a disintegrin domain. **Curr. Opin. Cell. Biol.**, 4(5): 760-5, 1992.

BORRONI, B.; COLCIAGHI, F.; PASTORINO, L., *et al.* Amyloid Precursor protein in platelets of patients with Alzheimer disease: effects of acetylcholinesterase inhibitor treatment. **Arch. Neurol.**, 58:442-446, 2001.

BORRONI, B.; COLCIAGHI, F.; CALTAGIRONE, C., *et al.* Platelet amyloid precursor protein abnormalities in mild cognitive impairment predict conversion to dementia of Alzheimer type: a 2-year follow-up study. **Arch. Neurol.**, 60(12):1740-1744, 2003.

BORRONI, B.; PERANI, D.; BROLI, M., *et al.* Pre-clinical diagnosis of Alzheimer disease combining platelet amyloid precursor protein ratio and rCBF spect analysis. **J. Neurol.**, 52(11):1359-1362, 2005.

BORRONI, B.; DI LUCA, M.; PADOVANI, A. Predicting Alzheimer dementia in mild cognitive impairment patients: Are biomarkers useful? **European Journal of Pharmacology**, 545:73-80, 2006.

BORRONI, B.; AGOSTI, C.; MARCELLO, E., *et al.* Blood cell markers in Alzheimer Disease: Amyloid Precursor Protein form ratio in platelets. **Experimental Gerontology**. 45(1):53-56, 2010.

BOTTINO, C.M.C.; LAKS, J.; BLAY, S.L. **Demência e transtornos cognitivos em idosos.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 508p.

BOUSTANI, M.; PETERSON, B.; HANSON, L., *et al.* Screening for dementia in primary care: a summary of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. **Ann. Intern. Med.**, 138:927-937, 2003.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Comitê Nacional de Ética em Pesquisa em Seres Humanos. Resolução nº196, de 10 de outubro de 1996. **Diretrizes e Normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos**. Brasília, DF, abril, 1997.

BRETELER, M.M. Vascular risk factors for Alzheimer's disease: an epidemiologic perspective. **Neurobiol. Aging**, 21:153-60, 2000.

BRUCKI, S.M.D.; NITRINI, R.; CARAMELLI, P., *et al.* Sugestões para o uso do mini exame do estado mental no Brasil. **Arquivos de neuropsiquiatria**, 61(3-B):777-781, 2003.

BUXBAUM, J.D., *et al.*, Evidence that tumor necrosis factor alpha converting enzyme is involved in regulated alpha-secretase cleavage of the Alzheimer amyloid protein precursor. **J. Biol. Chem.**, 273(43):27765-7, 1998.

CÂMARA, L.C.; SANTARÉM, J.M.; FILHO, W.J. Atualização de conhecimentos sobre a prática de exercícios resistidos por indivíduos idosos. **Acta Fisiatr.**, 15(4):257- 262, 2008.

CAMERON, A.C.; TRIVEDI, P.K. **Microeconometrics using Stata**. Stata Press, College Station, Texas, 2009.

CARAMELLI, P.; HERRERA, E.; NITRINI, R. The mini-mental state examination in a cohort of illiterate elderly patients. **Ann. Neurol.**, 44:495,1998.

CARAMELLI, P.; NITRINI, R. Conduta diagnóstica em demência. In: Forlenza, O.V., ALMEIDA, O.P., *et al.* **Depressão e Demência no idoso**. São Paulo: Lemos, 1997. 107-119.

CARAMELLI, P.; TEIXEIRA, A.L.; BUCHPIGUEL, C.A., *et al.* Diagnóstico de doença de Alzheimer no Brasil – exames complementares. **Dement. Neuropsychol.**, 5(S):11-20, 2011.

CERRETTI, D.P., *et al.* Characterization of the cDNA and gene for mouse tumour necrosis factor alpha converting enzyme (TACE/ADAM17) and its location to mouse chromosome 12 and human chromosome 2p25. **Cytokine**, 11(8):541-51, 1999.

CHANG, C.; WERB, Z. The many faces of metalloproteases: cell growth, invasion, angiogenesis and metastasis. **Trends Cell Biol.**, 11(11):S37-43, 2001.

CHAVES, M.L.F.; GODINHO, C.C.; PORTO, C.S., *et al.* Doença de Alzheimer – avaliação cognitiva, comportamental e funcional. **Dement. Neuropsychol.**, 5(S):21-33, 2011.

COLCIAGHI, F., *et al.* [alpha]-Secretase ADAM10 as well as [alpha]APPs is reduced in platelets and CSF of Alzheimer disease patients. **Mol. Med.**, 8(2):67-74, 2002.

COLCIAGHI, F., *et al.* Platelet APP, ADAM 10 and BACE alterations in the early stages of Alzheimer disease. **Neurology**, 62(3):498-501, 2004.

COLE, S.L.; VASSAR, V. The Alzheimer's disease beta-secretase enzyme, BACE1. *Mol. Neurodegener.*, 2:22, 2007.

CORDER, E.H.; LANNFELT, L.; BOGDANOVIC, N., *et al.* The role of APOE polymorphisms in late-onset dementias. *CMLS*, 54: 928-934, 1998.

CRUZ, D.T.; CAETANO, V.C.; LEITE, I.C.G. Envelhecimento populacional e bases legais da atenção à saúde do idoso. *Cad. Saúde Colet.*, 18(4):500-8, 2010.

CUMMINGS, J.L.; MEGA, M.; GRAY, K. *et al.* The Neuropsychiatric Inventory: comprehensive assessment of psychopathology in dementia. *Neurology*, 44:2308-2314, 1994.

CUMMINGS, J.L. Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.*, 351(1):56-67, 2004.

DAVIS, R.N.; MASSMAN, P.J.; DOODY, R.S. Cognitive Intervention in Alzheimer Disease: A Randomized Placebo-Controlled Study. *Alzheimer Disease and Associated Disorders*, 15:1-9, 2001.

DEUSS, M.; REISS, K.; HARTMANN, D. Part-time alpha-secretases: the functional biology of ADAM 9, 10 and 17. *Curr. Alzheimer Res.*, 5(2):187-201, 2008.

DEZIDERIO, L.A.G. **Extração das isoformas da proteína precursora do amiloide em plasma rico em plaquetas para testes proteômicos como biomarcador para doença de Alzheimer.** 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

DI LUCA, M.; COLCIAGHI, F.; PASTORINO, L., *et al.* Platelets as a peripheral district where to study pathogenetic mechanisms of Alzheimer disease: the case of amyloid precursor protein. *European Journal of Pharmacology*, 405:277-283, 2000.

DI LUCA, M.; GROSSI, E.; BORRONI, B., *et al.* Artificial neural networks allow the use of simultaneous measurements of Alzheimer disease markers for early detection of the disease. *J. Transl. Med.*, 3(30), 2005.

DI LUCA, M.; PASTORINO, L.; CATTABENI, F., *et al.* Abnormal pattern of platelet APP isoforms in Alzheimer disease and Down syndrome. *Arch. Neurol.*, 53(11):1162-1166, 1996.

DINIZ, B.; VOLPE, F.M.; TAVARES, A. Cognitive function in elderly: the effect of age, low educational level, and age of education onset. *Neurobiology of Aging*, 23(suppl):S452, 2002.

DINIZ, B.S.O.; NUNES, P.V.; YASSUDA, M.S.; FORLENZA, O.V. Diagnosis of mild cognitive impairment revised after one year: preliminary results of a prospective study. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.*, 27(3):224-231, 2009.

DINIZ, B.S.O.; VOLPE, F.M.; TAVARES, A.R. Nível educacional e idade no desempenho no Mini-exame do Estado Mental em idosos residentes na comunidade. *Rev. Psiquiatr. Clín.*, 34(1), 2007.

EMI, M., *et al.* A novel metalloprotease/disintegrin-like gene at 17q21.3 is somatically rearranged in two primary breast cancers. *Nat. Genet.*, 5(2):151-7, 1993.

ENGELHARDT, E.; LACKS, J.; ROZENTHAL, M., *et al.* Idosos institucionalizados: rastreamento cognitivo. **Rev. Psiq. Clin.**, 125:74-79, 1998.

EPIS, R.; MARCELLO, E.; GARDONI, F., *et al.* Blocking ADAM10 synaptic trafficking generates a model of sporadic Alzheimer's disease. **Brain**, 133:3323-3335, 2010.

EVIN, G., *et al.* Proteolytic Processing of the Alzheimer's Disease Amyloid Precursor Protein in Brain and Platelets. **Journal of Neuroscience Research**, 74:386-392, 2003.

FAGAN, A.M.; MINTUN, M.A.; MACH, R.H., *et al.* Inverse relation between in vivo amyloid imaging load and cerebrospinal fluid Abeta42 in humans. **Ann. Neurol.**,59:512-519, 2006.

FAHRENHOLZ, F. Alpha-secretase as a therapeutic target. **Curr. Alzheimer Res.**, 4, 412-417, 2007.

FELICIANO, A.B.; MORAES, S.A.; FREITAS, I.C.M. O perfil do idoso de baixa renda no Município de São Carlos, São Paulo, Brasil: um estudo epidemiológico. **Cad. Saúde Pública**, 20(6):1575-1585, 2004.

FERREIRA, D.F.; OLIVEIRA, F.A. **Envelhecimento saudável: percepção dos idosos quanto a sua capacidade funcional no cotidiano.** Alfenas: UNIFAL – MG – Escola de Enfermagem, Trabalho de Conclusão de Curso, 97p, 2005.

FISCHER, P., *et al.* Conversion from subtypes of mild cognitive impairment to Alzheimer dementia. **Neurology**, 68:288-291, 2007.

FLIER, W.M.; SCHELTENS, P. Epidemiology and risk factors of dementia. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**, 76(suppl-V):v2-v7, 2005.

FOLSTEIN, M.F.; FOLSTEIN, S.E.; MCHUGH, P.R. "Mini Mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. **J. Psychiatr. Res.**, 12:189-98, 1975.

FOSS, M.; VALE, F.; SPECIALI, J. Influência da escolaridade na avaliação neuropsicológica de idosos. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, 63 (1),119-126, 2005

FOX, J.W.; SERRANO, S.W. Structural considerations of the snake venom metalloproteinases, key members of the M12 reprotolysin family of metalloproteinases. **Toxicon.**, 45(8):969-85, 2005.

FROTA, N.A.F.; NITRINI, R.; DAMASCENO, B.P., *et al.* Critérios para o diagnóstico de doença de Alzheimer. **Dement. Neuropsychol.**,5(S):5-10, 2011.

GAINOTTI, G.; FERRACCIOLI, M.; VITA, M.G.; MARRA, C. Patterns os neuropsychological impairment in MCI patients with small subcortical infarcts or hippocampal atrophy. **JINS**, 14:611-619, 2008.

GARTON, K.J., *et al.* Tumor necrosis factor-alpha-converting enzyme (ADAM17) mediates the cleavage and shedding of fractalkine (CX3CL1). **J. Biol. Chem.**, 276(41): 37993-8001, 2001.

GAUTHIER, L.; GELINAS, I.; MCINTYRE, M. *et al.* **Disability Assessment for Dementia (DAD) user's guide**, 1994.

GILPIN, B.J., *et al.* A novel, secreted form of human ADAM 12 (meltrin alpha) provokes myogenesis in vivo. **J. Biol. Chem.**, 273(1):157-66, 1998.

GONÇALVES, L.H.T., *et al.* Perfil da família cuidadora de idoso doente/fragilizado do contexto sociocultural de Florianópolis, SC. **Rev. Texto & Contexto Enferm.**, 15(4):570-577, 2006.

GRAFF-RADFORD, N.R.; CROOK, J.E.; LUCAS, *et al.* Association of low plasma A β 42/A β 40 ratios with increased imminent risk for mild cognitive impairment and Alzheimer disease. **Arch. Neurol.**, 64:354-62, 2007.

HANCOCK, W.S. What is new in proteomics? Biomarkers. **Journal of Proteome Research**, 2(5):457, 2003.

HARVEY, R.J.; SKELTON-ROBINSON, M.; ROSSOR, M.N. The prevalence and causes of dementia in people under the age of 65 years. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**, 74:1206-9, 2003.

HASS, C.; LEMERE, C.A.; CAPELL, A., *et al.* The Swedish mutation causes early-onset Alzheimer's disease by beta-secretase cleavage within the secretory pathway. **Nat. Med.**, 1:1291-1296, 1995.

HERRERA, E.; CARAMELLI, P.; NITRINI, R. Estudo epidemiológico populacional de demência na cidade de Catanduva, Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Psiquiatr. Clin.**, 25:70-73, 1998.

HILL, L.R.; KLAUBER, M.L.; SALMON, D.P., *et al.* Functional status, education, and the diagnosis of dementia in the Shangay survey. **Neurology**, 43:138-145, 1993.

HILDMARCH, I.; LEHFELD, H.; DE JONGH, P. *et al.* The Bayer Activities of Daily Living Scale (B-ADL). **Dement Geriatr Cogn Disord**, 9 Suppl 2:20-26, 1998.

HODGES, J.R. Alzheimer's centennial legacy: origins, landmarks and the current status of knowledge concerning cognitive aspects. **Brain**, 129: 2811-22, 2006.

HOLSINGER, R.M.D.; CATRIONA, A.; BEYREUTHER, K., *et al.* Increased expression of the Amyloid Precursor beta-secretase in Alzheimer's disease. **Ann. Neurol.**, 51:783-786, 2002.

HOOPER, N.M. Families of zinc metalloproteases. **FEBS Lett**, 354(1):1-6, 1994.

HOOPER, N.M.; TURNER, A.J. The search for alpha-secretase and its potential as a therapeutic approach to Alzheimer's disease. **Curr. Med. Chem.**, 9(11):1107-19, 2002.

HUGHES, C.P.; BERG, L.; DANZIGER, W.L., *et al.* A new clinical scale for the staging of dementia. **Br J Psychiatry**, 140:566–572, 1982.

IBA, K., *et al.* Cysteine-rich domain of human ADAM 12 (meltrin alpha) supports tumor cell adhesion. **Am. J. Pathol.**, 154(5):1489-501, 1999.

IBANEZ, V.; DEIBER, M.P. Functional imaging in mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease: is it pertinent? **Front. Neurol. Neurosci.**, 24:30-8, 2009.

INOUYE, K.; OLIVEIRA, G.H. **Avaliação crítica para o tratamento farmacológico atual para doença de Alzheimer.** Infarma, Brasília, 2003. 15(11-12):80-84.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Estimativa da população idosa brasileira.** Censo 2007. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 09 jul. 2010.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Política de Saúde. **Política Nacional de Saúde da Pessoa Idosa.** 2007. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/2528_pnspi.pdf>. Acesso em: 1 mar. 2010.

_____. **Síntese de Indicadores Sociais** – 2009. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1476&id_pagina=1> Acesso em 25 set. 2010.

_____. **Síntese de Indicadores Sociais** – 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1476&id_pagina=1> Acesso em 06 Maio 2011.

_____. **Síntese de Indicadores Sociais** – 2008. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_impresao.php?id_noticia=1233>. Acesso em 09 set. 2010.

IRVINE, G. B., *et al.* Protein aggregation in the brain: the molecular basis for Alzheimer's and Parkinson's disease. **Molecular Medicine**, 14(7-8):451-464, 2008.

IZUMI, Y., *et al.* A metalloprotease-disintegrin, MDC9/meltrin-gamma/ADAM9 and PKCdelta are involved in TPA-induced ectodomain shedding of membrane-anchored heparin-binding EGF-like growth factor. **Embo. J.**, 17(24):7260-72, 1998.

JACK, C.T.; LOWE, V.J.; WEIGAND, S.D., *et al.* Alzheimer's disease neuroimaging initiative. Serial PIB and MRI in normal, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: implications for sequence of pathological events in Alzheimer's disease. **Brain**, 132:1355-1365, 2009.

JELLINGER, K.A. Alzheimer 100 – highlights in the history of Alzheimer research. **Journal of Neural Transmission.**, 113:1603-1623, 2006.

JOHNSON, N.; BARION, A.; RADEMAKER, A. *et al.* The Activities of Daily Living Questionnaire: a validation study in patients with dementia. **Alzheimer Dis Assoc Disord**, 18:223-230, 2004.

JORISSEN, E.; PROX, J.; BERNREUTHER, C., *et al.* The disintegrin/metalloproteinase ADAM10 is essential for the establishment of the brain cortex. **J. Neurosci.**, 30:4833–4844, 2010.

JORM, A.F.; JACOMB, P.A. The informant Questionnaire on Cognitive Decline in the Elderly (IQCODE): socio-demographic correlates, reliability, validity and some norms. **Psychol. Med.**, 19:1015-1022, 1989.

KAPLAN, E.F.; GOODGLASS, H.; WEINTRAUB, S. **Boston Naming Test**. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2001.

KATZ, S.; FORD, A.B.; MOSKOWITZ, R.W., *et al.* Studies of illness in the aged. The index of ADL: a standardized measure of biological and psychosocial function. **JAMA**, 185:914-919, 1963.

KAWASHIMA, M.M.; IHARA, Y. Alzheimer's disease: β -amyloid protein and Tau. **Journal of Neuroscience Research**, 70:392-401, 2002.

KERWIN, D.R. How to prevent a delayed Alzheimer's diagnosis. **J. Fam. Pract.**, 58(1):9-15, 2009.

KNAPP, M.; PRINCE, M. **Dementia UK – A report into the prevalence and cost of dementia prepared by the Personal Social Services Research Unit (PSSRU) at the London School of Economics and the Institute of Psychiatry at King's College London, for the Alzheimer's Society**. London: The Alzheimer's Society, 2007. 54p.

KOO, E.H.; SQUAZZO, S.L. Evidence that production and release of amyloid beta-protein involves the endocytic pathway. **J. Biol. Chem.**, 269:17386-17389, 1994.

KUHN, P. H.; WANG, H.; DISLICH, B., *et al.* ADAM10 is the physiologically relevant, constitutive α -secretase of the amyloid precursor protein in primary neurons. **EMBO J.**, 29:3020–3032, 2010.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, 227(5259):680-5, 1970.

LEBRÃO, M.L. O projeto SABE em São Paulo: uma visão panorâmica. In: LEBRÃO, M.L.; DUARTE, Y.A.O. (Org.). **SABE: o projeto SABE no município de São Paulo: uma abordagem inicial**. São Paulo: OPAS, 2003. 33-44.

LEHRNER, J.; GUFLER, R.; GUTTMANN, G.; MALY, J.; GLEIB, A.; AUFF, E.; DAL-BIANCO, P. Annual conversion to Alzheimer disease among patients with memory complaints attending an outpatient memory clinic: the influence of amnesic mild cognitive impairment and the predictive value of neuropsychological testing. **Wien. Klin. Wochenschr.**, 117(18):629-635, 2005.

LEMONS, N.D.; GAZZOLA, J.M.; RAMOS, L.R. Cuidando do paciente com Alzheimer: o impacto da doença no cuidador. **Saúde e Sociedade**, 15(3):170-179, 2006.

LENARDT, M.H., *et al.* Desempenho das atividades de vida diária em idosos com Alzheimer. **Cogitare Enfermagem**, 16(1):13-21, 2011.

LICHTENTHALER, S.F. Alpha-secretase in Alzheimer's disease: molecular identity, regulation and therapeutic potential. **Journal of Neurochemistry**, 116(1):10-21, 2011.

LIU, H.C.; TENG, E.L.; LIN, N., *et al.* Performance on a dementia screening test in relation to demographic variables: study of 5297 community residents in Taiwan. **Arch. Neurol.**, 51:910-915, 1994.

LOBO, A.; LAUNER, L.J.; FRATIGLIONI, L., *et al.* Prevalence of dementia and major subtypes in Europe: a collaborative study of population-based cohorts. Neurologic diseases in the elderly research group. **Neurology**, 54(11suppl 5):S4-9, 2000.

LOECHEL, F., *et al.* Human ADAM 12 (meltrin alpha) is an active metalloprotease. **J. Biol. Chem.**, 273(27):16993-7, 1998.

LOEWNSTEIN, D.A.; BATES, C.B. The Direct Assessment of Functional Status-Revised (DAFS-R). **Manual for administration and scoring**. Neuropsychological Laboratories and the Wien Center for Alzheimer's Disease and Memory Disorders, Mount Sinai Medical Center, 2006.

LOURENÇO, R.A.; VERAS, R.P. Mini-exame do estado mental: características psicométricas em idosos ambulatoriais. **Rev. Saúde Pública**, 40(4):712-9, 2006.

LUNN, C.A., *et al.* Purification of ADAM 10 from bovine spleen as a TNFalpha convertase. **FEBS Lett**, 400(3):333-335, 1997.

LUZARDO, A.R.; GORINI, M.I.P.C.; SILVA, A.P.S. Características de idosos com doença de Alzheimer e seus cuidadores: uma série de casos em um serviço de neurogeriatria. **Rev. Texto e Contexto Enferm.**, 15(4):587-594, 2006.

MAIA, A.L.G.; GODINHO, C.; FERREIRA, E.D., *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**, São Paulo, v. 64, n. 2B, p. 485-489, 2006.

MARRA, T.A., *et al.* Avaliação das atividades de vida diária de idosos com diferentes níveis de demência. **Rev. Bras. Fisioter.**, 11(4):267-273, 2007.

MCKHAN, G.; DRACHMAN, D.; FOLSTEIN, M., *et al.* Clinical diagnosis for Alzheimer disease: report of the NINCS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's disease. **Neurology**, 34:939-944, 1984.

MCKHANN, G.M.; KNOPMAN, D.S.; CHERTKOW, H., *et al.* The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging and Alzheimer's Association workgroup. **Alzheimer's & Dementia**, 2011.

MESULAM, M. The cholinergic lesion of Alzheimer's disease: pivotal factor or side show? **Learn. Mem.**, 10:43–49, 2006.

MIOSHI, E.; DAWSON, K.; MITCHELL, J. *et al.* The Addenbrooke's Cognitive Examination Revised (ACE-R): a briefest battery for dementia screening. **Int J Geriatr Psychiatry**, 21:1078-1085, 2006.

MOHS, R.C.; COHEN, L. Alzheimer's Disease Assessment Scale (ADAS). **Psychopharmacology Bulletin**, 24:627-8, 1988.

MONTAÑO, M.B.; RAMOS, L.R. Validity of the Portuguese version of Clinical Dementia Rating. **Rev. Saude Publica**, 39(6):912-7, 2005.

MORRIS, J.C.; HEYMAN, A.; MOHS, R.C., *et al.* The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part I. Clinical and neuropsychological assessment of Alzheimer's disease. **Neurology**, 39:1159-1165, 1989.

MORRIS, J.C. The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. **Neurology**, 43:2412-2414, 1993.

MOSS, M.L., *et al.* Cloning of a disintegrin metalloproteinase that processes precursor tumour-necrosis factor-alpha. **Nature**, 385(6618):733-6, 1997.

MOSS, M.L.; BARTSCH, J.W. Therapeutic benefits from targeting of ADAM family members. **Biochemistry**, 43(23):7227-35, 2004.

MYLES, D.G., *et al.* Identification of a binding site in the disintegrin domain of fertilin required for sperm-egg fusion. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 91(10):4195-8, 1994.

NIKOLAEV, A.; MCLAUGHLIN, T.; O'LEARY, D. D.; TESSIER-LAVIGNE, M. APP binds DR6 to trigger axon pruning and neuron death via distinct caspases. **Nature**, 457(7232):981–989, 2009.

NITRINI, R., *et al.* Diagnóstico de doença de Alzheimer no Brasil: critérios diagnósticos e exames complementares. Recomendações do Departamento Científico de Neurologia cognitiva e do Envelhecimento da Academia Brasileira de Neurologia. **Arq. Neuropsiquiatr.**, 63(3-A):713-727, 2005.

NITRINI, R., *et al.* Prevalence of dementia in Latin America: a collaborative study of population-based cohorts. **International Psychogeriatrics**, 21:4, 622–630, 2009.

NITRINI, R.; CARAMELLI, P.; HERRERA, E. JR; DE, C. I.; BAHIA, V.S.; ANGHINAH, R., *et al.* Mortality from dementia in a community-dwelling Brazilian population. **International Journal of Geriatric Psychiatry**, 20(3):247-53, 2005.

NORDLUND, A.; ROLSTAD, S.; KLANG, O., *et al.* Episodic memory and speed/attention deficits are associated with Alzheimer-typical CSF abnormalities in MCI. **JINS**, 14:582-590, 2008.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. Declaração Política da II Assembléia Mundial da ONU sobre o Envelhecimento, Madri, 2002. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, 26(26):539-541.

PADOVANI, A.; BORRONI, B.; COLCIAGHI, F., *et al.* Platelet amyloid precursor protein forms in AD: a peripheral diagnostic tool and pharmacological target. **Mech. Ageing Dev.**, 122(16):1997-2004, 2001.

PADOVANI, A.; PASTORINO, L.; BORRONI, B., *et al.* Amyloid precursor protein in platelets: a peripheral marker for the diagnosis of sporadic AD. **Neurology**, 57(12):2243-2248, 2001.

PAVARINI, S.C.I., *et al.* Genograma: avaliando a estrutura familiar de idosos de uma unidade de saúde da família. **Rev. Eletr. Enferm.**, 10(1):39-50, 2008.

PESCHON, J.J., *et al.*, An essential role for ectodomain shedding in mammalian development. **Science**, 282(5392): 1281-4, 1998.

PETERSEN, R.C.; STEVENS, J.C.; GANGULI, M., *et al.* Practice parameter: early detection of dementia: mild cognitive impairment (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. **Neurology**, 56(9):1133-42, 2001.

PRINCE, M.; ACOSTA, D.; ALBANESE, E.; ARIZAGA, R.; FERRI, C.P.; GUERRA, M., *et al.* Ageing and dementia in low and middle income countries – Using research to engage with public and policy makers. **Int. Rev. Psychiatry**, 20(4):332-43, 2008.

QIN, W., *et al.* S100A7, a novel Alzheimer's disease biomarker with non-amyloidogenic alpha-secretase activity acts via selective promotion of ADAM-10. **Plos One**, 4(1): 4183, 2009.

RACCHI, M.; GOVONI, S. Rationalizing a pharmacological intervention on the amyloid precursor protein metabolism. **Trends. Pharmacol. Sci.**, 20:418-423, 1999.

RITCHIE, K.; ARTERO, S.; TOUCHON, J. Classification criteria for mild cognitive impairment A population-based validation study. **Neurology**, 56:37-42, 2001.

ROBERTS, C.M., *et al.* MDC-L, a novel metalloprotease disintegrin cysteine-rich protein family member expressed by human lymphocytes. **J. Biol. Chem.**, 274(41):29251-9, 1999.

RODRIGUES, R.A.P., *et al.* Morbidade e sua interferência na capacidade funcional de idosos. **Acta Paul. Enferm.**, 21(4):643-648, 2008.

ROGGERS, A.B. **Alzheimer's disease: unraveling the mystery**. US Department of Health and Human Services, U.S.D.o.H.a.H. Services. National Institute on Aging and National Institute of Health, 43, 2008

ROGHANI, M., *et al.* Metalloprotease-disintegrin MDC9: intracellular maturation and catalytic activity. **J. Biol. Chem.**, 274(6):3531-40, 1999.

ROSEN, W.G.; MOHS, R.C.; DAVIS, K.L., *et al.* ADAS-COG – A new rating scale for Alzheimer’s disease. **Am J Psychiatry**, 141:1356-1364, 1984.

ROSENDAHL, M.S., *et al.* Identification and characterization of a pro-tumor necrosis factor-alpha-processing enzyme from the ADAM family of zinc metalloproteases. **J. Biol. Chem.**, 272(39):24588-93, 1997.

ROTH, M.; TYM, E.; MOUNTJOY, C.Q., *et al.* - CAMDEX - A Standardized Instrument for the Diagnosis of Mental Disorder in the Elderly with Special Reference to the Early Detection of Dementia. **Br. J. Psychiatry**, 149:698-709, 1986.

ROTH, M.; HUPPERT, F.; MOUNTJOU, C.Q. *et al.* **CAMDEX-R: The Cambridge Examination for Mental Disorders of the Elderly**. Cambridge: Cambridge University Press, 1998.

SABBAGH, M.; CUMMINGS, J. Progressive cholinergic decline in Alzheimer’s disease: consideration for treatment with donepezil 23 mg in patients with moderate to severe e symptomatology. **BMC Neurology**, 11:21, 2011.

SANTORO, A.; SIVIERO, P.; MINICUCI, N., *et al.* Effects of donepezil, galantamine and rivastigmine in 938 Italian patients with Alzheimer’s disease: a prospective, observational study. **CNS Drugs**, 24(2):163-176, 2010.

SANTOS, S.M.A.; RIFIOTIS, T. Cuidadores familiares de idosos dementados: uma reflexão sobre o cuidado e o papel dos conflitos na dinâmica da família cuidadora. In: SIMSON, O.R.M.V.; NERI, A.L.; CACHIONI, M. (Org.). **As múltiplas faces da velhice no Brasil**. Campinas: Alínea, 2003. 141-164.

SCAZUFCA, M. Saúde mental. In: LITVOC, J.; BRITO, F.C. (Orgs.). **Envelhecimento, prevenção e promoção da saúde**. São Paulo: Atheneu, 2004. 177-188.

SCAZUFCA, M.; ALMEIDA, O.P.; VALLADA, H.P.; TASSE, W.A.; MENEZES P.R. Limitations of the Mini-Mental State Examination for screening dementia in a community with low socioeconomic status. **Eur. Arch. Psychiatry. Clin. Neurosci.**, 259(1):8-15, 2009.

SCHIMDT, M.I.; DUNCAN, B.B.; SILVA, G.A., *et al.* Doenças Crônicas Não Transmissíveis no Brasil: carga e desafios atuais. *The Lancet*, 6736(11):60135-9, 2011.

SEALS, D.F.; COURTNEIDGE, S.A. The ADAMs family of metalloproteases: multidomain proteins with multiple functions. **Genes. Dev.**, 17(1):7-30, 2003.

SKOVRONSKY, D.M.; MOORE, D.B.; MILLA, M.E., *et al.* Protein kinase C-dependent alpha-secretase competes with beta-secretase for cleavage of amyloid-beta precursor protein in the trans-Golgi network. **J. Biol. Chem.**, 275:2568-2575, 2000.

SMALL, D.H.; MOIR, R.D.; FULLER, S.J., *et al.* A protease activity associated with acetylcholinesterase releases the membrane-bound form of the amyloid protein precursor of Alzheimer’s disease. **Biochemistry**, 30:10795-10799, 1991.

SONG, F.; POLJAK, A.; SMYTHE, G.A., *et al.* Plasma biomarkers for mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease. **Brain Research Reviews**, 61:69-80, 2009.

SOUZA, R.F.S.; SKUBS, T.; BRÊTAS, A.C.P. Envelhecimento e família: uma nova perspectiva para o cuidado de enfermagem. **Rev. Bras. Enferm.**, 60(3):263-267, 2007.

SPERLING, R.A.; AISEN, P.S.; BECKETT, L.A., *et al.* Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging and Alzheimer's Association workgroup. **Alzheimer's & Dementia**, 2011.

STERN, Y. What is cognitive reserve? Theory and research application of the reserve concept. **Journal of the International Neuropsychological Society**, 8:448-460, 2002.

TAKEUCHI, M., *et al.* Diagnostic utility of serum or cerebrospinal fluid levels of toxic advanced glycation end-products (TAGE) in early detection of Alzheimer's disease. **Med. Hypotheses**, 69(6):1358-66, 2007.

TANG, K.; HYNAN, L.S.; BASKIN, F., *et al.* Platelet amyloid precursor protein processing: a bio-marker for Alzheimer's disease. **Journal of the Neurological Sciences**, 240:53-58, 2006.

TANG, B.L.; KUMAR, R. Biomarkers of Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's disease. **Ann. Acad. Med. Singapore**, 37:406-10, 2008.

TARIOT, *et al.* Memantine Treatment in Patients With Moderate to Severe Alzheimer Disease Already Receiving Donepezil. **JAMA**, 291(3):317-24, 2004.

TENG, E.L.; HASEGAWA, K.; HOMMA, A. *et al.* The Cognitive Abilities Screening Instrument (CASI): a practical test for cross-cultural epidemiological studies of dementia. **Int Psychogeriatr**, 6:45-58, 1994.

THOMAS, A.V.; BEREZOVSKA, O.; HYMAN, B.T.; VON ARNIM, C.A.F. Visualizing interaction of proteins relevant to Alzheimer's disease in intact cells. **Methods**, 44:299-303, 2008.

TOMBAUGH, T.N.; MCINTYRE, N.J. The Mini Mental State Examination: a comprehensive review. **Journal of the American Geriatrics Society**, 40:922-35, 1992.

TSOU, C.L.; HASKELL, C.A.; CHARO, I.F. Tumor necrosis factor-alpha-converting enzyme mediates the inducible cleavage of fractalkine. **J. Biol. Chem.**, 276(48):44622-6, 2001.

VALE, F.A.C.; NETO, Y.C.; BERTOLUCCI, P.H.F., *et al.* Tratamento da doença de Alzheimer. **Dement. Neuropsychol.**, 5(S):34-48, 2011.

VAN WART, H.E.; BIRKEDAL-HANSEN, H. The cysteine switch: a principle of regulation of metalloproteinase activity with potential Applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 87(14):5578-82, 1990.

VASSAR, R.; BENNETT, B.D.; BABU-KHAN, S., *et al.* Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. **Science**, 286:735-741, 1999.

VERAS, R.P. Envelhecimento populacional contemporâneo: demandas, desafios e inovações. **Revista de Saúde Pública**, 43(3):548-554, 2009.

VITALIANO, P.P.; BREEN, A.R.; RUSSO, J., *et al.* The clinical utility of the dementia rating scale for assessing Alzheimer patients. **J Chronic Dis**, 37:743-753, 1984.

WALDAU, B.; SHETTY, A.K. Behavior of neural stem cells in the Alzheimer brain. **Cell. Mol. Life Sci.**, 65(15):2372-84, 2008.

WALDMAN, E.A.A. Transição epidemiológica: tendências e diferenciais dos padrões de morbimortalidade em diferentes regiões do mundo. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, 24(1):10-18, 2000.

WHITE, J.M. ADAMs: modulators of cell-cell and cell-matrix interactions. **Curr. Opin. Cell Biol.**, 15(5):598-606, 2003.

WHITEHOUSE, P.J. The cholinergic deficit in Alzheimer's disease. **J. Clin. Psychiatry** 59(Suppl 13):19-22, 1998.

WIMO, A.; WINBLAD, B.; JONSSON, L. An estimate of the total worldwide societal costs of dementia in 2005. **Alzheimer's and Dementia**, 3:81-91, 2007.

WOLF, M.S.; GUÉNETTE, S.Y. APP at a glance. **Cell Science at a Glance**, 120(18):3157-3161, 2007.

WOLFSBERG, T.G.; WHITE, J.M. ADAMs in fertilization and development. **Dev. Biol.**, 180(2):389-401, 1996.

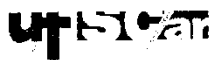
YUAN, R.; PRIMAKOFF, P.; MYLES, D.G. A role for the disintegrin domain of cyritestin, a sperm surface protein belonging to the ADAM family, in mouse sperm-egg plasma membrane adhesion and fusion. **J. Cell Biol.**, 137(1):105-12, 1997.

ZHANG, X.P., *et al.* Specific interaction of the recombinant disintegrin-like domain of MDC-15 (metargidin, ADAM-15) with integrin $\alpha v \beta 3$. **J. Biol. Chem.**, 273(13):7345-50, 1998.

ZHANG, Y., *et al.* APP processing in Alzheimer's disease. **Molecular Brain**, 4:3, 2011.

ZHU, X.; RAINA, A.K.; PERRY, G.; SMITH, M.A. Alzheimer disease: the two hit hypothesis. **Lancet Neurol.**, 3:219-226, 2002.

ANEXO A



Via Washington Luís, km. 235 - Caixa Postal 676
 Fones: (016) 3351.8109 / 3351.8110
 Fax: (016) 3361.3176
 CEP 13560-970 - São Carlos - SP - Brasil
 propg@power.ufscar.br - <http://www.propg.ufscar.br/>

CAAE 0120.0.135.000-09

Título do Projeto: Mini-Exame do Estado Mental e níveis plaquetários da ADAM10 no rastreamento da Doença de Alzheimer: contribuições para o cuidado de enfermagem

Classificação: Grupo III

Procedência: Departamento de Enfermagem

Pesquisadores (as): Sofia Cristina Jost Pavarini, Patricia Regina Manzini (orientanda)

Processo nº.: 23112.003581/2009-03

Parecer Nº. 427/2009

1. Normas a serem seguidas

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprobatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, item III.2.e).
- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente em ___/___/___ e ao término do estudo.

2. Avaliação do projeto

O Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos (CEP/UFSCar) analisou o projeto de pesquisa acima identificado e considerando os pareceres do relator e do revisor DELIBEROU:


As pendências apontadas no Parecer nº.412/2009, de 21 de outubro, foram satisfatoriamente resolvidas.

O projeto atende as exigências contidas na Resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde.

3. Conclusão:

Projeto aprovado

São Carlos, 13 de novembro de 2009.


 Prof. Dra. Cristina Paiva de Sousa
 Coordenadora do CEP/UFSCar

ANEXO B



Universidade Federal de São Carlos

Unidade Saúde-Escola

Rodovia Washington Luís, km 235 – CP 676

13565-905 – São Carlos – SP

Fone (16) 3351.8645 – e-mail: use@power.ufscar.br

Projeto: “Mini-Exame do Estado Mental e níveis plaquetários da ADAM10 no rastreamento da doença de Alzheimer: contribuições para o cuidado de enfermagem”.

Autor: Patrícia Regina Manzine

PARECER

O projeto tem como objetivos verificar a relação entre o Mini-Exame do Estado Mental (MEEM) e a expressão da proteína ADAM10 em três grupos de idosos: sem alterações cognitivas, com Transtorno Cognitivo Leve e com Doença de Alzheimer, e co-relacionar o desempenho no MEEM e os níveis plaquetários nos três grupos de idosos.

Os sujeitos da pesquisa serão 60 idosos, sendo 20 sem alterações cognitivas e 20 com Transtorno Cognitivo Leve, usuários das Unidades de Saúde da Família da cidade de São Carlos, cadastrados no banco de dados do Grupo de Pesquisa Saúde e Envelhecimento. Os sujeitos com o diagnóstico de Alzheimer serão 20 idosos cadastrados na Unidade Saúde Escola da UFSCar.

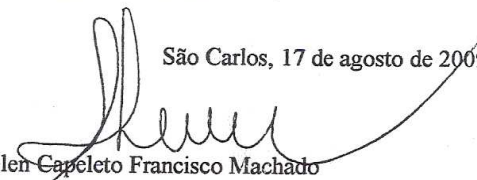
Na USE, os idosos em atendimento no Centro de Orientação ao Idoso e seu Cuidador (COIC), com diagnóstico de Alzheimer, serão convidados a participar da pesquisa, e caso aceitem, passarão por uma reavaliação neurológica, realizada Prof. Dr. Francisco de Assis Carvalho do Vale (DMed-Ufscar). A aplicação do MEEM será realizada pela pesquisadora. A coleta do material biológico (sangue) será realizada pela equipe de Enfermagem, no Bloco de Apoio, mediante agendamento prévio. A análise do sangue realizado pelo Grupo de Bioquímica e Biologia Molecular, coordenado pela Dra. Heloisa S. S. de Araújo (DCF-UFSCar), pela Dra. Dulce Helena F. Souza (DQ-UFSCar), pela Dra. Ana Paula Ulian de Araújo (USP) e pela Dra. Verônica Morandi (UERJ).

Trata-se de um tema de interesse da USE, pois a relação entre o MEEM e os níveis de ADAM10 pode ser um passo inicial para o desenvolvimento de metodologias que facilitem a detecção e intervenção precoce da doença de Alzheimer.

A pesquisa conta com a orientação da Profa. Dra. Sofia Cristina Iost Pavarini, professora da pós-graduação em Enfermagem da UFSCar, que possui ampla experiência com a população em questão e com as metas e normas do funcionamento da USE, para garantir a execução satisfatória do projeto.

Sendo assim, meu parecer é favorável à aprovação do projeto.

São Carlos, 17 de agosto de 2009.


Helen Capeleto Francisco Machado
Coordenadora da Linha de Cuidado do Idoso

ANEXO C

MINI-EXAME DO ESTADO MENTAL - MEEM

NOME DO IDOSO:
 NOME DO CUIDADOR:
 NOME DO ENTREVISTADOR:

Data:

Pontuação:

SOMATÓRIA DOS PONTOS / NOTA DE CORTE SEGUNDO A ESCOLARIDADE:

/

Obs: Se vier referenciado pelo USF verifique a data da aplicação deste instrumento (MEEM). Se existir um intervalo superior a 6 meses desde a última aplicação, aplique agora este instrumento. Se o intervalo for igual ou menor que 6 meses, não é preciso aplicar o teste. Neste caso, inclua no quadro de pontuação a nota anterior.

Nota de corte:

Analfabetos (se souber escrever o nome, mas não frequentou a escola) 18 pontos
1 a 3 anos de escolaridade21 pontos ou mais
4 a 7 anos de escolaridade24 pontos ou mais
8 anos ou mais.....26 pontos ou mais
Pontuação máxima.....30 pontos

Caso a pontuação seja menor que as notas de corte considerando a escolaridade dos indivíduos, é indicativo de que ele apresenta perdas cognitivas.

- Mesmo que o idoso seja analfabeto, aplique todas as questões.

Agora, farei algumas perguntas e gostaria que você prestasse atenção em cada um delas, dando sua melhor resposta.

-
- 1) Que dia da semana é hoje?
 - Se omitir siga continuamente até concluir as questões.
 - 2) Que dia do mês é hoje?
 - 3) Em que mês nós estamos?
 - 4) Em que ano nós estamos?
 - 5) Sem olhar no relógio, diga a hora aproximada
 - Considere a variação de mais ou menos uma hora.
 - 6) Em que local específico nós estamos?.....
 - Pergunte apontando para o chão que local é este. Ex. consultório, dormitório, sala, quarto.
 - 7) Que local é este aqui?
 - Apontando ao redor em um sentido mais amplo, pergunte onde o local específico se insere. Ex. hospital, casa de repouso, própria casa.
 - 8) Qual é o endereço onde estamos?

- Considere correto o nome do bairro ou o nome de uma rua próxima.
- 9) Em que cidade nós estamos?
- 10) Em que estado nós estamos?
- 11) Eu vou dizer três palavras e QUERO QUE VOCÊ REPITA em seguida.

Vaso Carro Tijolo

- Fale os três objetos claramente e devagar, dando cerca de 1 segundo de intervalo entre uma palavra e outra;
- Peça ao idoso para repeti-las;
- Dê 1 ponto para cada palavra repetida corretamente na 1ª vez. A pontuação é baseada somente na primeira repetição;
- Se houver erro, deve repetir as palavras até 5 vezes para o aprendizado e realização do item 13. Registre o número de tentativas:

12) Quanto é 100 menos 7?

- Depois da resposta, pergunte novamente: E $93 - 7$?
- E assim sucessivamente até completar as 5 subtrações.
- Se errar, aguarde um momento sem dizer nada, esperando correção espontânea. Se não acontecer, sem dizer que errou, continue a subtração a partir do resultado correto. Continue os cálculos até o fim, pois a interferência deve ser sempre igual.
- Faça as cinco subtrações, independente das respostas;

- a) $100 - 7$ (93) d) $79 - 7$(72)
- b) $93 - 7$ (86) e) $72 - 7$(65)
- c) $86 - 7$ (79)

13) Quais foram as palavras que eu pedi para o(a) Sr(a). repetir agora há pouco?

- Peça ao idoso para repetir as três palavras ditas no item 11;
- Anote as palavras lembradas, independente da seqüência em que foram ditas.

_____ _____ _____

14) O que é isto?

- Pergunte mostrando o *relógio*.
- Faça o mesmo com a *caneta*

Relógio.....

Caneta.....

- 15) Eu vou dizer uma frase e DEPOIS QUE EU TERMINAR, quero que o Sr(a) repita:
- Apenas 1 tentativa

"NEM AQUI, NEM ALI, NEM LÁ".

- 16) Eu darei 3 ordens e você só as realizará DEPOIS QUE EU TERMINAR DE FALAR:
- Arranque a folha em branco que está no final deste caderno dê os três comandos e depois dê o papel para o idoso, segurando com as duas mãos.

Pegue o papel com sua mão direita

Dobre-o ao meio

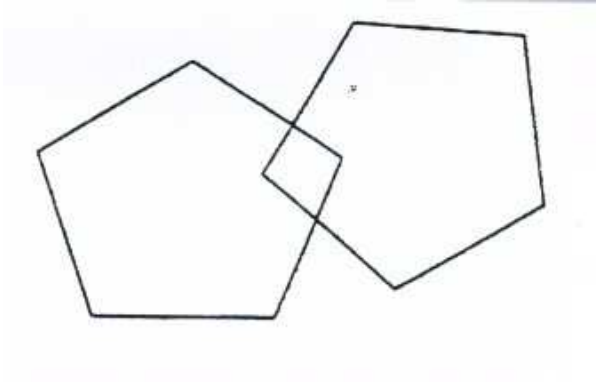
Ponha-o no chão

- 17) Leia e faça o que está escrito.....
- Mostre a frase "Feche os olhos", que está escrita em letras grandes, no fim deste caderno.
 - Se em um primeiro momento ele apenas ler, peça novamente para fazer o que está escrito;
 - Caso leia sem fazer o que está escrito considere incorreto;

"FECHE OS OLHOS"

- 18) Escreva uma frase:
- Peça para escrever uma frase com começo, meio e fim;
 - Considere correto se a frase tiver sentido;
 - Erros de gramática e ortografia são desconsiderados

- 19) Copie este desenho:
- É considerado correto se ambas as figuras tiverem cinco lados e a intersecção entre elas;
 - Pedir para copiar no espaço em branco da página ao lado;
 - Some os pontos e registre no local indicado com a respectiva nota de corte segundo o grau de escolaridade.



2

Iniciais do Sujeito _____

AVALIAÇÃO CLÍNICA DA DEMÊNCIA - Registro Clinical Dementia Rating Worksheet

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	<input type="checkbox"/>
2. Mês							
Geralmente	<input type="checkbox"/>	Algumas vezes	<input type="checkbox"/>	Raramente	<input type="checkbox"/>	NS	<input type="checkbox"/>
3. Ano							
Geralmente	<input type="checkbox"/>	Algumas vezes	<input type="checkbox"/>	Raramente	<input type="checkbox"/>	NS	<input type="checkbox"/>
4. Dia da semana							
Geralmente	<input type="checkbox"/>	Algumas vezes	<input type="checkbox"/>	Raramente	<input type="checkbox"/>	NS	<input type="checkbox"/>
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	<input type="checkbox"/>
6. Consegue orientar-se em ruas familiares?							
Geralmente	<input type="checkbox"/>	Algumas vezes	<input type="checkbox"/>	Raramente	<input type="checkbox"/>	NS	<input type="checkbox"/>
7. Consegue orientar-se fora da sua vizinhança?							
Geralmente	<input type="checkbox"/>	Algumas vezes	<input type="checkbox"/>	Raramente	<input type="checkbox"/>	NS	<input type="checkbox"/>
8. Consegue orientar-se dentro de casa?							
Geralmente	<input type="checkbox"/>	Algumas vezes	<input type="checkbox"/>	Raramente	<input type="checkbox"/>	NS	<input type="checkbox"/>

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

Iniciais do Sujeito _____

AVALIAÇÃO CLÍNICA DA DEMÊNCIA - Registro Clinical Dementia Rating Worksheet

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?				
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

Iniciais do Sujeito _____

AVALIAÇÃO CLÍNICA DA DEMÊNCIA - Registro Clinical Dementia Rating Worksheet

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

Iniciais do Sujeito _____

AVALIAÇÃO CLÍNICA DA DEMÊNCIA - Registro
Clinical Dementia Rating Worksheet

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

Iniciais do Sujeito _____

AVALIAÇÃO CLÍNICA DA DEMÊNCIA - Registro
Clinical Dementia Rating Worksheet

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	Centro
	Maria	da Silva	Rua da Praia
	Maria	da Silva	Rua da Praia
	Maria	da Silva	Rua da Praia
	54	54	54
	Centro	Centro	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: _____

Grau: _____

Lugar: _____

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

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

assinale os itens corretos

8.		

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, pêlo..)

Resposta errada ou sem sentido, ou não sabe

0
1
2

2. Mesa e Cadeira

Mobília, 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:

REGRAS

Use todas as informações disponíveis para fazer o melhor julgamento possível. Pontue cada categoria (M, O, JRP, AC, LP, CP) da forma mais independente possível. Pontue o grau de perda em relação ao desempenho anterior. Pontue apenas incapacidade devida à perda cognitiva e não a incapacidade provocada por alteração motora, depressão ou perturbação da personalidade. Assinale apenas uma pontuação por categoria, sempre que existam dúvidas entre duas pontuações (por exemplo, leve (1) e moderada (2), escolha a que corresponde à maior incapacidade).

A afasia deve ser tida em conta na avaliação das funções verbais como das não verbais em cada domínio. Se a afasia é maior do que o grau de demência, pontue de acordo com a demência global. Para isso é necessário acrescentar informações sobre funções cognitivas não verbais.

O escore global da CDR resulta das pontuações em cada uma das seis categorias (*box scores*), tal como se segue.

INSTRUÇÕES PARA DEFINIÇÃO DO ESCORE GLOBAL:

1. Dê escores para cada categoria Memória (M), Orientação (O), Julgamento e Solução de Problemas (JSP), Assuntos da Comunidade (AC), Lar e Passatempos (LP), Cuidados Pessoais (CP) de forma tão independente quanto possível (umas das outras).
2. Os escores atribuíveis são: 0 - 0,5 - 1 - 2 - 3 (tanto para as categorias individuais como para o escore global da escala).
3. **Circule apenas** os aspectos contidos em uma única coluna de cada linha de categorias, graduando cada uma de acordo com a função do sujeito avaliada.
4. **Quando em dúvida** no escore de uma categoria, gradue no nível mais alto.
5. **Para determinar o escore CDR global**, a categoria MEMÓRIA é considerada a categoria primária (CP); todas as outras são secundárias (CS).
6. **No caso de pelo menos 3 categorias secundárias** receberem o mesmo escore numérico de MEMÓRIA, então o escore global da CDR é igual ao escore M.
7. **Se 3 ou mais categorias secundárias** recebem escores maiores ou menores (DIFERENTES) daquele da MEMÓRIA, o escore global CDR = escore da maioria das categorias secundárias. **Quando 3 categorias secundárias têm escores para um lado de M e outras 2 para o outro lado** (isto é, 3 são maiores e 2 são menores – ou vice-versa), então o escore total da CDR = M.

8. Se há empate na quantidade de categorias secundárias para um dos lados do valor de M, escolha o CDR mais perto de M (p. exemplo, 2 categorias secundárias com $\text{escore}=1$, outras 2 categorias secundárias com $\text{escore}=2$, MEMÓRIA e mais uma secundária com $\text{escore}=3$; então o escore global da CDR = 2).
9. Se 1 ou 2 categorias secundárias recebem o mesmo escore de M, o escore global de CDR é igual à M, desde que não mais de 2 categorias secundárias estejam em um lado do valor de M.

RESUMO:

1. Se pelo menos 3 **CS** são = **M** então **CDR = M**
2. Se 3 ou + **CS** são > (ou <) a **M** então **CDR = maioria das CS > (ou <) M**
3. Sempre que 3 **CS** têm pontuação de um lado de M e as outras duas têm pontuações do outro lado, **CDR = M**
4. Se **M = 0,5** e 3 ou mais **CS** são pontuadas ≥ 1 então **CDR = 1**
5. Se **M = 0,5**, **CDR** não pode ser 0 (zero), só pode ser 0,5 ou 1
6. Se **M = 0** então **CDR = 0** exceto se 2 ou mais **CS** forem $\geq 0,5$ então **CDR = 0,5**

Embora aplicável à maioria das situações encontradas na doença de Alzheimer, estas regras não cobrem todas as combinações possíveis. Situações pouco habituais podem ocorrer na doença de Alzheimer ou surgirem em outros tipos de demências. Estas situações devem ser pontuadas da seguinte forma:

- a. Quando 4 **CS** se encontram de um lado de **M**, distribuídas por 2 pontuações, **CDR =** à pontuação mais próxima de **M** (ex. **M** e outra **CS = 3**, 2 **CS=2** e 2 **CS=1**; **CDR=2**).
- b. Quando 1 ou 2 **CS** recebem a mesma pontuação de M, **CDR=M**, desde que não mais de 2 **CS** estejam de um dos lados de M.
- c. Quando **M ≥ 1** , **CDR** não pode ser=0 (zero); neste caso, **CDR=0,5** quando a maioria das **CS** são = 0 (zero).

Morris JC. The Clinical Dementia Rating (CDR): Current version and scoring rules. *Neurology* 1993; 43:2412-

**AValiação CLÍNICA DA DEMÊNCIA - escala
CLINICAL DEMENTIA RATING (CDR)**

	Saudável CDR 0	Demência questionável CDR 0,5	Demência leve CDR 1	Demência moderada CDR 2	Demência grave CDR 3
MEMÓRIA	Sem perda de memória, ou apenas esquecimento discreto e inconsistente	Esquecimento leve e consistente; lembrança parcial de eventos; "esquecimento benigno"	Perda de memória moderada, mais acentuada para fatos recentes; o déficit interfere com atividades do dia-a-dia	Perda de memória grave; apenas material <i> muito </i> aprendido é retido; materiais novos são rapidamente perdidos	Perda de memória grave; apenas fragmentos permanecem
ORIENTAÇÃO	Plenamente orientado	Plenamente orientado	Dificuldade moderada com as relações de tempo; orientado no espaço no exame, mas pode ter desorientação geográfica em outros locais	Geralmente desorientado	Orientação pessoal apenas
JULGAMENTO E SOLUÇÃO DE PROBLEMAS	Resolve bem problemas do dia-a-dia, juízo crítico é bom em relação ao desempenho passado	Leve comprometimento na solução de problemas, semelhanças e diferenças	Dificuldade moderada na solução de problemas, semelhanças e diferenças; julgamento social geralmente mantido	Gravemente comprometido para solução de problemas, semelhanças e diferenças. Juízo social geralmente comprometido	Incapaz de resolver problemas ou de ter qualquer juízo crítico
ASSUNTOS NA COMUNIDADE	Função independente na função habitual de trabalho, compras, negócios, finanças, e grupos sociais	Leve dificuldade nestas atividades	Incapaz de funcionar independentemente nestas atividades embora ainda possa desempenhar algumas; pode parecer normal à avaliação superficial	Sem possibilidade de desempenho fora de casa. Parece suficientemente bem para ser levado a atividades fora de casa	Sem possibilidade de desempenho fora de casa. Parece muito doente para ser levado a atividades fora de casa
LAR E PASSATEMPOS	Vida em casa, passatempos, e interesses intelectuais mantidos	Vida em casa, passatempos, e interesses intelectuais levemente afetados	Comprometimento leve mas evidente em casa; abandono das tarefas mais difíceis; passatempos e interesses mais complicados são também abandonados	Só realiza as tarefas mais simples. Interesses muito limitados e pouco mantidos	Sem qualquer atividade significativa em casa
CUIDADOS PESSOAIS	Plenamente capaz	Plenamente capaz	Necessita assistência ocasional	Requer assistência no vestir e na higiene	Requer muito auxílio nos cuidados pessoais. Geralmente incontinente

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

1. Você está sendo convidado para participar da pesquisa “NÍVEIS PLAQUETÁRIOS DA ADAM10 NO RASTREAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER: CONTRIBUIÇÕES PARA O CUIDADO DE ENFERMAGEM”.
2. Você foi selecionado por ter mais de 60 anos e ser cadastrado em uma Unidade de Saúde da Família ou na Unidade Saúde Escola (USE) UFSCar. Sua participação não é obrigatória.
3. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento.
4. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a Unidade de Saúde da Família/USE onde é atendido.
5. O objetivo geral deste estudo é verificar a relação entre o Mini-Exame do Estado Mental (MEEM) e a expressão da ADAM10 em dois grupos de idosos.
6. Sua participação nesta pesquisa consistirá em responder as questões do instrumento de avaliação cognitiva e com a coleta de uma pequena amostra de material biológico (sangue), que será realizada dentro dos padrões preconizados, pela equipe de Enfermagem da Unidade Saúde Escola (USE – UFSCar).
7. Os riscos envolvidos neste estudo são mínimos e caso se perceba qualquer risco ou dano a sua saúde não previstos neste termo, as atividades desta pesquisa serão imediatamente suspensas. Caso seja identificado qualquer problema de saúde, o (a) senhor (a) será encaminhado para o serviço de saúde do município. Caso haja algum desconforto durante a aplicação do instrumento ou na coleta, pedimos que nos informe para que possamos corrigi-lo.
8. Sua participação contribuirá para o conhecimento sobre a co-relação entre o diagnóstico clínico e laboratorial para o rastreamento positivo ou negativo da Doença de Alzheimer. Você terá como benefícios à oportunidade de avaliação do seu desempenho cognitivo, participação em oficinas de estimulação cognitiva e de orientação aos cuidadores, no âmbito do Centro de Orientação ao Idoso e seu Cuidador (COIC) da Unidade Saúde Escola da UFSCar, além de outras possibilidades terapêuticas que a Unidade oferece.
9. As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Asseguramos que você não será identificado.
10. Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.

Sofia Cristina Iost Pavarini/ Patricia Regina Manzine

Departamento de Enfermagem – Universidade Federal de São Carlos

Rodovia Washington Luís Km 235 – São Carlos – SP

Telefone: (16) 3351-8334/ 3351-8336/ 3351-8645

Patricia_manzine@yahoo.com.br

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 UFSCar que funciona na Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa da Universidade Federal de São Carlos, localizada na Rodovia Washington Luiz, Km. 235 - Caixa Postal 676 - CEP 13.565-905 - São Carlos - SP – Brasil. Fone (16) 3351-8110. Endereço eletrônico: cephumanos@power.ufscar.br

São Carlos, ____/____/____

Sujeito da pesquisa

APÊNDICE B
FICHA DE CARACTERIZAÇÃO DOS SUJEITOS

USF		Qual? :
USE		Referenciado de:

DADOS DO SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE ATENÇÃO BÁSICA

CADASTRO DA FAMÍLIA

Pessoas com 15 anos e mais							
Nome	Data de Nascimento	Idade	Sexo	Alfabetizado		Ocupação	Doença ou condição referida (sigla)
				Sim	Não		

Pessoas de 0 a 14 anos							
Nome	Data de Nascimento	Idade	Sexo	Alfabetizado		Ocupação	Doença ou condição referida (sigla)
				Sim	Não		

ALC: Alcoolismo	DME: Distúrbio Mental	HAN: Hanseníase	DIA: Diabete
CHA: Chagas	EPI: Epilepsia	MAL: Malária	HA: Hipertensão Arterial
DEF: Deficiência	GES: Gestação	TB: Tuberculose	

SITUAÇÃO DA MORADIA E SANEAMENTO			
TIPO DE CASA		TRATAMENTO DE ÁGUA NO	
Tijolo/Adobe		Filtração	
Taipa revestida		Fervura	
Taipa não revestida		Cloração	
Madeira		Sem tratamento	
Material aproveitado		ABASTECIMENTO DE ÁGUA	
Outro (especificar)		Rede pública	
Número de cômodos		Poço ou nascente	
Energia elétrica		Outros	
DESTINO DO LIXO		DESTINO DE FEZES E URINA	
Coletado		Sistema de esgoto (rede local)	
Queimado/enterrado		Fossa	
Céu aberto		Céu aberto	

OUTRAS INFORMAÇÕES			
Alguém da família possui Plano de Saúde		Número de pessoas cobertas pelo plano	
Nome do Plano de Saúde:			
EM CASO DE DOENÇA PROCURA		PARTICIPA DE GRUPOS COMUNITÁRIOS	
Hospital		Cooperativa	
Unidade de Saúde		Grupo Religioso	
Banzedeira		Associações	
Farmácia		Outros: especificar	
Outros: especificar		MEIOS DE TRANSPORTE QUE MAIS UTILIZA	
MEIOS DE COMUNICAÇÃO QUE MAIS UTILIZA		Ônibus	
Rádio		Caminhão	
Televisão		Carro	
Outros: especificar		Carroça	
		Outros: especificar	

DADOS PESSOAIS

Nome do(a) Idoso(a): _____

Endereço: _____ **Nº** _____

Bairro: _____

Data de Nascimento: _____ **Idade:** _____

Sexo: **Masculino** **Feminino** **Indefinido**

Tem convênio de saúde? **Não** **Sim** **Qual:** _____

GRAU DE ESCOLARIDADE

- | | |
|--|--|
| <p>a) Analfabeto/não estudou..... <input type="checkbox"/></p> <p>b) Alfabetização de adultos..... <input type="checkbox"/></p> <p>c) Ensino Fundamental incompleto..... <input type="checkbox"/>
 (não terminou 1ª à 8ª série, antigo 1º grau)</p> <p>d) Ensino Fundamental completo..... <input type="checkbox"/>
 (terminou 1ª à 8ª série)</p> <p>e) Ensino Médio incompleto..... <input type="checkbox"/>
 (não terminou 1ª à 3ª série, antigo colegial/2º grau)</p> <p>f) Ensino Médio completo..... <input type="checkbox"/>
 (terminou 1ª à 3ª série, antigo colegial/2º grau)</p> <p>g) Ensino Superior incompleto..... <input type="checkbox"/>
 cursou? _____
 (cursou alguns anos, mas não terminou faculdade)</p> <p>h) Ensino Superior completo..... <input type="checkbox"/>
 (terminou faculdade)</p> | <p>Até que série cursou? _____</p> <p>Até que série cursou? _____</p> <p>Até que série</p> |
|--|--|

RENDA

DO IDOSO

- Até ½ salário mínimo (R\$ 255,00).....
- De ½ a 01 salário mínimo (entre R\$ 255,00 e R\$ 510,00).....
- De 01 a 02 salários mínimos (entre R\$ 510,00 e RS 1.020,00).....
- De 02 a 03 salários mínimos (entre R\$ 1.020,00 e RS 1.530,00).....
- De 03 a 04 salários mínimos (entre R\$ 1.530,00 e RS 2.040,00).....
- De 04 a 05 salários mínimos (entre R\$ 2.040,00 e RS 2.550,00).....
- De 05 a 06 salários mínimos (entre R\$ 2.550,00 e RS 3.060,00).....
- De 06 a 07 salários mínimos (entre R\$ 3.060,00 e RS 3.570,00).....
- De 07 a 08 salários mínimos (entre R\$ 3.570,00 e RS 4.080,00).....
- De 08 a 09 salários mínimos (entre R\$ 4.080,00 e RS 4.590,00).....
- De 09 a 10 salários mínimos (entre R\$ 4.590,00 e RS 5.100,00).....
- Mais que 10 salários mínimos (R\$ 5.100,00 ou mais).....

DA FAMÍLIA (VALOR BRUTO TOTAL)

- Até ½ salário mínimo (R\$ 255,00).....
- De ½ a 01 salário mínimo (entre R\$ 255,00 e R\$ 510,00).....
- De 01 a 02 salários mínimos (entre R\$ 510,00 e RS 1.020,00).....
- De 02 a 03 salários mínimos (entre R\$ 1.020,00 e RS 1.530,00).....
- De 03 a 04 salários mínimos (entre R\$ 1.530,00 e RS 2.040,00).....
- De 04 a 05 salários mínimos (entre R\$ 2.040,00 e RS 2.550,00).....
- De 05 a 06 salários mínimos (entre R\$ 2.550,00 e RS 3.060,00).....
- De 06 a 07 salários mínimos (entre R\$ 3.060,00 e RS 3.570,00).....
- De 07 a 08 salários mínimos (entre R\$ 3.570,00 e RS 4.080,00).....
- De 08 a 09 salários mínimos (entre R\$ 4.080,00 e RS 4.590,00).....
- De 09 a 10 salários mínimos (entre R\$ 4.590,00 e RS 5.100,00).....
- Mais que 10 salários mínimos (R\$ 5.100,00 ou mais).....

Quantas pessoas moram na casa? _____

APÊNDICE C

	ADAM10 Bruta C	β -actina C	razão ADAM10/ β -actina C	MEEM C	MEEM Bruto C	razão MEEM C		ADAM10 Bruta DA	β -actina DA	razão ADAM10/ β -actina DA	MEEM DA	MEEM Bruto DA	razão MEEM DA	
CDR 1	C17	1219,3786	1056,3911	1,1543	24/21	24	1,1429	DA8	448,2900	1050,2623	0,4268	22/21	22	1,0476
	C18	1433,9768	1074,1305	1,3350	28/24	28	1,1667	DA19	456,2306	1083,7931	0,4210	21/24	21	0,8750
	C10	496,7080	1082,9179	0,4587	25/21	25	1,1905	DA20	663,9264	1033,8138	0,6422	12/21	12	0,5714
	C16	435,0326	1037,0152	0,4195	28/24	28	1,1667	DA38	572,2324	1065,3812	0,5371	15/24	15	0,6250
	C19	2838,3063	2643,6176	1,0736	25/24	25	1,0417	DA12	1296,0764	2827,7010	0,4583	10/24	10	0,4167
	C4	3647,9086	2676,1687	1,3631	24/21	24	1,1429	DA23	1338,7451	2691,0714	0,4975	14/21	14	0,6667
							1,0769	DA28	1319,6081	1875,0714	0,7038	11/26	11	0,4231
	C20	3320,3603	2667,3674	1,2448	29/24	29	1,2083	DA33	999,6762	2367,2736	0,4223	23/24	23	0,9583
							1,2381	DA36	1362,1843	1835,1436	0,7423	13/21	13	0,6190
	C29	1969,1973	1841,5480	1,0693	28/26	28	1,0769	DA44	1537,9859	1855,3430	0,8289	21/26	21	0,8077
CDR 2						1,0833	DA3	357,8115	1540,6087	0,2323	9/24	9	0,3750	
	C12	610,1912	1425,1264	0,4282	29/24	29	1,2083	DA27	388,7101	1481,8091	0,2623	15/24	15	0,6250
						1,0417	DA32	311,4839	1449,9606	0,2148	6/24	6	0,2500	
	C2	763,0480	1424,5797	0,5356	25/24	25	1,0417	DA34	304,3992	1421,6575	0,2141	10/24	10	0,4167
	C28	3902,4506	5743,7063	0,6794	27/26	27	1,0385	DA13	1485,6224	5317,8771	0,2794	22/26	22	0,8462
	C1	2224,9002	5279,6586	0,4214	25/24	25	1,0417	DA2	921,8287	5205,5819	0,1771	14/24	14	0,5833
	C8	2605,7403	5818,2077	0,4479	29/24	29	1,2083	DA7	1438,2807	5219,5318	0,2756	12/24	12	0,5000
	C5	2692,8829	5458,9387	0,4933	29/26	29	1,1154	DA9	678,3550	5582,1293	0,1215	11/26	11	0,4231
	C27	4729,0306	5520,1479	0,8567	26/21	26	1,2381	DA30	1233,9070	5946,9292	0,2075	14/21	14	0,6667
							1,1538	DA45	1813,6983	5881,9726	0,3083	10/26	10	0,3846
C14	2115,4108	5248,2758	0,4031	26/24	26	1,0833	DA46	766,3225	5282,1928	0,1451	19/24	19	0,7917	

CDR 3	C15	855,5354	2567,1240	0,3333	29/26	29	1,1154	DA16	206,2074	2650,4400	0,0778	0/26	0	0,0000
	C6	529,0856	2563,8490	0,2064	28/26	28	1,0769	DA21	241,0541	2597,0260	0,0928	0/26	0	0,0000
	C7	480,5381	2553,9130	0,1882	27/24	27	1,1250	DA26	287,8066	2598,2580	0,1108	4/24	4	0,1667
	C13	672,0172	2591,6300	0,2593	27/26	27	1,0385	DA29	257,3510	2596,3060	0,0991	6/26	6	0,2308
	C21	1165,8983	1717,3181	0,6789	28/24	28	1,1667	DA37	318,8227	1649,7824	0,1933	3/24	3	0,1250
	C25	915,7062	1646,6639	0,5561	26/21	26	1,2381	DA40	335,0700	1615,0705	0,2075	0/21	0	0,0000
	C22	1091,4867	1722,5570	0,6336	30/24	30	1,2500	DA41	242,3434	1718,2920	0,1410	0/24	0	0,0000
	C26	3935,4860	5640,0402	0,6978	30/26	30	1,1538	DA42	909,5757	5631,0086	0,1615	0/26	0	0,0000
	C23	1009,6504	1628,3432	0,6200	30/26	30	1,1538	DA43	341,2898	1758,6026	0,1941	0/26	0	0,0000