

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Neurociências

Natália Silva Dias

**ESTUDO COMPARATIVO DE BIOMARCADORES NO TRANSTORNO
DEPRESSIVO MAIOR EM IDOSOS E NA DOENÇA DE ALZHEIMER**

Belo Horizonte

2022

Natália Silva Dias

**ESTUDO COMPARATIVO DE BIOMARCADORES NO TRANSTORNO
DEPRESSIVO MAIOR E NA DOENÇA DE ALZHEIMER**

Versão Final

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Neurociências

Orientador: Prof. Dr. Antônio Lúcio Teixeira
Coorientadora: Profa. Dra. Izabela G. Barbosa

Belo Horizonte

2022

043 Dias, Natália Silva.
Estudo comparativo de biomarcadores no transtorno depressivo maior em idosos e na doença de Alzheimer [manuscrito] / Natália Silva Dias. – 2022.

123 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Lúcio Teixeira. Coorientadora: Profa. Dra. Izabela G. Barbosa.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Neurociências.

1. Neurociências. 2. Transtorno depressivo maior. 3. Idoso. 4. Doença de Alzheimer. 5. Quimiocina CCL11. 6. Proteína Antagonista do Receptor de Interleucina 1. I. Teixeira, Antônio Lúcio. II. Barbosa, Izabela G. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 612.8



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

Estudo comparativo de biomarcadores no transtorno depressivo maior e na doença de Alzheimer

NATÁLIA SILVA DIAS

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação

em NEUROCIÊNCIAS, como requisito para obtenção do grau de Doutor em NEUROCIÊNCIAS, área

de concentração NEUROCIÊNCIAS CLÍNICAS.

Prof. Guilherme Nogueira Mendes de Oliveira

UFVJM

Prof. Moisés Evandro Bauer

PUC-RS

Profa. Maria Aparecida Camargos Bicalho

UFMG

Prof. Leonardo Cruz de Souza

UFMG

Profa. Izabela Guimarães Barbosa - Coorientadora

UFMG

Prof. Antônio Lúcio Teixeira Junior - Orientador

UFMG

Belo Horizonte, 01 de julho de 2022.



Documento assinado eletronicamente por **Moisés Evandro Bauer, Usuário Externo**, em 30/06/2022, às 15:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme Nogueira Mendes de Oliveira, Usuário Externo**, em 04/07/2022, às 10:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Aparecida Camargos Bicalho, Professora do Magistério Superior**, em 07/07/2022, às 08:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Izabela Guimaraes Barbosa, Professora do Magistério Superior**, em 13/07/2022, às 15:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Leonardo Cruz de Souza, Professor do Magistério Superior**, em 14/07/2022, às 19:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Antonio Lucio Teixeira Junior, Usuário Externo**, em 25/07/2022, às 19:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº](#)



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1545085** e o código CRC **4C132EE6**.

[10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

ATA DE DEFESA DE TESE DA ALUNA

NATÁLIA SILVA DIAS

Realizou-se, no dia 01 de julho de 2022, às 08:00 horas, Sala Virtual, da Universidade Federal de Minas Gerais, a 93ª defesa de tese, intitulada *Estudo comparativo de biomarcadores no transtorno depressivo maior e na doença de Alzheimer*, apresentada por NATÁLIA SILVA DIAS, número de registro 2017772253, graduada no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em NEUROCIÊNCIAS, à seguinte Comissão Examinadora: Prof. Antônio Lúcio Teixeira Junior - Orientador (UFMG), Profa. Izabela Guimarães Barbosa – Coorientadora - (UFMG), Profa. Maria Aparecida Camargos Bicalho (UFMG), Prof. Leonardo Cruz de Souza (UFMG), Prof(a) Moisés Evandro Bauer (PUC- RS), Prof. Guilherme Nogueira Mendes de Oliveira (UFVJM).

A Comissão considerou a tese: Aprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 01 de julho de 2022.

Carlos Magno Machado Dias - Secretário(a)

Assinatura dos membros da banca examinadora:

Prof. Antônio Lúcio Teixeira Júnior (Doutor)

Profa. Izabela Guimarães Barbosa (Doutora)

Profa. Maria Aparecida Camargos Bicalho (Doutor)

Prof. Leonardo Cruz de Souza (Doutor)

Prof. Moisés Evandro Bauer (Doutor)

Prof. Guilherme Nogueira Mendes de Oliveira (Doutor)



Documento assinado eletronicamente por **Moisés Evandro Bauer, Usuário Externo**, em 30/06/2022, às 15:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme Nogueira Mendes de Oliveira, Usuário Externo**, em 04/07/2022, às 10:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Aparecida Camargos Bicalho, Professora do Magistério Superior**, em 07/07/2022, às 08:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Izabela Guimaraes Barbosa, Professora do Magistério Superior**, em 13/07/2022, às 15:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Leonardo Cruz de Souza, Professor do Magistério Superior**, em 14/07/2022, às 19:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

Documento assinado eletronicamente por **Antonio Lucio Teixeira Junior, Usuário Externo**, em 25/07/2022, às 19:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1543751** e o código CRC **6C3DE882**.

Aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Antônio Lúcio Teixeira e à Profa. Dra. Izabela Guimarães Barbosa pela orientação e pelo exemplo de rigor com a pesquisa científica.

À Profa. Dra. Maria Aparecida Camargos Bicalho e ao Prof. Dr. Bernardo de Mattos Viana pelo suporte essencial para a conclusão dessa pesquisa e pelas discussões.

Aos professores e colegas do Laboratório Interdisciplinar de Investigações Médicas (LIIM), em especial à Profa. Dra. Ana Cristina Simões e Silva e à Dra. Roberta da Silva Filha pela disponibilidade constante em ajudar.

À Profa. Dra. Rafaela Teixeira de Ávila pela amizade e pelas discussões das avaliações cognitivas.

À Profa. Dra. Júlia Santos Nunes Rodrigues pela empatia, pela escuta e pela revisão da tese.

À Profa. Álida Rosária Silva Ferreira pela assessoria nas análises estatísticas e pelos ensinamentos.

À Dra. Gislene Cristina Valadares Miranda pela acolhida cuidadosa no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais e pelo apoio valioso nessas últimas semanas.

À Profa. Ana Carolina Sarquis Salgado pelo apoio e compreensão nesse momento de muitos desafios.

À Lucélia Scarabeli Silva Barroso pela amizade e pela colaboração na coleta e processamento das amostras de material biológico.

Ao médico anestesista Marco Aurélio Fagundes Ângelo pela disponibilidade e pelo zelo com os participantes na coleta do liquor.

Ao Tenente Coronel PM QOS Vinícius Ferreira Moreira e ao Capitão PM QOS Marcelo Von Sperling de Souza pela diligência na avaliação e aprovação do projeto de pesquisa no Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital da Polícia Militar de Minas Gerais.

Ao Major PM QOS Eduardo Pimenta Guimarães e ao Capitão PM QOS Afonso Paulo A. Magalhães Neto, médicos ortopedistas, pela receptividade e colaboração.

À equipe de profissionais do bloco cirúrgico e aos anestesistas do Hospital da Polícia Militar de Minas Gerais pela gentileza e colaboração.

À Erika, Ivonne Carolina e Mônica pela parceria nessa jornada.

Ao Kleber por seguir ao meu lado e aos nossos filhos, que são fonte de inspiração.

Aos meus pais, aos meus avós e aos meus irmãos e suas famílias por compartilharem a felicidade e dividirem as tristezas comigo sempre.

Às amigas Laísa, Jéssica e Mariana pelo apoio e, em especial, à amiga
Lílian. Aos participantes da pesquisa e a todos que se dispuseram a colaborar.

RESUMO

O transtorno depressivo maior (TDM) e a doença de Alzheimer (DA) são condições prevalentes na população idosa. Os transtornos depressivos em idosos têm sido apontados como um fator de risco ou pródromo da doença de Alzheimer, o que possivelmente reflete processos neurodegenerativos comuns a esses dois quadros. É importante estabelecer um conjunto de biomarcadores para a investigação da relação do TDM com a DA. O objetivo deste estudo é comparar os desempenhos em testes cognitivos e os níveis de biomarcadores liquóricos de um grupo de idosos com diagnóstico de TDM e de um grupo de idosos com diagnóstico de demência por DA (DDA inicial). Vinte indivíduos com diagnóstico de TDM, vinte com diagnóstico de DDA e vinte controles foram incluídos no presente trabalho. Todos os indivíduos foram submetidos à avaliação cognitiva e à punção liquórica. Marcadores para DA e marcadores inflamatórios no liquor foram avaliados. Nas análises estatísticas, comparações de desempenho cognitivo e de marcadores liquóricos, análises de correlação e modelos multivariados foram realizados para os grupos iniciais e os subgrupos. As avaliações cognitivas não demonstraram ser um bom instrumento para diferenciar idosos com TDM daqueles com DDA que apresentavam queixas cognitivas. A β 42 e p-Tau181 foram correlacionados ao desempenho cognitivo. Os resultados do presente estudo sugerem ainda que IL-1ra tem efeito neuroprotetor e que CCL11 está relacionada a eventos iniciais relacionados à neurodegeneração.

Palavras-chave: transtorno depressivo maior (TDM), idoso, doença de Alzheimer (DA), CCL11, IL-1ra.

ABSTRACT

Major depressive disorder (MDD) and Alzheimer's disease (AD) are prevalent conditions in the elderly population. Depressive disorders in elderly people have been identified as a risk factor or prodrome of AD, which possibly reflects the neurodegenerative processes common to these two conditions. It is important to establish a set of biomarkers for the investigation of the relationship between MDD and AD. This study's purpose is to compare the performance in cognitive tests and the levels of cerebrospinal fluid biomarkers of a group of elderly people with MDD and a group of elderly people with mild AD dementia (ADD). Twenty subjects with MDD, twenty with AD and twenty controls were included in this research. Each one of them was submitted to cognitive assessment and cerebrospinal fluid puncture. Biomarkers for AD and inflammatory markers found in the fluid were evaluated. In the statistical analyses, the initial groups and subgroups were considered, besides comparisons of cognitive performance and inflammatory markers in the fluid, correlation analyzes, and multivariate models were performed. Cognitive assessments did not prove to be a good tool to differentiate elderly people with MDD from elderly people with ADD who present cognitive complaints. A β 42 and p-Tau181 were correlated with cognitive performance. The results of the present study suggest that IL-1ra has a neuroprotective effect and CCL11 is related to early events associated with neurodegeneration.

Keywords: major depressive disorders (MDD), elderly people, Alzheimer's disease (AD), CCL11, IL-1ra.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estágios sintomáticos da doença de Alzheimer	33
---	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Critérios diagnósticos para episódio depressivo maior	24
Quadro 2 – Critérios diagnósticos para Transtorno Neurocognitivo Maior (TNC Maior)	27
Quadro 3 – Estágios do <i>continuum</i> cognitivo para o NIA-AA (2018).....	31
Quadro 4 – Descrição do Sistema AT(N).....	34
Quadro 5 – Classificação biológica segundo AT(N).....	35
Quadro 6 – Classificação AT(N)(C), com biomarcadores e apresentação clínica	36
Quadro 7 – Marcadores analisados no presente estudo	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados demográficos e caracterização clínica dos grupos TDM, DDA e controle	55
Tabela 2 – Pontuação em escalas e testes dos grupos TDM, DDA e controle	57
Tabela 3 – Correlação de Spearman para dados sociodemográficos, pontuações em escalas e testes e níveis de A β 42, t-Tau e p-Tau181	58
Tabela 4 – Correlações de Spearman entre marcadores inflamatórios, A β 42, t-Tau, p-Tau181 e p-Tau181/A β 42	60
Tabela 5 – Classificação dos participantes como A β + ou A β -	62
Tabela 6 – Comparação entre os níveis de t-Tau e p-Tau181 dos grupos TDM A β -, DDA A β + e Controle A β -	62
Tabela 7 – Comparação entre os níveis de marcadores inflamatórios dos grupos TDM A β -, DDA A β + e controle A β -	63
Tabela 8 – Modelo explicativo para os valores de A β 42	65
Tabela 9 – Modelo explicativo para os valores de p-Tau181	66
Tabela 10 – Correlação de Spearman entre ELISA e LUMINEX	86
Tabela 11 – Comparação entre os níveis de A β 42, t-Tau e p-Tau181 nos grupos TDM, DDA e controle	87
Tabela 12 – Comparação entre os níveis de marcadores inflamatórios nos grupos TDM, DDA e controle	88
Tabela 13 – Comparação entre os níveis de t-Tau e p-Tau181 dos grupos TDM A β -e TDM A β +	90
Tabela 14 – Comparação entre os níveis de marcadores inflamatórios dos grupos TDM A β - e TDM A β +	91
Tabela 15 – Dados demográficos e caracterização clínica dos grupos A β - e A β +	92

Tabela 16 – Diferenças significativas em escalas e em testes cognitivos dos grupos A β ⁺ e A β ⁻..... 94

Tabela 17 – Diferenças significativas de biomarcadores nos grupos A β ⁺ e A β ⁻..... 94

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AVE Acidente vascular encefálico

A β peptídeo β amiloide

BDNF brain-derived neurotrophic factor (fator neurotrófico derivado do cérebro)

Cai cálcio iônico

CCL-2 C-C chemokine ligand 2 (ligante 2 de quimiocina C-C)

CXCL C-X-C motif chemokine (quimiocina com motivo C-X-C)

CDR Clinical Dementia Rating (Escala de Avaliação Clínica da Demência)

CID Classificação Estatística Internacional de Doenças e de Problemas Relacionados à Saúde

CIRS-G Cumulative Illness Rating Scale for Geriatrics (Escala de Avaliação Cumulativa de Doenças para Geriatria)

D: doença de Alzheimer

DDA demência por doença de Alzheimer

DM2 Diabetes mellitus tipo 2

DRS (Mattis) Dementia Rating Scale (Escala de Avaliação de Demência de Mattis)

DSM Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais)

EDM episódio depressivo maior

EDTA ethylenediamine tetraacetic acid (ácido etilendiamínico tetraacético)

EGF epidermal growth factor (fator de crescimento epidermal)

ELISA enzyme-linked immunosorbent assay (ensaio de Imunoabsorção enzimática)

FAB Frontal Assessment Battery (Bateria de Avaliação Frontal)

GGT gama-glutamyltransferase

HAM-D Hamilton Rating Scale for Depression (Escala de Depressão de Hamilton)

HAS Hipertensão arterial sistêmica

HC Hospital das Clínicas

HDL-c high density lipoprotein – cholesterol (lipoproteína de alta densidade – colesterol)

HIV Human Immunodeficiency Virus (Vírus da Imunodeficiência Humana)

HgA1C hemoglobina glicada

HPMMG Hospital da Polícia Militar de Minas Gerais

hsCRP high sensitivity C-reactive protein (proteína C reativa ultrasensível)

IAM infarto agudo do miocárdio

IFN interferon

IL interleucina

IMC índice de massa corporal

ISRS inibidores seletivos da recaptção de serotonina

ISRSN inibidores seletivos da recaptção de serotonina e noradrenalina

K potássio

LIIM Laboratório Interdisciplinar de Investigações Médicas

LDL-c Low density lipoprotein – cholesterol (lipoproteína de baixa densidade – colesterol)

MEEM Mini Exame do Estado Mental

MCP-1 monocyte chemoattractant protein-1 (proteína quimioatratante de monócitos 1)

M.I.N.I. Mini-International Neuropsychiatry Interview (Minientrevista Neuropsiquiátrica Internacional)

n número

Na sódio

NIA-AA National Institute on Aging – Alzheimer’s Association (Instituto Nacional do Envelhecimento – Associação de Alzheimer)

NPI Neuropsychiatric Inventory (Inventário Neuropsiquiátrico)

PCR proteína C reativa

P-FAQ Pfeffer’s Functional Activities Questionnaire (Escala de Funcionalidade de Pfeffer)

p-Tau Tau fosforilada

sTNF-R soluble TNF-receptor (receptor solúvel de TNF)

T₄ Tiroxina

t-Tau Tau total

TCLE Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TDM transtorno depressivo maior

TFG taxa de filtração glomerular

TGO transaminase glutâmico-oxalacética

TGF transforming growth factor (fator de transformação do crescimento)

TGP transaminase glutâmico-pirúvica

TNF tumor necrosis factor (fator de necrose tumoral)

TSH thyroid stimulating hormone (hormônio estimulador da tireoide)

UFMG Universidade Federal de Minas Gerais

VEGF vascular endothelial growth factor (fator de crescimento do endotélio vascular)

VCAM vascular cell adhesion molecule (molécula de adesão celular vascular)

VDRL Venereal Disease Research Laboratory (Laboratório de Pesquisa de Doenças Venéreas)

WAIS Weschler Adult Intelligence Scale (Escala de Inteligência Weschler para Adultos)

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	23
1.1 A depressão no idoso	23
1.1.1 A depressão no idoso e o comprometimento cognitivo	25
1.1.2 A depressão no idoso e a inflamação	28
1.2 A doença de Alzheimer	29
1.2.1 O sistema ATN.....	34
2. JUSTIFICATIVA	38
3. OBJETIVOS	39
3.1 Objetivo geral	39
3.2 Objetivos específicos	39
4. MATERIAS E MÉTODOS	40
4.1 Critérios de inclusão e de exclusão	41
4.1.1 Critérios de inclusão para participantes com TDM.....	41
4.1.2 Critérios de inclusão para participantes com provável DDA	41
4.1.3 Critérios de inclusão para o grupo controle	42
4.1.4 Critérios de exclusão para todos os grupos	42
4.2 Instrumentos de avaliação psiquiátrica	42
4.2.1 Mini-International Neuropsychiatry Interview (M.I.N.I. Plus).....	42
4.2.2 Cumulative Illness Rating Scale for Geriatrics (CIRS-G).....	43
4.2.3 Miniexame do Estado Mental (MEEM).....	43
4.2.4 Escala de Avaliação Clínica da Demência (Clinical Dementia Rating – CDR)	44
4.2.5 Inventário Neuropsiquiátrico (Neuropsychiatric Inventory – NPI)	45
4.2.6 Pfeffer’s Functional Activities Questionnaire (P-FAQ)	45
4.2.7 Escala de Avaliação de Demência (Mattis)	46
4.2.8 Bateria de Avaliação Frontal (Frontal Assessment Battery – FAB).....	47
4.2.9 Escala de depressão de Hamilton (HAM-D).....	48
4.3 Avaliação de marcadores biológicos	48
4.3.1 A coleta de liquor	48
4.4 Procedimentos.....	51
4.4.1 Dados coletados em prontuário.....	53
4.4.2 Análise de subgrupos	53

4.5 Análise estatística	53
5. RESULTADOS	55
5.1 Caracterização da amostra	55
5.2 Comparação entre os grupos TDM, DDA e controle com relação à avaliação cognitiva, aos sintomas neuropsiquiátricos e à funcionalidade.....	56
5.3 Correlações entre dados sociodemográficos, pontuações em escalas e testes, níveis de marcadores inflamatórios A β 42, Tau total e p-Tau181.....	58
5.4 Classificação da amostra segundo níveis liquorícos de proteína A β 42.....	61
5.4.1 Comparação entre os níveis de t-Tau e p-Tau181 dos grupos TDM A β -, DDA A β + e Controle A β -	62
5.4.2 Comparação entre os níveis de marcadores inflamatórios dos grupos TDM A β -, DDA A β + e controle A β -.....	63
5.5 Modelos Multivariados	65
5.5.1 Modelo 1	65
5.5.2 Modelo 2	65
6. DISCUSSÃO	67
7. CONCLUSÃO.....	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
APÊNDICES	86
Correlações entre o método LUMINEX e o método ELISA.....	86
Comparação entre os grupos TDM, DDA e controle com relação a A β 42, Tau total e p-Tau181	86
Comparação entre os grupos TDM, DDA e controle com relação aos marcadores inflamatórios	88
Comparação entre os níveis de p-Tau181 e t-Tau dos grupos TDM A β - e TDM A β +	90
Comparação entre os níveis de marcadores inflamatórios dos grupos TDM A β - e TDM A β +	90
Caracterização dos grupos A β + e A β -	92
Caracterização clínica e sociodemográfica.....	92
Comparação entre os grupos A β - e A β + com relação à avaliação cognitiva e à funcionalidade.....	93
Comparação entre os grupos A β - e A β + com relação aos biomarcadores	94
ANEXOS	96
Artigo 1 – Depressive disorders in the elderly and dementia – An update	96

<i>Artigo 2 – Millipore xMap Luminex (HATMAG-68K): Na accurate and Cost-Effective Method for Evaluating Alzheimer’s Biomarkers in Cerebrospinal Fluid</i>	<i>102</i>
<i>Artigo 3 – Higher IL-6 and IL-4 plasma levels in depressed elderly women are influenced by diabetes mellitus</i>	<i>111</i>
<i>Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)</i>	<i>124</i>

1. INTRODUÇÃO

O número de idosos vem crescendo mais do que qualquer outro grupo etário. Estima-se que a quantidade de pessoas idosas no mundo irá quase que dobrar entre 2015 e 2050. Em termos absolutos, espera-se um aumento de 1,1 bilhão de indivíduos com idade acima dos 60 anos durante esse período. Segundo a Organização Mundial da Saúde (2017), 80% dessa população estaria presente em países de baixa e média renda, como, por exemplo, no Brasil, onde o número de idosos ultrapassou os 30 milhões em 2017 (IBGE, 2018).

Os transtornos depressivos e as demências, sobretudo, a demência na Doença de Alzheimer (DA), são as síndromes psiquiátricas mais comuns entre os idosos. Estudos populacionais apontam para a associação de transtornos depressivos com a DA, porém a natureza dessa relação ainda é controversa. Singh-Manoux, Dugravot, *et al.* (2017) e WU, WANG, *et al.* (2020), por exemplo, questionam se os transtornos depressivos devem ser vistos como um fator de risco ou como um pródromo da doença de Alzheimer. Chen, Dang e Zhang (2021), por outro lado, apontam que os sintomas depressivos podem ocorrer em pessoas com diagnóstico de DA já estabelecido. Leyhe, Reynolds III, *et al.* (2017) revelam que a apresentação clínica, incluindo a testagem neuropsicológica, pode ser insuficiente para distinguir indivíduos com transtornos depressivos e comprometimento cognitivo secundário daqueles com demência por DA e sintomas depressivos.

Nesse sentido, observações clínicas e estudos populacionais sugerem dois cenários distintos. No primeiro cenário, alterações neurobiológicas similares ocorrem tanto em idosos com transtornos depressivos quanto em idosos com diagnóstico de DA. No segundo cenário, fenótipos do mesmo *continuum* de alterações neurodegenerativas representam: i) parte dos transtornos depressivos nos idosos e ii) os estágios iniciais da doença de Alzheimer.

1.1 A depressão no idoso

A Organização Mundial da Saúde (2015) estima que no mundo exista aproximadamente 7% de idosos com quadros depressivos. O trabalho de Coelho, Crippa, *et al.* (2013) revela que, no Brasil, a prevalência de sintomas depressivos nesse grupo de pessoas é de 34,9%. Já em um estudo mais recente, Dias, Teixeira, *et al.* (2019) encontraram uma prevalência de 11,1% de transtorno depressivo maior (TDM) em idosos brasileiros com mais

de 75 anos. No Quadro 1, a seguir, são apresentados os critérios para o diagnóstico de episódio depressivo maior.

Quadro 1 – Critérios diagnósticos para episódio depressivo maior

A) No mínimo cinco dos seguintes sintomas estiveram presentes durante o período mínimo de duas semanas e representam uma alteração a partir do funcionamento anterior. Pelo menos um dos sintomas deve ser: (1) humor deprimido ou (2) perda do interesse ou prazer.

Nota: Não incluir sintomas nitidamente resultantes de outra condição médica.

- 1) Humor deprimido na maior parte do dia, quase todos os dias, indicado por relato subjetivo (ex.: sentimentos de tristeza, vazio, desesperança) ou observação feita por outros (ex.: parece choroso). Nota: em crianças e adolescentes pode ser humor irritável.
- 2) Acentuada diminuição do interesse ou prazer em todas ou quase todas as atividades, na maior parte do dia, quase todos os dias (indicado por relato subjetivo ou observação feita por outros).
- 3) Perda ou ganho significativo de peso sem estar em dieta (exemplificado por mais de 5% do peso corporal em um mês) ou diminuição ou aumento do apetite quase todos os dias. Nota: em crianças, considerar falha ao atingir o ganho de peso esperado.
- 4) Insônia ou hipersonia quase todos os dias.
- 5) Agitação ou retardo psicomotor quase todos os dias (observáveis por outros, não meramente sensações subjetivas de inquietação ou de estar mais lento).
- 6) Fadiga ou perda de energia quase todos os dias.
- 7) Sentimento de inutilidade, culpa excessiva ou inadequada (pode ser delirante), quase todos os dias (não meramente autorrecriminação ou culpa por estar doente).
- 8) Capacidade diminuída de pensar ou de concentrar-se ou ainda aumento da indecisão, quase todos os dias (indicado por relato subjetivo ou observação feita por outros).
- 9) Pensamentos de morte recorrentes (não apenas medo de morrer), ideação suicida recorrente sem um plano específico, tentativa de suicídio ou plano específico para cometer suicídio.

B) Os sintomas causam sofrimento clinicamente significativo ou prejuízo no funcionamento social, ocupacional ou em outras áreas importantes da vida do indivíduo.

C) Os sintomas não se devem aos efeitos fisiológicos de uma substância ou de outra condição médica.

Nota: Os critérios A-C representam um episódio depressivo maior.

Nota: Respostas a uma perda significativa (ex.: luto, falência, perdas por um desastre natural, doença grave ou incapacidade) podem englobar tristeza intensa, ruminação sobre a perda, insônia, perda de apetite e perda de peso descritos no critério A, o que pode aproximar-se de um episódio depressivo. Embora esses sintomas possam ser compreendidos e considerados apropriados para um momento de perda, a presença de um episódio depressivo maior concomitante a resposta esperada para uma perda significativa deve ser também cuidadosamente considerada. Essa decisão inevitavelmente requer um julgamento clínico baseado na história do indivíduo e nas normas culturais de expressão de sofrimento no contexto da perda.

D) Pelo menos um episódio depressivo maior não é melhor explicado por transtorno esquizoafetivo e não se sobrepõe a esquizofrenia, transtorno esquizofreniforme, transtorno delirante ou outro transtorno do espectro da esquizofrenia especificado ou não-especificado ou outro transtorno psicótico.

E) Nunca houve um episódio de mania ou hipomania.

Nota: Essa exclusão não se aplica se todos os episódios de mania ou hipomania foram induzidos por uma substância ou atribuídos aos efeitos fisiológicos de outra condição médica.

Fonte: Traduzido e Adaptado de American Psychiatric Association (2022).

1.1.1 A depressão no idoso e o comprometimento cognitivo

O comprometimento cognitivo é um dos critérios para o diagnóstico do TDM de acordo com o DSM-5-TR (cf. AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2022). No entanto, pessoas idosas deprimidas que apresentam comprometimento cognitivo importante e declínio funcional podem ser erroneamente diagnosticadas com síndromes demenciais, isto é, “pseudodemência depressiva”¹.

Os trabalhos de Rock, Roiser, *et al.* (2014) e Valiengo, Stella e Forlenza (2016) mencionam que os *déficits* cognitivos relacionados aos transtornos depressivos são caracterizados pela disfunção executiva – incluindo a resolução de problemas e planejamento,

¹ É válido explicar que “pseudodemência depressiva” compreende um termo arcaico e questionável, porém, pode ajudar a corroborar a dificuldade diagnóstica que existe em relação aos sintomas cognitivos em idosos (cf. DIAS, BARBOSA, *et al.*, 2020).

flexibilidade, tomada de decisão e controle inibitório – bem como pelo comprometimento na atenção seletiva e sustentada. Valiengo, Stella e Forlenza (2016) acrescentam ainda o comprometimento na fluência semântica e fonêmica a esses *déficits* cognitivos.

Nos idosos, a depressão de início precoce foi associada aos *déficits* de memória episódica e a atrofia hipocampal bilateral (SCHWEITZER, TUCKWELL, *et al.*, 2001; HERRMANN, GOODWIN e EBMEIER, 2007). Esse resultado pode ser relacionado às evidências epidemiológicas que apontam os transtornos depressivos como fatores de risco para a DA (OWNBY, CROCCO, *et al.*, 2006). Por outro lado, a depressão de início tardio foi associada a maior propensão de disfunção executiva e de proeminência de lesões cerebrovasculares em regiões frontais (HERRMANN, GOODWIN e EBMEIER, 2007; HERRMANN, MASURIER e EBMEIER, 2008; NAISMITH, NORRIE, *et al.*, 2012). Além disso, estudos mais recentes demonstraram comprometimento de memória e perda de volume hipocampal mais expressivos na depressão de início tardio em comparação com a depressão de início precoce (SACHS-ERICSSON, CORSENTINO, *et al.*, 2013; VALIENGO, STELLA e FORLENZA, 2016). Isso sugere que, além do comprometimento vascular, outras alterações neurodegenerativas estão associadas à depressão de início tardio.

Os transtornos depressivos em idosos foram relacionados aos *déficits* cognitivos mesmo após a remissão de sintomas de humor (RIDDLE, POTTER, *et al.*, 2017; FUNES, LAVRETSKY, *et al.*, 2018; SIDDARTH, FUNES, *et al.*, 2021). Esses *déficits* cognitivos são identificados pela apatia, o que também ocorre nos casos de DA e de doença de Parkinson (FUNES, LAVRETSKY, *et al.*, 2018). Gravidade leve dos sintomas depressivos, melhor funcionamento social e início de sintomas depressivos antes de 60 anos foram preditores de melhora cognitiva em pacientes com TDM oriundos de dois ensaios clínicos distintos². Menores níveis de apatia, comorbidades físicas³ e resiliência não foram correlacionados à melhora cognitiva (SIDDARTH, FUNES, *et al.*, 2021).

Em relação ao perfil das proteínas Tau total e de suas isoformas fosforiladas, bem como de A β 42 nos transtornos depressivos, não há ainda um parâmetro bem estabelecido (ver 1.1.2). A metanálise realizada no estudo de Nascimento, Silva, *et al.* (2015) com 141 pessoas idosas deprimidas mostrou níveis reduzidos de peptídeo A β 42 no liquor em comparação com aquelas do grupo controle. Por outro lado, os trabalhos de Welge, Fiege, *et al.* (2009); Hertze, Minthon, *et al.* (2010); Reis, Brandão, *et al.* (2012) e Sanfilippo, Forlenza, *et al.* (2016)

²O primeiro comparava metilfenidato e placebo *versus* citalopram e placebo *versus* citalopram e metilfenidato, o segundo comparava citalopram combinado com Tai Chi *versus* citalopram combinado com educação em saúde.

³Medidas pela CIRSG e CVRF – *Cardiovascular Risk Factor Prediction Chart*.

indicaram níveis maiores de peptídeo A β 42 no liquor de idosos deprimidos em comparação com idosos com DA. Já as pesquisas de Blennow, Wallin, *et al.* (1995), Buch, Padberg, *et al.* (1999), Schönknecht, Pantel, *et al.* (2007), Welge, Fiege, *et al.* (2009), Hertze, Minthon, *et al.* (2010) e Sanfilippo, Forlenza, *et al.* (2016) observaram níveis liquóricos menores de proteínas Tau total e Tau fosforiladas em idosos deprimidos em comparação com idosos com diagnóstico de DA. Por fim, a análise de Brown, Iwata, *et al.* (2016) não identificou diferenças nos níveis liquóricos de proteínas Tau total e Tau fosforiladas entre idosos deprimidos e indivíduos do grupo controle.

As investigações feitas por Leyhe, Reynolds III, *et al.* (2017) e Jamieson, Goodwill, *et al.* (2019) apontam uma sobreposição relevante na apresentação clínica e no desempenho cognitivo, bem como em resultados vistos em neuroimagens na depressão geriátrica e na demência por DA. Esse fato evidencia que o diagnóstico clínico diferencial do TDM no idoso e da demência na DA pode ser desafiador, por isso um acompanhamento longitudinal cuidadoso, com avaliação neuropsicológica e exames de biomarcadores podem ser necessários. Em razão dessas dificuldades no diagnóstico, constantes atualizações no que diz respeito às definições e novas propostas de classificação surgiram nos últimos anos.

Uma dessas atualizações compreende o DSM-5-TR, última versão do DSM, que manteve a definição das síndromes demenciais como Transtorno Neurocognitivo Maior (TNC Maior) seguindo as classificações do DSM-5 (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2022). O Quadro 2, adiante, apresenta os critérios utilizados para o diagnóstico de TNC Maior. É importante ressaltar que o critério D menciona a necessidade de exclusão dos quadros secundários em razão de outros transtornos mentais, sobretudo o transtorno depressivo maior.

Quadro 2 – Critérios diagnósticos para Transtorno Neurocognitivo Maior (TNC Maior)

A. Evidências de declínio cognitivo importante a partir de nível anterior de desempenho em um ou mais domínios cognitivos (atenção complexa, função executiva, aprendizagem e memória, linguagem, perceptomotor ou cognição social) com base em:

1. Preocupação do indivíduo, de um informante que acompanha o caso ou de um clínico de que há declínio significativo na função cognitiva e
2. Prejuízo substancial no desempenho cognitivo, de preferência documentado por teste neuropsicológico padronizado ou, na falta disso, por outra investigação clínica quantificada.

B. Os *déficits* cognitivos interferem na independência em atividades da vida diária (i.e., no mínimo, necessita de assistência em atividades instrumentais complexas da vida diária, como pagamento de contas e controle medicamentoso).

C. Os *déficits* cognitivos não ocorrem exclusivamente no contexto de delirium.

D. Os *déficits* cognitivos não são mais justificados por outro transtorno mental (ex.: transtorno depressivo maior, esquizofrenia etc.).

Fonte: Traduzido e Adaptado de American Psychiatric Association (2022).

1.1.2 A depressão no idoso e a inflamação

A inflamação compreende uma resposta biológica complexa a um dano celular ou tecidual causado por agentes químicos, físicos ou biológicos. Ela pode ser vista como uma resposta aguda e transitória do sistema imune (SOCHOCKA, DINIZ e LESZEK, 2017). No sistema nervoso central, as células microgliais normalmente estão quiescentes e são ativadas por diversos fatores, como, por exemplo, traumatismos, isquemias, doenças neurodegenerativas, infecções e/ou envelhecimento (WAISMAN, GINHOUX, *et al.*, 2015; LANA, UGOLINI, *et al.*, 2021). O processo de envelhecimento relaciona-se às alterações nos sistemas imune inato e adaptativo, caracterizando-se por atividade inflamatória crônica, denominada de *inflammaging* (BEKTAS, SCHURMAN, *et al.*, 2017). Condições prevalentes em idosos como Diabetes Mellitus (HALIM e HALIM, 2019), doenças cardiovasculares (FERRUCCI e FABBRI, 2018) e artrite reumatoide (NERURKAR, SIEBERT, *et al.*, 2019) estão associadas a um aumento de atividade inflamatória, de transtornos depressivos (DINIZ, REYNOLDS III, *et al.*, 2017) e de quadros demenciais da doença de Alzheimer (NEWCOMBE, CAMATS-PERNA, *et al.*, 2018).

Indivíduos com transtornos depressivos podem apresentar aumento nos níveis séricos e/ou plasmáticos de marcadores inflamatórios, a saber: interleucina (IL) – 6, IL-10, IL-13, IL-18, IL-12; receptor solúvel de IL-2; antagonista do receptor de IL-1; fator de necrose tumoral (*tumor necrosis factor* ou TNF); ligante 2 de quimiocina C-C (*C-C chemokine ligand 2* ou CCL-2); fator inibitório de migração de macrófago (*macrophage migration inhibitory factor* ou MIF); fator H do complemento (*complement factor H* ou CFH) e proteína C reativa (PCR) (HAAPAKOSKI, MATHIEU, *et al.*, 2015; EYRE, AIR, *et al.*, 2016; KÖHLER, FREITAS, *et al.*, 2017; PETRALIA, MAZZON, *et al.*, 2020 e TANG, LIU, *et al.*, 2021).

No que diz respeito a esses níveis, o trabalho de Ng, Tam, *et al.* (2018) envolveu 2016 idosos com sintomas depressivos e revelou elevações nos níveis de IL-6 desse grupo, o que não ocorreu com o grupo controle. Para os autores desse estudo, essa associação reflete uma maior proporção de comorbidades metabólicas modificáveis em idosos com sintomas depressivos uma vez que, em uma pesquisa anterior, níveis aumentados de IL-6 em idosos deprimidos já tinham sido relacionados a fatores de risco vascular e aterosclerose. Nessa mesma linha, dados do trabalho de Prak, Brooks, *et al.* (2022), que excluiu os indivíduos com doenças prévias ligadas à inflamação, não apontaram associação entre o aumento de marcadores inflamatórios e a TDM em idosos. Esses resultados corroboram a hipótese de que a elevação de marcadores inflamatórios no TDM pode ser mediada por outras condições médicas.

Um outro aspecto que influencia os transtornos depressivos diz respeito ao fator neurotrófico derivado do cérebro (*brain-derived neurotrophic factor* ou BDNF). Esse fator compreende uma neurotrofina encontrada principalmente no hipocampo e tem um papel importante na sobrevivência de neurônios, na integridade sináptica e na neuroplasticidade (HALBACH e HALBACH, 2018; CARNIEL e ROCHA, 2021). As pesquisas de Diniz, Teixeira, *et al.* (2010) e de Nunes, Nascimento, *et al.* (2018) evidenciam que pessoas idosas com transtornos depressivos apresentam redução do nível de BDNF. Essa redução também está associada ao comprometimento cognitivo (DINIZ, TEIXEIRA, *et al.*, 2014; SIUDA, PATALONG-OGIEWA, *et al.*, 2017) e à demência na DA (SOPOVA, GATSIU, *et al.*, 2014). Por fim, outros marcadores neurotróficos, como, por exemplo, o fator de crescimento do endotélio vascular (*vascular endothelial growth factor* ou VEGF) pode aumentar em pessoas com transtornos depressivos (CARVALHO, KÖHLER, *et al.*, 2015).

1.2 A doença de Alzheimer

Uma das hipóteses mais aceitas para explicar a fisiopatologia da doença de Alzheimer compreende a hipótese da cascata amiloide, que se baseia no acúmulo de formas insolúveis de proteína β -amiloide ($A\beta$) e na consequente agregação de proteína Tau em emaranhados neurofibrilares no cérebro (HARDY e HIGGINS, 1992). Atualmente, defende-se que a DA começa apenas quando uma reação celular patológica é identificada, o que foi chamado de “fase celular da doença de Alzheimer” (STROOPER e KARRAN, 2016).

No meio intracelular, a proteína precursora do amiloide (APP), que compreende uma proteína transmembrana com funções na plasticidade sináptica, é clivada pelas enzimas β - e γ -

secretase, produzindo A β . Nesse processo, peptídeos neurotóxicos de diferentes tamanhos – de 36 a 43 aminoácidos – são gerados e liberados no meio extracelular e, em seguida, agregados na forma de oligômeros, sendo os peptídeos com 42 aminoácidos mais suscetíveis à agregação. A depuração dos oligômeros no meio extracelular é realizada pelos astrócitos. Na DA, contudo, ocorre um desequilíbrio entre a produção e a depuração de A β , o que resulta na formação de placas amiloides e em lesão neuronal (MASTERS, BATEMAN, *et al.*, 2015). A A β induz a propagação dos emaranhados neurofibrilares de proteína Tau (LONG e HOLTZMAN, 2019), os quais estão relacionados aos marcadores de necroptose, como a degeneração granulovacuolar, por exemplo (KOPER, SCHOOR, *et al.*, 2020). Além de estar presente em outras células do organismo, a proteína Tau constitui os microtúbulos dos neurônios. Essa proteína sofre fosforilação e desfosforilação, que são processos necessários para estabilizar e reorganizar o citoesqueleto. Quando ocorre a hiperfosforilação, a proteína Tau se torna insolúvel, perdendo afinidade pelos microtúbulos, o que afeta o transporte axonal em razão da desestabilização desses microtúbulos. Uma vez hiperfosforilada, a proteína Tau tende a se agregar em filamentos helicoidais emparelhados que originarão os emaranhados neurofibrilares intracelulares (QUERFURTH e LAFERLA, 2010). O aumento de proteína Tau total, isto é, a elevação de todas as isoformas de Tau, independentemente do estado de hiperfosforilação, é observado em diversas doenças neurodegenerativas. Entretanto, o aumento de isoformas específicas caracterizam processos patológicos distintos. Na DA, por exemplo, observa-se o aumento de Tau fosforilada na treonina 181 (p-Tau₁₈₁), Tau fosforilada na treonina 217 (p-Tau₂₁₇) e Tau fosforilada na treonina 231 (p-Tau₂₃₁) (MASTERS, BATEMAN, *et al.*, 2015). O acúmulo de proteína Tau, por sua vez, precede os sintomas cognitivos, isto é, com a evolução da neurodegeneração associada à taupatia, o desenvolvimento de sintomas clínicos pode ser constatado (HANSEEUW, BETENSKY, *et al.*, 2019).

Nos últimos cinco anos, houve avanços na compreensão da fase celular da doença de Alzheimer. Isso significa dizer que ocorreram mudanças, principalmente, na forma como as células da micróglia e da astróglia são vistas no âmbito dessa condição. Essas células se mostraram capazes de determinar a progressão insidiosa da doença antes do comprometimento cognitivo ser observado (SCHELTENS, STROOPER, *et al.*, 2021). Neuroinflamação, injúria vascular, estresse oxidativo e disfunção mitocondrial estão entre os mecanismos que participam desse processo (BLENNOW, LEON e ZETTERBERG, 2006; KNOPMAN, AMIEVA, *et al.*, 2021). Aproximadamente 30% dos indivíduos cognitivamente saudáveis apresentam placas amiloides, que podem ser vistas por meio de autópsia. Esse fato corrobora a hipótese de que

processos que ocorrem concomitantemente ao acúmulo de A β são importantes para verificar o surgimento de alterações clínicas que caracterizam a DA (JACK JR e HOLTZMAN, 2013).

Um estudo em modelos animais sugere ainda que formas solúveis dos oligômeros de A β e de Tau podem ser mais tóxicas do que suas formas agregadas. A neurotoxicidade levaria a alterações morfológicas observadas na DA (perda neuronal, perda de dendritos, redução da arborização dendrítica e emaranhados neurofibrilares) e, conseqüentemente, a perdas sinápticas. Clinicamente, essas alterações são inicialmente percebidas como um comprometimento cognitivo (KNOPMAN, AMIEVA, *et al.*, 2021).

O entendimento dos aspectos fisiopatológicos da doença de Alzheimer sugere que as alterações cognitivas e comportamentais compreendem uma expressão clínica de um processo neuropatológico subjacente e de uma doença que segue uma trajetória em *continuum* tanto neuropatológico quanto clínico. O conceito de *Alzheimer's continuum* foi apresentado pela primeira vez no trabalho de Sperling, Aisen, *et al.* (2011) a partir de um modelo clínico-patológico. Nesse modelo, a presença das alterações neuropatológicas precede a apresentação clínica, ocorrendo em três fases progressivas, a saber: pré-clínica, comprometimento cognitivo leve e demência.

Em que pese as limitações da hipótese da cascata amiloide, Tau e A β são considerados marcadores da doença de Alzheimer. O aumento das dosagens de proteína Tau total e de suas isoformas fosforiladas e a redução de peptídeo β -amiloide 42 (A β 42) são considerados os principais marcadores líquidos para DA (BLENNOW e ZETTERBERG, 2018). Desde 2011, é sugerida, quando necessário, a avaliação dessas proteínas na prática clínica para corroborar o diagnóstico de DA, segundo os critérios estabelecidos pelo National Institute on Aging e Alzheimer's Association (NIA-AA) (MCKHANN, KNOPMAN, *et al.*, 2011).

Em 2018, com o avanço das pesquisas e de estudos que tratam de biomarcadores, um novo guia foi publicado pela NIA-AA, consolidando as alterações na DA como um *continuum* (cf. JACK JR, BENNETT, *et al.*, 2018). Esse guia propõe dois modelos que se complementam, um clínico e um biológico. No *continuum* cognitivo, o status cognitivo do indivíduo é classificado em três estágios, independentemente do biomarcador, a saber: cognição normal, comprometimento cognitivo leve e demência (ver Quadro 3).

Quadro 3 – Estágios do *continuum* cognitivo para o NIA-AA (2018)

Cognição normal

- Desempenho cognitivo dentro da faixa esperada para aquele indivíduo. Pode ser baseado no julgamento clínico e/ou no desempenho em teste cognitivo.
- Desempenho cognitivo pode estar alterado com base em normas populacionais, mas está dentro da faixa esperada para aquele indivíduo.
- Parte dos indivíduos sem *déficit* cognitivo pode relatar queixas cognitivas subjetivas e/ou demonstrar declínio sutil nos testes cognitivos.

Comprometimento cognitivo leve

- Desempenho cognitivo abaixo da faixa esperada para aquele indivíduo com base em todas as informações disponíveis. Isso pode ser baseado no julgamento clínico e/ou no desempenho em teste cognitivo (que pode ou não ser baseado em comparação com dados normativos com ou sem ajustes para idade, educação, ocupação, sexo etc.).
- O desempenho cognitivo geralmente está na faixa alterada, com base nas normas de população, mas isso não é necessário, desde que o desempenho esteja abaixo da faixa esperada para aquele indivíduo.
- Além de evidências de comprometimento cognitivo, evidências de declínio no desempenho cognitivo basal também devem ser identificadas. Isso pode ser relatado pelo indivíduo ou por um observador, como, por exemplo, uma pessoa do grupo de pesquisa, ou observado pela mudança na avaliação cognitiva longitudinal, ou por uma combinação de relatos e observações.
- Pode ser caracterizado por apresentações cognitivas que não são primariamente amnésticas.
- Embora o comprometimento cognitivo seja o principal critério clínico, alterações de comportamento podem ser uma característica proeminente do quadro clínico inicial.
- Consegue fazer atividades da vida diária de forma independente, mas o *déficit* cognitivo pode resultar em um impacto funcional detectável leve em atividades da vida diária que sejam mais avançadas, independentemente se forem autorrelatos do próprio indivíduo e/ou corroborações feitas por terceiros.

Demência

- Prejuízo cognitivo progressivo substancial que afeta vários domínios e/ou sintomas comportamentais. Pode ser relatado pelo indivíduo ou por um observador (por exemplo, parceiro) ou observado por mudança na avaliação cognitiva longitudinal.
- Comprometimento cognitivo e/ou sintomas comportamentais resultam em impacto funcional evidente na vida diária. O indivíduo não é mais totalmente independente e requer assistência com atividades do cotidiano. Esse é o principal fato que diferencia demência de comprometimento cognitivo leve (CCL).
- Pode ser subdividido em leve, moderado e grave.

Fonte: Traduzido e Adaptado de Jack Jr, Bennett, *et al.* (2018).

O *continuum* da doença de Alzheimer, por sua vez, é destinado apenas às pessoas que apresentam biomarcador amiloide positivo (ver 1.2.1). Para o guia em questão, se existir evidências de alterações neuropatológicas características de DA, as alterações clínicas devem seguir uma escala numérica de seis estágios, os quais refletem a gravidade da doença de acordo com os sintomas cognitivos, apresentados na Figura 1.

Estágio 1	Estágio 2	Estágio 3	Estágio 4	Estágio 5	Estágio 6
Sem evidências objetiva ou subjetiva de declínio cognitivo e sem alterações de comportamento	Declínio cognitivo subjetivo ou sutil objetivo (ou ambos) e não preenche critérios para CCL; início recente de sintomas comportamentais podem ocorrer ou pode ser o sintoma predominante	Declínio cognitivo objetivo a nível de CCL, pode ocorrer leves déficits funcionais (AVD avançada), mas independência preservada.	Demência leve	Demência Moderada	Demência avançada

Figura 1 – Estágios sintomáticos da doença de Alzheimer

CCL = comprometimento cognitivo leve

AVD = atividades de vida diária

Fonte: Traduzido e Adaptado de Jack Jr, Bennett, *et al.* (2018, p. 550)

O esquema detalhado na Figura 1 mostra os estágios sintomáticos da doença de Alzheimer propostos por Jack Jr, Bennett, *et al.* (2018, p. 550). Esses estágios englobam apenas os indivíduos que estão no *continuum* da doença de Alzheimer, isto é, que apresentam biomarcador amiloide positivo. As cores indicam a progressão do declínio cognitivo, indo desde a ausência de sintomas (verde) até a presença de demência avançada (vermelho).

A metanálise apresentada no trabalho de Lai, Liu, *et al.* (2017) demonstrou que pessoas com DA, quando são comparadas com indivíduos do grupo controle pareados por idade, também manifestam aumento de marcadores inflamatórios periféricos como: IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-18, receptor solúvel de TNF 1 e 2⁴, proteína C reativa ultrasensível⁵, interferon (IFN) – γ , quimiocina com motivo C-X-C – 10⁶, fator de crescimento epidermal⁷, molécula de adesão celular vascular – 1⁸, α 1-antiquimiotripsina e transferrina. Tal pesquisa apontou ainda que os níveis periféricos de IL-6 foram inversamente correlacionados com a pontuação do Mini Exame do Estado Mental (MEEM) desses indivíduos, sugerindo que as alterações nos níveis de moléculas inflamatórias tenham efeito sobre a cognição.

1.2.1 O sistema ATN

Desde 2018, a National Institute on Aging e Alzheimer’s Association (NIA-AA) propôs que, para fins de pesquisa, um diagnóstico biológico para DA fosse levado em consideração independentemente da presença de sinais e sintomas clínicos. Em razão disso, as concentrações líquóricas de proteína amiloide e de proteína Tau, bem como a neuroimagem molecular e estrutural são tratados como os principais marcadores de DA.

O sistema de classificação diagnóstica é binário – presença ou ausência – nomeado como AT(N). Nesse sistema, os biomarcadores são agrupados em três grandes grupos cuja organização se dá com base no processo patológico: (A) relacionado aos agregados β -amiloides, (T) relacionado à taupatia e (N) relacionada à neurodegeneração de forma geral, não específica da doença de Alzheimer. Diante desses parâmetros, a DA passou a ser considerada um construto biológico (JACK JR, BENNETT, *et al.*, 2016; 2018).

A avaliação da amiloidopatia e da taupatia podem ser realizadas através de tomografia por emissão de pósitrons (PET) ou através da redução da concentração de β -amiloides e do aumento da concentração de Tau fosforilada no liquor, respectivamente. A avaliação de neurodegeneração ou injúria neuronal é realizada por neuroimagem estrutural (ressonância magnética), por tomografia por emissão de pósitrons com fluordesoxiglicose (PET FDG) ou pela dosagem de Tau total no liquor. O Quadro 4 ilustra a descrição do sistema ATN.

Quadro 4 – Descrição do Sistema AT(N)

⁴ Minha tradução para: *soluble TNF-receptor* ou sTNF-R.

⁵ Minha tradução para: *high sensitivity CRP* ou hsCRP.

⁶ Minha tradução para: *C-X-C motif chemokine* ou CXCL.

⁷ Minha tradução para: *epidermal growth factor* ou EGF.

⁸ Minha tradução para: *vascular cell adhesion molecule* ou VCAM.

A: agregados A β ou estado patológico associado à amiloidopatia

A β 42 no LCR ou relação A β 42/A β 40 no LCR

PET com marcador amiloide

T: agregados neurofibrilares ou estado patológico associado à taupatia

p-Tau no LCR

PET com marcador Tau

(N): neurodegeneração ou lesão neuronal

RNM estrutural

PET FDG

t-Tau no LCR

A β = proteína β -amiloide; LCR = líquido cefalorraquidiano; PET = tomografia por emissão de pósitrons; p-Tau = proteína Tau fosforilada; RNM = ressonância nuclear magnética; PET FDG = Tomografia por emissão de pósitrons com fluordesoxiglicose t-Tau = proteína Tau total

Fonte: Traduzido e Adaptado de Jack Jr, Bennett, *et al.* (2018).

Baseado nesse sistema, o indivíduo pode ser agrupado em um destes três perfis: biomarcador normal para DA, *continuum* da doença de Alzheimer e alterações patológica não-DA (ver Quadro 5). Nesse sistema, a presença de A β é o biomarcador que caracteriza a DA, por isso o *continuum* da doença de Alzheimer abrange todos os indivíduos com evidência de amiloidopatia, independentemente da presença de taupatia ou de neurodegeneração. O diagnóstico de DA, portanto, está incluído nesse *continuum* e pressupõe a presença de taupatia, além da amiloidopatia, mesmo que não exista neurodegeneração ou apresentação clínica (JACK JR, BENNETT, *et al.*, 2018).

Quadro 5 – Classificação biológica segundo AT(N)

Perfil AT(N)	Categoria do biomarcador	
A - T - (N) -	Biomarcador normal	
A + T - (N) -	Alterações patológicas de Alzheimer	<i>continuum</i> da doença de Alzheimer
A + T + (N) +	Doença de Alzheimer	

A + T + (N) -	Doença de Alzheimer	
A + T - (N) +	Alzheimer e suspeitas de alterações patológicas não Alzheimer	
A - T + (N) -	Alterações patológicas não Alzheimer (APNA)	
A - T - (N) +	Alterações patológicas não Alzheimer (APNA)	
A - T + (N) +	Alterações patológicas não Alzheimer (APNA)	

Fonte: Traduzido e Adaptado de Jack Jr, Bennett, *et al.* (2018)

É importante ressaltar que, nesse sistema, a definição de DA depende de alterações concomitantes de proteína amiloide e Tau. Por meio desse sistema, é possível ainda medir a gravidade da doença através da avaliação de neurodegeneração (N) e de sintomatologia clínica (C) – AT(N)(C) (JACK JR, BENNETT, *et al.*, 2018). O Quadro 6, a seguir, detalha essas classificações.

Quadro 6 – Classificação AT(N)(C), com biomarcadores e apresentação clínica

Perfil de Biomarcadores	Sem alteração cognitiva	Comprometimento cognitivo leve	Demência
A - T - (N) -	Sem biomarcadores DA Sem alteração cognitiva	CCL e biomarcadores de DA sem alteração	Demência e biomarcadores de DA sem alteração
A + T - (N) -	Alterações patológicas de DA pré-clínica	Alterações patológicas de DA com CCL	Alterações patológicas de DA com Demência
A + T + (N) -	DA pré-clínica	Doença de Alzheimer com CCL (DA prodrômica)	Demência da Doença de Alzheimer
A + T + (N) +			
A + T - (N) +	Alterações patológicas concomitantes de DA e outras, sem alteração cognitiva	Alterações patológicas de DA concomitante a outra com CCL	Alterações patológicas de DA concomitante a outra com Demência
A - T + (N) -	Alterações patológicas não-DA sem alteração cognitiva	Alterações patológicas não-DA com CCL	Alterações patológicas não-DA com demência
A - T - (N) +			
A - T + (N) +			

DA = doença de Alzheimer; CCL = comprometimento cognitivo leve

Fonte: Traduzido e Adaptado de Jack Jr, Bennett, *et al.* (2018)

2. JUSTIFICATIVA

A compreensão da interação biológica entre depressão e comprometimento cognitivo e os possíveis biomarcadores que poderiam auxiliar na caracterização desses processos, sobretudo em idosos, revela-se como uma contribuição para o diagnóstico e o tratamento dos transtornos depressivos nessa parcela da população, bem como para a identificação de indivíduos em risco de desenvolver demência, em particular, a demência por doença de Alzheimer.

Na literatura, há uma grande quantidade de pesquisas cujos resultados mostram a associação entre alterações nos níveis de marcadores inflamatórios e a depressão. Entretanto, a possibilidade de essa associação em idosos ser mediada por outras condições médicas permanece sendo uma questão de debate. Nesse sentido, o estudo acerca das alterações de marcadores inflamatórios em pessoas idosas com transtornos depressivos mostra-se relevante para entender as particularidades de uma população crescente e cujas características fisiopatológicas são diferentes daquelas encontradas em adultos.

Portanto, a finalidade deste trabalho é investigar o perfil de marcadores inflamatórios e de marcadores da doença de Alzheimer (DA) em idosos com diagnóstico de transtorno depressivo maior (TDM) e comparar esses resultados com os obtidos para idosos com diagnóstico clínico de DDA, bem como com aqueles encontrados para idosos que não apresentam sintomas depressivos ou *déficits* cognitivos. Foram comparados também subgrupos baseados no perfil de proteína β amiloide no liquor. Nesse sentido, a investigação desses aspectos pode contribuir para um maior esclarecimento sobre a neurobiologia da depressão no idoso.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Comparar biomarcadores centrais e testes neurocognitivos em um grupo de idosos com TDM, com um grupo de idosos com DDA provável em estágio inicial e com um grupo controle.

3.2 Objetivos específicos

Este estudo visa comparar um grupo de idosos diagnosticados com TDM, com um grupo de idosos diagnosticados com DDA e um grupo controle quanto aos: **i.** Níveis de marcadores inflamatórios no liquor (IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, FGF, CCL11, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , CXCL10, CCL2, CCL3, CCL4, PDGF-bb, CCL5, TNF- α e VEGF), por meio da utilização de painel de marcadores disponível comercialmente; **ii.** Níveis de marcadores liquóricos (A β , t-Tau e p-Tau181) e **iii.** Resultados obtidos a partir da aplicação de testes de avaliação neurocognitiva.

A presente pesquisa pretende também avaliar se esses dados estão correlacionados com: **a.** A presença ou ausência de comorbidades (hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, acidente vascular encefálico, infarto agudo do miocárdio etc.); **b.** Medidas antropométricas e **c.** Características sociodemográficas.

4. MATERIAS E MÉTODOS

Trata-se de estudo transversal, cujo número de participantes (n) foi estabelecido conforme a disponibilidade dos serviços nos locais onde a pesquisa ocorreu. Tanto os indivíduos com DDA ou TDM quanto os indivíduos que constituíram o grupo controle foram convidados a participar do estudo e tiveram esclarecimentos acerca dessa participação. Uma vez obtida a concordância dos participantes, a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) era solicitada.

Foram realizadas análises de dados sociodemográficos, clínicos, marcadores para DA e análise exploratória de marcadores inflamatórios, utilizando-se *kit* disponível comercialmente.

Os marcadores inflamatórios que foram analisados compreendem interleucinas, quimiocinas, interferons, fatores estimulantes de colônia, fatores de crescimento e o TNF- α , descritos no Quadro 7 a seguir.

Quadro 7 – Marcadores analisados no presente estudo

Citocinas	Membros	Papel biológico	Pro-inflamatórias	Anti-inflamatórias
Interleucinas	IL-1 β , IL-1ar, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17	Envolvimento no controle de proliferação celular, divisão e diferenciação e na ativação / supressão imunológica	IL-1 β , IL-6 IL-2, IL-5, IL-7, IL-9, IL-12, IL-15, IL-17	IL-1ar, IL-4, IL-10, IL-13
Interferons	IFN- γ IP10	Atividade anti-viral; imunomodulação	IFN- γ	
Quimiocinas	CCL 11, IL-8, CCL 2, CCL 3, CCL 4, CCL 5	Quimiotaxia, angiogênese, polarização da	IL-8, CCL 2, CCL 3, CCL 4, CCL 5	

		resposta imune adaptativa		
Fator de necrose tumoral	TNF- α	Molécula pró-inflamatória, envolvida em apoptose	TNF- α	
Fatores estimulantes de colônia	G-CSF, GM-CSF	Proliferação e diferenciação de células-troco hematopoiéticas multipotentes	G-CSF, GM-CSF	
Fatores de crescimento	FGF basic, PDGF-BB, VEGF	Estímulo ao crescimento celular		

Fonte: Traduzido e adaptado de Taipa, Neves, *et al.* (2019).

Esta pesquisa foi aprovada pelos Comitês de Ética da UFMG e do HPMMG, sob o número CAAE: 82885317.7.0000.5149.

4.1 Critérios de inclusão e de exclusão

4.1.2 Critérios de inclusão para participantes com TDM

- Idade igual ou superior a 60 anos.
- Diagnóstico de transtorno depressivo maior (TDM), segundo critérios clínicos do DSM-5 (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013) e queixas de *déficits* cognitivos.

4.1.3 Critérios de inclusão para participantes com provável DDA

- Idade igual ou superior a 60 anos.
- Diagnóstico de demência por doença de Alzheimer (DDA) provável com início após os 60 anos, sendo o diagnóstico feito com base nos critérios do NIA-AA (cf.

MCKHANN, KNOPMAN, *et al.*, 2011) e escore global igual a um na *Clinical Dementia Rating – CDR* (cf. HUGHES, BERG, *et al.*, 1982), o que indica demência muito leve ou leve.

4.1.4 Critérios de inclusão para o grupo controle

- Idade igual ou superior a 60 anos.
- Pontuação no MEEM igual ou superior aos pontos de corte definidos para população brasileira, considerando o parâmetro escolaridade (cf. KOCHHANN, VARELA, *et al.*, 2010).
- Pontuação na Escala de Funcionalidade de Pfeffer ≤ 3 (cf. DUTRA, RIBEIRO, *et al.*, 2015).
- Ausência de queixa cognitiva ou de sintoma depressivo.

4.1.5 Critérios de exclusão para todos os grupos

- Presença de outros diagnósticos psiquiátricos, exceto dependência de tabaco e diagnósticos de TDM ou de DA, sendo esses diagnósticos feitos com base nos critérios clínicos do DSM-5 (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013).
- Deficiências ou *déficits* sensoriais e/ou intelectuais que impedissem a realização dos testes neuropsiquiátricos.
- Presença de doenças autoimunes em atividade ou em uso de antibióticos, anti-inflamatórios e/ou corticoides nas últimas quatro semanas.
- Presença de doenças neoplásicas em atividade.
- Pessoas clinicamente instáveis, isto é, indivíduos com sinais e sintomas de emergências médicas, como, por exemplo, febre, dispneia, dor torácica, dor abdominal, cefaleia, icterícia, tontura ou vertigem em qualquer momento da avaliação.

4.2 Instrumentos de avaliação psiquiátrica

4.2.1 Mini-International Neuropsychiatry Interview (M.I.N.I. Plus)

O M.I.N.I. Plus é uma versão mais detalhada do Mini-International Neuropsychiatry Interview (M.I.N.I.) (SHEEHAN, LECRUBIER, *et al.*, 1998). Constitui uma entrevista diagnóstica breve – cerca de 30 minutos, padronizada e estruturada. É um instrumento utilizado para identificar, na prática clínica e em pesquisas no âmbito da psiquiatria, transtornos psiquiátricos ao longo da vida do eixo I do DSM-IV e da Classificação Estatística Internacional de Doenças e de Problemas Relacionados à Saúde (CID-10) (SHEEHAN, LECRUBIER, *et al.*, 1998; AMORIM, 2000). O M.I.N.I. Plus explora sistematicamente todos os critérios de inclusão, exclusão e cronologia – data do início, duração dos transtornos e número de episódios – através de 23 categorias diagnósticas do DSM-IV.

4.2.2 Cumulative Illness Rating Scale for Geriatrics (CIRS-G)

O CIRS-G é uma adaptação do Cumulative Illness Rating Scale (LINN, LINN e GUREL, 1968). Trata-se de um instrumento para avaliar de forma breve o comprometimento físico no idoso. Está dividido em 14 itens que representam os sistemas corporais. Esses itens estão distribuídos em uma escala de cinco pontos que vai do zero, que significa “nada”, ao quatro, que significa “extremamente grave”. Compreende uma escala que apresenta boa confiabilidade e validade (MILLER, PARADIS, *et al.*, 1992).

4.2.3 Miniexame do Estado Mental (MEEM)

O MEEM é um dos instrumentos de rastreio cognitivo mais utilizados no mundo, tendo sido traduzido e adaptado para diversos idiomas e culturas. No Brasil, em particular, o instrumento já foi traduzido, validado e adaptado (cf. ALMEIDA, 1998; BRUCKI, NITRINI, *et al.*, 2003).

Ao todo, o documento conta com 20 testes, que somam 30 pontos, no total. Em indivíduos saudáveis, a aplicação demora de cinco a oito minutos, apresentando consistência interna moderada e boa confiabilidade de teste-reteste. É visto como um bom recurso para separar os indivíduos sadios daqueles que apresentam comprometimento cognitivo, independentemente da causa desse comprometimento e tem sido amplamente utilizado em estudos populacionais que avaliam a prevalência de distúrbios cognitivos (FOLSTEIN, FOLSTEIN e MCHUGH, 1975).

No estudo que originou tal instrumento, foram avaliados 206 indivíduos com síndrome demencial, transtornos afetivos com ou sem comprometimento cognitivo, esquizofrenia ou

transtornos da personalidade. Os resultados gerados a partir dos dados dessa parcela dos sujeitos foram comparados aos resultados obtidos para o grupo controle, que era constituído de indivíduos sadios.

No que diz respeito à questão quantitativa do MEEM, quando ele é comparado ao QI verbal e ao desempenho global, os índices de correlação de Pearson são, respectivamente, 0,78 e 0,66. Além disso, o MEEM mostrou boa confiabilidade na replicação após 24 horas e depois de 28 dias, sendo o examinador diferente em cada aplicação (cf. FOLSTEIN, FOLSTEIN e MCHUGH, 1975), bem como boa validade pela comparação com a Weschler Adult Intelligence Scale (WAIS). A pesquisa de Larner (2017) demonstrou que o MEEM pode ser utilizado como um teste de rastreio já que tem sensibilidade de 76,9% (95% IC = 70,1 - 83,1) e especificidade de 89,9 % (95% IC = 82,5 - 95,4%).

Folstein, Folstein e Mchugh (1975) sugerem o escore de 24 pontos como nível de corte para sujeitos que tenham pelo menos oito anos de escolaridade. No presente estudo, as notas de corte estabelecidas foram: 21 para analfabetos, 22 para escolaridade baixa (de um a cinco anos de estudo), 23 para escolaridade média (de seis a onze anos) e 24 para escolaridade alta (doze anos ou mais) (KOCHHANN, VARELA, *et al.*, 2010), sendo que, como critério de inclusão no grupo controle, valores acima das notas de corte para rastreio de demência foram levados em consideração.

4.2.4 Escala de Avaliação Clínica da Demência (Clinical Dementia Rating – CDR)

A Escala de Avaliação Clínica da Demência (Clinical Dementia Rating – CDR) é um instrumento semiobjetivo, desenvolvido em 1979, no escopo do projeto Memory and Aging da Universidade de Washington nos EUA. Essa escala foi criada para determinar os estágios da demência, sobretudo na doença de Alzheimer (HUGHES, BERG, *et al.*, 1982). A confiabilidade global da CDR foi avaliada por meio de um ensaio multicêntrico que a classificou com confiabilidade de moderada a alta, apesar de dificuldades acerca da avaliação de demência nas fases mais iniciais terem sido identificadas (ROCKWOOD, STRANG, *et al.*, 2000).

No que concerne a demência, a CDR é a escala de gravidade mais empregada no mundo tanto nos estudos clínicos quanto na prática clínica, sendo tratada como um critério padrão em ensaios clínicos multicêntricos que abordam a doença de Alzheimer (SCHAFER, TRACTENBERG, *et al.*, 2004). A escala é dicotômica no que diz respeito à ausência ou presença de demência, ou seja, CDR = 0 vs. CDR = 0,5 ou maior (MONTAÑO e RAMOS, 2005; MAIA, GODINHO, *et al.*, 2006). Há ainda a divisão em dois sistemas de pontuação:

pontuação global (*CDR – global score*) e soma das caixas (*CDR – sum of boxes*) (MORRIS, 1993; O'BRYANT, WARING, *et al.*, 2008). Os estudos de validação desse instrumento no Brasil empregam a pontuação global, que envolve uma escala ordinal de cinco pontos em que CDR = 0 representa ausência de demência e CDR = 0,5; 1; 2 ou 3 indica, respectivamente, estágio muito leve (ou questionável), estágio leve, estágio moderado ou estágio grave.

A aplicação do instrumento ocorre por meio de uma entrevista com os indivíduos e um familiar e/ou cuidador e tem como objetivo principal a obtenção de informações para avaliar o desempenho cognitivo através de seis domínios: memória, orientação, julgamento e solução de problemas, atividades relacionadas à comunidade, ao lar, aos passatempos e aos cuidados pessoais. Com exceção dos cuidados pessoais cuja avaliação ocorre por meio de uma escala de quatro pontos, cada um dos domínios restantes é avaliado conforme os cinco níveis de comprometimento, a saber: 0 (nenhum), 0,5 (questionável), 1 (leve), 2 (moderado) e 3 (grave) (HUGHES, BERG, *et al.*, 1982). É válido destacar, por fim, que a CDR pontua apenas os comprometimentos que são provocados por perda cognitiva, ou seja, dificuldades decorrentes de incapacidade física ou de outros fatores que não são englobados pela escala.

4.2.5 Inventário Neuropsiquiátrico (Neuropsychiatric Inventory – NPI)

O Inventário Neuropsiquiátrico (Neuropsychiatric Inventory – NPI) é um instrumento que deve ser respondido pelo cuidador do indivíduo em questão e que avalia dez alterações de comportamento que podem ocorrer em pessoas com demência: delírios, alucinações, disforia, ansiedade, agitação/agressividade, euforia, desinibição, irritabilidade/labilidade, apatia e atividade motora aberrante.

Há uma estratégia de rastreio proposta pelo NPI que visa a diminuição do tempo de aplicação. Nessa estratégia, avaliam-se apenas aqueles domínios que tiveram resposta positiva, bem como a frequência e a gravidade de cada comportamento presente.

4.2.6 Pfeffer's Functional Activities Questionnaire (P-FAQ)

O P-FAQ é uma das versões do Functional Activities Questionnaire (FAQ). Trata-se de um questionário frequentemente utilizado no Brasil tanto em prática clínica quanto em pesquisa (MORAES, 2008; LINO, 2011). As análises de correlações provenientes desse instrumento não sugerem a associação dos resultados do questionário com idade e/ou escolaridade (ASSIS, PAULA, *et al.*, 2014). O FAQ foi desenvolvido inicialmente para avaliar

idosos residentes na comunidade que tinham a função cognitiva preservada ou apenas levemente afetada, mas funcionou ainda melhor em estudos populacionais que analisavam indivíduos com escores cognitivos fronteiriços, reduzindo as ocorrências de falso-positivos (PFEFFER, KUROSAKI, *et al.*, 1982).

As dez atividades incluídas no P-FAQ são: controlar as próprias finanças, fazer compras, esquentar água e apagar o fogo, preparar refeições, manter-se atualizado, assistir a notícias e conseguir discuti-las, manter-se orientado enquanto anda pela vizinhança, lembrar-se de compromissos, cuidar da própria medicação e ficar sozinho em casa (ASSIS, PAULA, *et al.*, 2014). O valor de três pontos é considerado ponto de corte para a ausência de declínio funcional (DUTRA, RIBEIRO, *et al.*, 2015).

4.2.7 Escala de Avaliação de Demência (Mattis)

A Escala de Avaliação de Demência (Dementia Rating Scale – DRS) é conhecida também como escala Mattis e compreende uma medida do estado cognitivo global utilizada na avaliação de indivíduos com doença de Alzheimer (MATTIS, 1988). Trata-se de um instrumento de rastreio utilizado em prática clínica e em pesquisas uma vez que possibilita o acesso a um maior número de informações em comparação a outros testes de rastreio para avaliação de demência (cf. MONSCH, BONDI, *et al.*, 1995; FAMA, SULLIVAN, *et al.*, 1997) e ainda auxilia no diagnóstico diferencial entre indivíduos com doença de Alzheimer e outras demências como, por exemplo, doença de Parkinson (cf. PAOLO, TRÖSTER, *et al.*, 1995), doença de Huntington (cf. PAULSEN, BUTTERS, *et al.*, 1995) e demência vascular (cf. KERTESZ e CLYDESDALE, 1994).

A escala Mattis é composta de cinco subescalas que totalizam 36 tarefas, a saber: atenção (repetição de dígitos em ordem direta e inversa, habilidades a comandos verbais); iniciativa/perseveração (fluência verbal, gestos simultâneos e alternados com as mãos, perseveração); construção (cópia de figuras geométricas com lápis e papel, escrita do nome); conceituação (abstração de estímulos verbais e visuais) e memória (lembrança e reconhecimento de estímulo verbal e visual para evocação imediata e tardia). A aplicação do instrumento leva de 30 a 40 minutos em pessoas com demência e deve ser feita em uma ordem fixa, na qual os testes mais difíceis de cada subescala são realizados primeiro e, quando respondidos corretamente, o examinador tem autonomia para creditar como corretas as tarefas seguintes que estão no escopo dessa subescala. Isso permite que o tempo total de testagem em indivíduos com a cognição mais preservada seja reduzido. Apenas os testes da subescala

“atenção” não seguem essa ordem fixa, pois servem como tarefas distratoras para a subescala “memória”. A soma dos pontos de cada subescala fornece uma pontuação parcial: atenção (37 pontos); iniciativa/perseveração (37 pontos); construção (6 pontos); conceituação (39 pontos) e memória (25 pontos), sendo a pontuação total máxima 144 pontos (cf. PORTO, 2016).

Em relação à interferência das variáveis idade e escolaridade na escala Mattis utilizada no Brasil, a pesquisa de Porto, Fichman, *et al.* (2003) identificou uma nota de corte de 122 para a pontuação total, sendo 91,7 de sensibilidade e 87,8 de especificidade para uma população de 41 indivíduos com doença de Alzheimer I provável e, com idades entre 53 e 88 anos (média = $71,59 \pm 8,41$) e escolaridade de 1 a 16 anos (média = $9,07 \pm 5,31$), e em 60 controles, com idades entre 51 e 84 anos (média = $69,65 \pm 8,49$) e escolaridade de 1 a 16 anos (média = $8,05 \pm 4,62$) que fizeram parte do estudo em questão. Os resultados desse trabalho apontam ainda que o fator escolaridade tem maior relevância para o desempenho na escala Mattis brasileira do que o fator idade. Além disso, as subescalas de “memória” e “iniciativa/perseveração” foram as que apresentaram maior capacidade de diferenciar as pessoas com doença de Alzheimer leve daquelas do grupo controle.

A pesquisa de Foss, Carvalho, *et al.* (2013) revelou que sujeitos com baixa escolaridade e com idade acima de 80 anos apresentam resultados cujas somas são mais baixas quando comparados com indivíduos que possuem outra escolaridade e idade, por isso a interpretação cuidadosa dos resultados é importante.

4.2.8 Bateria de Avaliação Frontal (Frontal Assessment Battery – FAB)

A FAB é um instrumento de avaliação cognitiva e comportamental que acessa funções do lobo frontal (DUBOIS, SLACHEVSKY, *et al.*, 2000). Consiste em seis subtestes que exploram conceituação, flexibilidade, programação motora, sensibilidade a interferência, controle inibitório e autonomia ambiental. O tempo de aplicação leva cerca de dez minutos. A pontuação na FAB está correlacionada à pontuação na Mattis ($\rho = 0,68$; $p < 0,01$), mas não apresenta relação com a pontuação no MEEM, uma medida de função cognitiva mais geral, nem está associada com a idade.

O instrumento apresenta boa confiabilidade entre avaliadores ($k = 0,87$; $p < 0,001$), consistência interna (coeficiente alfa de Cronbach = $0,78$) e validade discriminante (89,1% de casos corretamente identificados em análise discriminativa de indivíduos com DA ou TDM e aqueles do grupo controle) (cf. DUBOIS, SLACHEVSKY, *et al.*, 2000). A versão da FAB traduzida e adaptada para o português brasileiro não apresenta correlação com a idade, apenas

com a pontuação no MEEM ($r = 0,46$; $p = 0,001$) e com a escolaridade ($r = 0,37$; $p = 0,01$), sobretudo quando os itens “similaridades” e “instruções conflitantes” são analisados separadamente em uma amostra de idosos saudáveis (cf. BEATO, NITRINI, *et al.*, 2007).

4.2.9 Escala de depressão de Hamilton (HAM-D)

A HAM-D é o instrumento de avaliação de sintomas depressivos mais utilizado no mundo e apresenta boas propriedades psicométricas tanto de validade quanto de confiabilidade no que concerne à depressão. A versão original tem 21 itens (cf. HAMILTON, 1960), mas em virtude da baixa ocorrência dos quatro últimos itens da escala original – variação diurna, sintomas de desrealização/despersonalização, sintomas paranoides e sintomas obsessivo-compulsivos –, uma versão simplificada com 17 itens foi proposta (cf. HAMILTON, 1967). Além dessas duas versões, há uma outra com 24 itens que envolve questões sobre desamparo, desesperança e baixa autoestima (cf. HEDLUND e VIEWEG, 1979).

A presente pesquisa utilizou a versão de 17 itens cujo escore máximo é 50, sendo que os pontos de corte menores que sete sugerem eutímia; e os pontos de corte maiores ou iguais a sete indicam depressão ou sintomatologia “subsindrômica” (cf. GAZALLE, ANDREAZZA, *et al.*, 2006; BEYER, 2008).

4.3 Avaliação de marcadores biológicos

Após a realização da avaliação clínica dos indivíduos com DDA ou TDM e dos indivíduos do grupo controle, os participantes foram submetidos à coleta de liquor para a dosagem de marcadores de DA e dos marcadores inflamatórios. O material biológico do grupo controle foi coletado em um centro cirúrgico antes do início da cirurgia eletiva de artroplastia de joelho para a qual esses indivíduos já tinham indicação.

4.3.1 A coleta de liquor

Foram coletados 4 mL de liquor em tubo coletor universal. No caso dos indivíduos com TDM ou DA, a punção liquórica foi realizada em sala de coleta apropriada, com técnica asséptica adequada e por profissional médico com experiência nesse tipo de procedimento. No caso do grupo controle, a punção liquórica foi realizada antes da aplicação da raquianestesia

para a cirurgia eletiva (ver 4.3). O tempo médio até o início do processamento do liquor foi de 15 minutos. Depois desse processamento, o liquor foi armazenado em freezer a - 80 °C até as análises laboratoriais.

Para essas análises, todas as amostras foram descongeladas e tiveram as concentrações dos marcadores inflamatórios e dos marcadores A β 42, p-Tau181 e t-Tau determinadas através do método de LUMINEX xMap, sendo essas concentrações sempre expressas em pg/mL. Uma parte das amostras teve os níveis liquóricos de A β 42, p-Tau, t-Tau dosados também por ensaio de imunoabsorção enzimática por meio do kit ELISA⁹, padronizado e disponível comercialmente como Innostest®, o qual foi utilizado de acordo com as instruções fornecidas pelo fabricante¹⁰.

4.3.1.1 LUMINEX – Millipore xMap® para análise de marcadores inflamatórios

Para a análise de marcadores inflamatórios, utilizou-se o *kit* Bio-Plex Pro Human cytokine 27-plex panel e empregou-se a técnica de LUMINEX, seguindo as instruções do fabricante para ensaios laboratoriais. A seguir, tais instruções estão descritas.

As proteínas padrão do *kit* foram delicadamente homogeneizadas e diluídas – diluições seriadas. Microesferas de captura para cada proteína foram aliqüotadas, de acordo com o número de amostras, e misturadas para o ensaio. Em seguida, a mistura de microesferas de captura foi agitada em vórtex; e 25 μ L dessa mistura foram adicionados aos 25 μ L de amostra e proteína padrão nas diluições indicadas.

A placa com as amostras foi incubada por 16 a 18 horas ao abrigo da luz em uma temperatura de 4 °C. Depois dessa incubação, as amostras foram lavadas e o anticorpo de detecção (25 μ L) foi adicionado aos poços de análise. Em seguida, essas amostras foram incubadas novamente por duas horas. Transcorrido esse tempo, a estreptavidina (50 μ L) foi adicionada; e as amostras incubadas de novo por 30 minutos. Em seguida, a placa foi lavada e suspendida novamente em tampão de leitura (300 μ L) para aquisição no equipamento MagPix¹¹, através da utilização do *software* Exponent¹². Após a leitura das amostras, os dados foram analisados pelo programa Analyst¹³ e os resultados expressos em pg/mL.

⁹ Em inglês, *enzyme-linked immunosorbent assay*.

¹⁰ Innogenetics/Fujirebio, Belgium.

¹¹ Merck Millipore, Darmstadt, Germany.

¹² Disponível em: <https://www.stablemicrosystems.com/SoftwareUpdateExponent.html>

¹³ Disponível em: https://www.merckmillipore.com/BR/pt/products/vMqb.qB.GdEAAAE_Mhd3.Lxj,nav

4.3.1.2 LUMINEX – Millipore xMap® para análise de biomarcadores da doença de Alzheimer

Para as quantificações dos biomarcadores da doença de Alzheimer no liquor, utilizou-se a tecnologia LUMINEX Milliplex xMap®¹⁴ que permitiu a pesquisa dos respectivos analitos: A β 42; p-Tau181 e t-Tau. O kit Human Amyloid Beta and Tau Magnetic Bead Panel® (HNABTMAG-68K) Millipore xMap® foi usado.

Para a realização dos ensaios LUMINEX, as recomendações do fabricante foram seguidas. Por isso, as amostras de liquor foram descongeladas, homogeneizadas no vórtex por cinco segundos e diluídas em Assay Buffer na proporção de 1:2. Em seguida, 200 μ L de Assay Buffer foram acrescentados aos poços da placa, os quais foram selados e misturados em um agitador de placas por dez minutos em temperatura ambiente (20 a 25 °C). Logo depois, o Assay Buffer foi decantado; e a quantidade residual de todos os poços removida por meio da inversão da placa e de leves batidas da mesma em toalhas absorventes até que todo o conteúdo fosse retirado. Posteriormente, seguindo a designação feita previamente para cada poço, 25 μ L de cada proteína padrão foi adicionada aos poços indicados – poços de padrão; 25 μ L de Assay Buffer foram acrescentados aos poços definidos para tal – poços de fundo e 25 μ L de amostras foram diluídas e centrifugadas nos poços destinados para isso – poços de amostras, sendo 25 μ L de anticorpos de detecção e 25 μ L de grânulos (*beads*) em cada poço. Por fim, a placa foi selada, embrulhada com papel alumínio e incubada durante a noite (16 a 20 horas) em temperatura ambiente (20 a 25 °C) e sob agitação (300 \pm 50 rpm).

No dia seguinte, o conteúdo dos poços foi removido suavemente, e a placa lavada por três vezes com 200 μ L de Wash Buffer. Em seguida, 25 μ L de estreptavidina-ficoeritrina foi adicionada em cada poço. Depois, a placa foi selada, embrulhada com papel alumínio e incubada por 30 minutos sob agitação (300 \pm 50 rpm), em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Logo após, a lavagem com 200 μ L de Wash Buffer foi realizada por três vezes, o *pellet* com adição de 100 μ L de tampão foi suspenso novamente, e as amostras homogeneizadas por cinco minutos.

As intensidades médias de fluorescência por aquisição das amostras foram determinadas no equipamento LUMINEX xMap através da utilização do *software* LUMINEX

¹⁴ LUMINEX Corporation, Texas, EUA.

xPONENT. As concentrações dos biomarcadores foram obtidas a partir da construção de curvas-padrão dos analitos, as quais foram geradas pelo *software* Milliplex Analyst¹⁵.

Por fim, dois aspectos relevantes para este trabalho ainda precisam ser mencionados, a saber: **i.** para transformar as intensidades médias de fluorescência em concentrações (pg/mL), uma curva logística de ajuste de cinco parâmetros foi utilizada e **ii.** os pontos de corte considerados para esta fase do presente estudo foram aqueles encontrados em Hansen, Dias, *et al.* (2021).

4.3.1.3 ELISA – INNOTEST®

Para esta pesquisa, o imunoenensaio enzimático de fase sólida ELISA – INNOTEST® foi utilizado como teste de referência. Trata-se de um método manual, no qual a proteína é capturada por um anticorpo monoclonal. Para a quantificação dos biomarcadores A β 42, p-Tau e t-Tau foi necessário a realização de três ensaios, um para cada biomarcador, sendo utilizado *kits* específicos – INNOTEST® β -amiloide (1-42), INNOTEST® PHOSPHO-TAU (181P) e INNOTEST® hTAU Ag (Fugirebio, Europe) – para cada um deles.

Seguindo as orientações do fabricante no que envolve a realização dos ensaios, para cada biomarcador, um anticorpo biotinilado foi adicionado às amostras de liquor, as quais foram incubadas para que um complexo antígeno-anticorpo pudesse ser detectado. Após a adição da solução de trabalho no substrato, as cores das amostras sofreram modificações, sendo a intensidade da cor uma medida que indica a quantidade de proteína na amostra.

Apesar de não haver na literatura um consenso quanto aos pontos de corte para biomarcadores, em razão da variabilidade de resultados obtidos intra e inter laboratórios, o presente estudo seguiu os valores estabelecidos por Duits, Teunissen, *et al.* (2014) e Mulder, Verwey, *et al.* (2010).

4.4 Procedimentos

Os indivíduos com DDA ou TDM foram recrutados e avaliados no período de outubro de 2018 a outubro de 2021 no Ambulatório de Psicogeriatria da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Já os indivíduos do grupo controle foram recrutados no serviço de Ortopedia do Hospital da Polícia Militar de Minas Gerais (HPMMG)

¹⁵ Millipore Sigma

e avaliados no período de julho de 2019 a outubro de 2021. Para além desses locais, uma parte dos sujeitos deste trabalho advém do grupo de Envelhecimento e Doenças Neurodegenerativas¹⁶ – doze com diagnóstico de DDA, um com diagnóstico de TDM e quatro do grupo controle. As avaliações psiquiátricas foram feitas semanalmente no Ambulatório de Psicogeriatria. Essas avaliações foram feitas pela pesquisadora responsável, à exceção daquelas dos indivíduos advindos do grupo de Envelhecimento e Doenças Neurodegenerativas.

Os participantes foram entrevistados em salas destinadas a consultas individuais em horário combinado de acordo com a disponibilidade de cada um. Dois encontros com duração aproximada de uma hora eram realizados. Quando solicitado pelo participante, apenas um encontro com duração de duas a três horas, dependendo das condições do indivíduo, era realizado. Nesse caso, intervalos de dez minutos ocorriam sempre que o participante pedisse.

No primeiro encontro, foi realizada uma entrevista clínica para coleta de dados sobre as características sociodemográficas, dados antropométricos e caracterização da doença. Ainda nesse momento, o diagnóstico de comorbidades e as medicações em uso foram exploradas, bem como o diagnóstico psiquiátrico e possíveis comorbidades psiquiátricas. Isso se deu por meio de uma entrevista semiestruturada M.I.N.I. Plus (cf. SHEEHAN, LECRUBIER, *et al.*, 1998; AMORIM, 2000). Para o diagnóstico de demência leve por DA provável, foram verificados os critérios do NIA-AA (cf. MCKHANN, KNOPMAN, *et al.*, 2011) e o escore da CDR (cf. HUGHES, BERG, *et al.*, 1982).

No segundo encontro, foram aplicados o MEEM (cf. BRUCKI, NITRINI, *et al.*, 2003); a HAM-D (cf. HAMILTON, 1960); o NPI (cf. CUMMINGS, MEGA, *et al.*, 1994); a Escala de Funcionalidade de Pfeffer (cf. PFEFFER, KUROSAKI, *et al.*, 1982); a FAB (cf. BEATO, NITRINI, *et al.*, 2007) e a escala Mattis (cf. MATTIS, 1988).

A coleta de liquor e a avaliação psiquiátrica ocorreram em um intervalo de até 30 dias para todos os participantes deste estudo. Nos indivíduos que tinham DDA ou TDM, a punção líquórica foi realizada nas dependências da Faculdade de Medicina da UFMG, com técnica asséptica adequada e por profissional médico com experiência nesse tipo de procedimento. Nos indivíduos do grupo controle, a punção líquórica foi realizada antes da aplicação da raquianestesia para a cirurgia eletiva. Todo o material biológico coletado foi levado diretamente para o Laboratório Interdisciplinar de Investigações Médicas (LIIM) da UFMG a fim de que pudesse ser processado e armazenado a - 80 °C até o momento das análises laboratoriais.

¹⁶ Grupo coordenado pela Professora Maria Aparecida Camargos Bicalho no âmbito da Faculdade de Medicina da UFMG.

As análises realizadas através da utilização do ELISA foram processadas na UTHealth Houston – Texas, nos EUA, pela Profa. Dra. Natália Pessoa Rocha. As análises que avaliaram os marcadores de DA pela técnica de LUMINEX foram feitas no Instituto René Rachou, na Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) – MG, e as análises de marcadores inflamatórios foram efetuadas no Laboratório Interdisciplinar de Investigação Médica (LIIM), na UFMG, pela Dra. Roberta da Silva Filha e acompanhadas pela pesquisadora responsável.

4.4.1 Dados coletados em prontuário

Foram coletados, em prontuário, resultados de exames laboratoriais para o diagnóstico diferencial de demência potencialmente reversível, contemplando os seguintes exames: VDRL¹⁷; anti-HIV¹⁸; TSH¹⁹; vitamina B12 e ácido fólico. Além disso, exames gerais como hemograma completo, hemoglobina glicada (HgA1C), creatinina, colesterol total e frações, triglicérides, tiroxina livre (T₄ livre), transaminase glutâmico-oxalacética (TGO), transaminase glutâmico-pirúvica (TGP), gama-glutamilttransferase (GGT), sódio (Na), potássio (K) e cálcio iônico (Ca iônico) foram coletados em todos os indivíduos com diagnóstico de TDM ou de DA. A coleta desses dados conferiu maior confiabilidade aos diagnósticos de DDA e TDM uma vez que excluiu outras possibilidades de diagnósticos, como, por exemplo, anormalidades nos níveis de folato sérico, vitamina B12 e/ou hormônio tireoideano e sorologia positiva para sífilis e/ou HIV, ou possíveis alterações comportamentais e cognitivas secundárias às descompensações por comorbidades clínicas.

4.4.2 Análise de subgrupos

Os sujeitos do presente estudo foram divididos de acordo com os níveis líquóricos do marcador A β 42:

A β -: A β 42 \geq 1012 pg/mL (cf. HANSEN, DIAS, *et al.*, 2021).

A β +: A β 42 < 1012 pg/mL (cf. HANSEN, DIAS, *et al.*, 2021).

4.5 Análise estatística

¹⁷ Veneral Disease Research Laboratory.

¹⁸ Human Immunodeficiency Virus.

¹⁹ Thyroid Stimulating Hormone.

Para a análise descritiva, as variáveis qualitativas foram dispostas em tabelas com as frequências em valores absolutos e relativos enquanto que as variáveis contínuas passaram pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Nesse teste, quando o valor p for superior a 0,05, a normalidade será confirmada; e os dados apresentados em forma de média e desvio padrão. Caso contrário, os dados são apresentados como mediana e quartis.

Ainda com relação às variáveis qualitativas, a comparação dos grupos foi feita através do teste de Qui-Quadrado, que avalia a existência de associação entre o grupo e uma dada variável. Quando o valor p for superior a 0,05, a composição dos grupos com relação à variável em questão será estatisticamente igual. Para casos especiais em que a amostra for pequena o suficiente para gerar números absolutos inferiores a cinco em um dos quadrantes da análise, o Teste Exato de Fisher, que tem a mesma leitura do Qui-Quadrado, será utilizado.

No que diz respeito à comparação das variáveis quantitativas entre os três grupos, quando a distribuição for normal, o teste utilizado será a ANOVA, mas quando a distribuição não for normal, o teste será o Kruskal-Wallis. Quando a comparação das variáveis se der entre dois grupos e a distribuição for normal, o teste empregado será o teste t para amostras independentes, porém, quando a distribuição não for normal, o teste aplicado será o Mann-Whitney.

As correlações entre idade, escolaridade, IMC, carga tabágica em anos-maço, comprometimento físico (CIRSG), desempenho cognitivo (MEEM, Mattis e FAB), alterações neuropsiquiátricas (NPI), funcionalidade (Pfeffer) e níveis de marcadores para DA ($A\beta 42$, t-Tau e p-Tau181) para todos os indivíduos foram realizadas pelo teste de Spearman, considerando um nível de significância de 5%. A mesma análise foi feita para os níveis de marcadores inflamatórios e para os níveis de marcadores para DA ($A\beta 42$, t-Tau e p-Tau181) entre o método LUMINEX e o ELISA.

A influência de variáveis sobre os marcadores liquóricos ($A\beta 42$, p-Tau181 e t-Tau) foi analisada a partir de modelos lineares generalizados (GLM). No Modelo 1, o nível de $A\beta 42$ funcionou como a variável dependente; e diagnósticos clínicos (grupos), idade, sexo, níveis de IL-1ra e IL-15 como variáveis explicativas. No Modelo 2, o nível de p-Tau181 atuou como variável dependente; e diagnósticos clínicos (grupos), idade, sexo, níveis de GM-CSF, IL-1ra, IL-15, TNF- α e IL-6 como variáveis explicativas.

Todas as análises foram feitas no *software* IBM-SPSS versão 24.0. O valor $p < 0,05$ no pós-teste de Bonferroni foi ajustado e considerado estatisticamente significativo.

A seguir, os resultados são apresentados.

5. RESULTADOS

5.1 Caracterização da amostra

Foram avaliados 20 indivíduos com TDM, 20 com DDA e 20 para o grupo controle. As características demográficas (sexo, idade e escolaridade) e clínicas de cada um desses grupos são mostradas na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1 – Dados demográficos e caracterização clínica dos grupos TDM, DDA e controle

	TDM (n = 20) a	DDA (n = 20) b	Controle (n = 20) c	Valor de p
Características sociodemográficas				
Idade em anos – média (dp)	70,8 (6,48)	77,45 (5,60)	70,35 (7,09)	0,001* a = c < b
Escolaridade anos – mediana	4	4	4	0,745 †
(P25 - P75)	3,5 - 8	3,5 - 10,5	4 - 11	
Sexo Feminino – frequência	95%	50%	70%	0,007 †† a > b; c = a; c = b
Características clínicas				
HAS – frequência	80,0%	85,0%	70,0%	0,630 †††
DM2 – frequência	35,0%	40,0%	45,0%	0,812 ††
Dislipidemia – frequência	70,0%	55,0%	50,0%	0,410 ††
IMC – média (dp)	29,28 (5,51)	26,19 (3,29)	28,25 (5,11)	0,130*
História de AVE – frequência	5,0%	5,0%	5,0%	1,000 †††
História de IAM – frequência	10,0%	10,0%	0,0%	0,532 †††
Hipotireoidismo – frequência	45%	5%	25%	0,014 †† a > b; c = a; c = b
Osteoartrose – frequência	45,0%	25,0%	60,0%	0,081 ††
HP tabagismo – frequência	50,0%	30,0%	55,0%	0,305 ††
Carga tabágica – mediana	1	0	1,15	0,563 †
(P25 - P75)	0 - 9,25	0 - 10	0 - 6,25	
EDM prévio – frequência	55%	45%	0%	<0,001 †† a = b > c
Uso de antidepressivo – frequência	85%	50%	0%	<0,001 †† a = b > c
HAMD – média (dp)	21,3 (5,28)	-	-	-

TDM = transtorno depressivo maior; n = número; DDA = demência na doença de Alzheimer provável; IMC = índice de massa corporal; HAS = hipertensão arterial sistêmica; DM2 = diabetes mellitus tipo 2; AVE = acidente vascular encefálico; IAM = infarto agudo do miocárdio; HP =

história pessoal; EDM = episódio depressivo maior; *ANOVA unidirecional; † Kruskal-Wallis; † † χ^2 Pearson, † † † teste exato de Fisher

Fonte: Elaborada para fins deste trabalho.

Como mostrado na Tabela 1, os indivíduos do grupo DDA têm média de idade superior ao grupo TDM ($p = 0,005$) e ao controle ($p = 0,003$). Em contrapartida, os grupos TDM e controle não são diferentes quanto à média de idade ($p = 1,000$).

Com relação à escolaridade, não há diferença entre os grupos e os três têm mediana igual a quatro. No que concerne à variável sexo, 19 dos 20 sujeitos do grupo TDM são mulheres, frequência mais elevada do que no grupo DDA. Não há diferença na frequência de mulheres entre o grupo controle e o grupo TDM ($p = 0,091$) e entre o grupo controle e o grupo DDA ($p = 0,197$).

Nove dos 20 indivíduos do grupo TDM apresentam hipotireoidismo; e a frequência é maior que a observada em participantes do grupo DDA ($p = 0,008$). Quando comparados aos controles, não há diferença na frequência de hipotireoidismo no grupo TDM ($p = 0,185$) nem no grupo DDA ($p = 0,077$).

Em relação à frequência de EDM prévio, os grupos TDM e DDA ($p = 0,752$) não são diferentes. Quando esses grupos são comparados ao controle, a frequência de EDM prévio é maior nos grupos TDM ($p < 0,001$) e DDA ($p = 0,001$), uma vez que no grupo controle não há indivíduos com histórico de EDM prévio.

Os grupos TDM e DDA não apresentam diferenças no que envolve a frequência de uso de antidepressivos ($p = 0,041$). Quando são comparados ao grupo controle, a frequência de uso de antidepressivos é maior nos grupos TDM ($p < 0,001$) e DDA ($p < 0,001$), já que, entre os controles, não há participantes em uso ou com histórico de uso de antidepressivos.

Não há diferença entre os três grupos quanto às frequências de HAS, DM2, dislipidemia, IMC, história de AVE, história de IAM, osteoartrose, história pessoal de tabagismo e carga tabágica.

A HAMD foi aplicada nos participantes do grupo TDM; e a média da pontuação foi de 21,3 pontos ($dp = 5,28$).

5.2 Comparação entre os grupos TDM, DDA e controle com relação à avaliação cognitiva, aos sintomas neuropsiquiátricos e à funcionalidade

Os grupos TDM, DDA e controle foram comparados com relação a atenção, a função executiva, a memória e ao domínio perceptomotor, respectivamente, através da Mattis – subescala de Atenção; Mattis – subescala de Iniciativa e Perseveração (IP), subescala de Conceituação (Conc.) e FAB; Mattis – subescala de Memória; e Mattis subescala de Construção, conforme demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2 – Pontuação em escalas e testes dos grupos TDM, DDA e controle

Instrumento	TDM (n=20) a	DDA (n=20) b	Controle (n=20) c	Valor de p
CIRSG mediana (P25-P75)	8 (6,5-11,5)	7 (5,5-8,5)	6 (4-8)	0,028 † a>c; b=a; b=c
MEEM mediana (P25-P75)	24,5 (21,5-28)	21 (18-24,5)	28 (25-29)	< 0,001 † b<c; a=b; a=c
Mattis Total média (dp)	120,15 (13,14)	111,05 (15,21)	126,95 (9,77)	0,001 †† b<c; a=b; a=c
Mattis Atenção mediana (P25-P75)	35 (34-35,5)	35 (34-35)	35 (35-36)	0,276†
Mattis IP mediana (P25-P75)	32,5 (27,5-35)	28 (24-33,5)	35 (31-37)	0,002 † b<c; a=b; a=c
Mattis Construção mediana (P25-P75)	6 (6 - 6)	6 (6-6)	6 (6-6)	0,740†
Mattis Conc. média (dp)	28,45 (3,94)	28,6 (6,75)	30,95 (4,63)	0,249††
Mattis Memória mediana (P25-P75)	20,5 (19-24)	15 (12-18)	23 (19-24)	< 0,001 † a=c>b
FAB média (dp)	10,68 (3,35)	9,05 (3,30)	13 (3,47)	0,002 †† b<c; a=b; a=c
NPI mediana (P25-P75)	33,5 (16-43,5)	15 (6-25)	0 (0-3)	< 0,001 † a=b>c
Pfeffer mediana (P25-P75)	0 (0-2)	10,5 (6-16,5)	0 (0-0)	< 0,001 † a=c<b

TDM = transtorno depressivo maior; DDA = demência na doença de Alzheimer provável; n = número; P25 - P75 = intervalo interquartil 25% - 75%; CIRSG = Cumulative Illness Rating Scale for Geriatrics; MEEM = Miniexame do Estado Mental; IP = iniciativa e perseveração; Conc. = conceituação; FAB = Frontal Assessment Battery; NPI = Neuropsychiatric Inventory; † Kruskal-Wallis; †† Anova unidirecional.

Fonte: Elaborada para fins deste trabalho.

O grupo TDM apresenta pontuações maiores do que o grupo controle na CIRSG ($p = 0,023$). Mas não existe diferença entre o grupo DDA e os grupos TDM ($p = 0,389$) e controle ($p = 0,756$) quanto a essa pontuação.

Com relação à memória, avaliada através da subescala de Memória da Mattis, o grupo TDM apresenta pontuação maior que do grupo DDA ($p < 0,001$). O mesmo acontece para o

grupo controle com relação do grupo DDA ($p < 0,001$). Já entre o grupo controle e o grupo TDM, não foi observada diferença.

No que se refere a cognição global, considerando as pontuações totais no MEEM e na Mattis, o grupo TDM não se difere dos grupos DDA e controle. O grupo DDA apresenta pontuações menores do que as grupo controle no MEEM e na Mattis ($p < 0,001$ e $p = 0,001$), mas não há diferença entre os grupos na atenção, cuja avaliação se deu através da subescala de Atenção da Mattis. A função executiva foi avaliada através da subescala de Conceituação da Mattis, da subescala de Iniciativa e Perseveração da Mattis e da FAB. Os grupos não diferem na subescala de conceituação da Mattis. Na subescala de Iniciativa e Perseveração da Mattis, o grupo TDM não se mostra diferente dos grupos DDA e controle; e o grupo DDA apresenta pontuação menor do que o grupo controle ($p = 0,001$). O mesmo padrão se mantém na FAB, o grupo TDM não se difere dos grupos DDA e controle; e o grupo DDA tem pontuação menor do que o grupo controle ($p = 0,001$). O domínio perceptomotor foi avaliado através da subescala de Construção da Mattis, todavia diferenças entre os grupos não foram identificadas.

Sintomas neuropsiquiátricos foram avaliados através do NPI. Os grupos TDM e DDA não diferiram na pontuação do NPI. No entanto, quando esses grupos são comparados ao grupo controle, os grupos TDM ($p < 0,001$) e DDA ($p = 0,001$) obtém maior pontuação no NPI.

Com relação à funcionalidade, o grupo DDA conta com maiores pontuações do que os grupos TDM ($p < 0,001$) e controle ($p < 0,001$) na Pfeffer. Ao passo que os grupos TDM e controle não diferem quanto a essa pontuação ($p = 0,173$).

5.3 Correlações entre dados sociodemográficos, pontuações em escalas e testes, níveis de marcadores inflamatórios A β 42, Tau total e p-Tau181

As correlações entre idade, escolaridade, IMC, carga tabágica, comprometimento físico (CIRSG), desempenho cognitivo (MEEM, Mattis e FAB), alterações neuropsiquiátricas (NPI), funcionalidade (Pfeffer) e níveis de marcadores para DA (A β 42, Tau total e p-Tau181) foram investigadas no conjunto de toda a população estudada. Os dados referentes a essa investigação estão detalhados na Tabela 3 a seguir.

Tabela 3 – Correlação de Spearman para dados sociodemográficos, pontuações em escalas e testes e níveis de A β 42, t-Tau e p-Tau181

	A β 42	t-Tau	p-Tau181	p-Tau181/A β 42
Idade	-,269*	0,074	,337**	,346**
Escolaridade	0,203	0,118	0,025	-0,134

IMC	0,191	-0,208	-,276*	-,293*
Carga tabágica	-0,118	-0,030	0,004	0,045
CIRSG	-0,201	-0,122	-0,042	0,091
MEEM	,367**	-0,056	-,276*	-,352**
NPI	-0,045	-0,237	-0,082	0,000
Pfeffer	-,423**	0,024	,418**	,452**
Mattis (AT)	0,084	-0,019	-0,058	-0,146
Mattis (IP)	0,219	0,047	-0,152	-0,188
Mattis (CONS)	0,102	0,000	-0,068	-0,153
Mattis (CONC)	,346**	0,068	-0,207	-,335**
Mattis (MEM)	,336**	-0,203	-,442**	-,443**
Mattis (Total)	,336**	-0,012	-,286*	-,356**
FAB (Total)	,468**	0,033	-,261*	-,403**

IMC = índice de massa corporal; CIRSG = Cumulative Illness Rating Scale for Geriatrics; MEEM = Miniexame do Estado Mental; FAB = Frontal Assessment Battery; NPI = Neuropsychiatric Inventory, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Fonte: Elaborada para fins deste trabalho.

Os níveis de A β 42 apresentam correlação negativa de fraca intensidade com idade ($p < 0,05$; $rho = -0,269$) e de intensidade moderada com funcionalidade (Pfeffer; $p < 0,01$; $rho = -0,423$). No que compreende as correlações positivas, os níveis de A β 42 apresentam fraca intensidade com MEEM total ($p < 0,01$; $rho = 0,367$); com Mattis total ($p < 0,01$; $rho = 0,336$); com Mattis – subescala de Memória (Mattis (MEM) $p < 0,01$; $rho = 0,336$); com Mattis – subescala de Conceituação (Mattis (CONC) $p < 0,01$; $rho = 0,346$) e intensidade moderada com FAB total ($p < 0,01$; $rho = 0,468$).

Os níveis de p-Tau181, por sua vez, apresentam correlação positiva e de fraca intensidade com idade ($p < 0,01$; $rho = 0,337$) e de intensidade moderada com funcionalidade (Pfeffer; $p < 0,01$; $rho = 0,418$). Já as correlações negativas dos níveis de p-Tau181 são de fraca intensidade com IMC ($p < 0,05$; $rho = -0,276$), com MEEM ($p < 0,05$; $rho = -0,276$), com Mattis total ($p < 0,05$; $rho = -0,286$) e com FAB ($p < 0,05$; $rho = -0,261$); e de intensidade moderada com Mattis – subescala de Memória (Mattis (MEM) $p < 0,01$; $rho = -0,442$).

Por fim, a razão p-Tau181/A β 42 tem correlação positiva de fraca intensidade com idade ($p < 0,01$; $rho = 0,346$) e de moderada intensidade com a Pfeffer ($p < 0,01$; $rho = 0,452$). A razão p-Tau181/A β 42 tem correlação negativa e de fraca intensidade com IMC ($p < 0,05$; $rho = -0,293$), com MEEM ($p < 0,01$; $rho = -0,352$), com Mattis total ($p < 0,01$; $rho = -0,356$) e com Mattis – subescala de Conceituação (Mattis (CONC) $p < 0,01$; $rho = -0,335$) e de intensidade moderada com FAB ($p < 0,01$; $rho = -0,403$) e com Mattis – subescala de Memória (Mattis (MEM) $p < 0,01$; $rho = -0,443$).

Correlações significativas entre Tau total e as variáveis sociodemográficas e clínicas não foram identificadas, o que também não ocorre entre Tau total com as pontuações nas escalas.

As correlações entre os níveis líquidos de marcadores inflamatórios e os níveis líquidos de A β 42, p-Tau181 e Tau total também foram investigadas no presente estudo. Os resultados dessas correlações estão detalhados na Tabela 4.

Tabela 4 – Correlações de Spearman entre marcadores inflamatórios, A β 42, t-Tau, p-Tau181 e p-Tau181/A β 42

	A β 42	t-Tau	p-Tau181	p-Tau181/A β 42
CCL-11	-0,141	0,009	0,156	0,066
FGF	0,202	-0,057	-0,057	-0,212
G-CSF	-0,113	0,093	0,185	0,127
GM-CSF	-0,075	0,005	,255*	0,114
IFN- γ	0,014	0,072	-0,127	-0,137
IL-1 β	0,036	0,037	0,127	0,042
IL-1ra	,310*	-0,137	-0,097	-0,344*
IL-2	0,018	0,076	0,135	0,016
IL-4	0,157	-0,014	0,039	-0,094
IL-5	0,042	0,134	-0,047	-0,128
IL-6	-0,177	-0,107	0,082	0,113
IL-8	-0,004	0,024	-0,043	-0,134
IL-9	-0,014	-0,028	0,082	0,077
IL-10	-0,079	-0,108	0,201	0,096
IL-12	0,204	0,075	0,093	-0,105
IL-13	0,081	0,08	0,126	-0,022
IL-15	-0,156	0,224	0,230	,277*
IL-17	-0,024	-0,031	-0,082	-0,060
CXCL-10	-0,003	-0,137	-0,025	-0,084
CCL-2	-0,180	0,069	-0,043	0,086
CCL-3	-0,131	-0,004	0,094	0,074
CCL-4	-0,120	0,182	0,065	0,089
PDGF-bb	0,178	0,126	0,022	-0,114
CCL-5	0,016	-0,226	-0,157	-0,088
TNF- α	0,027	-0,010	-0,190	-0,159
VEGF	-0,137	-0,116	0,071	0,097

p < 0,05; CCL = C-C motif chemokine ligand; FGF = fibroblast growth factor; G-CSF = granulocyte colony stimulating factor; GM-CSF = granulocyte-macrophage colony stimulating factor; IFN-

γ = *interferon gamma*; IL = *interleukin*; ra = *receptor antagonist*; CXCL = *C-X-C motif ligand*; PDGF-bb = *platelet-derived growth factor bb*; TNF- α = *tumor necrosis factor α* ; VEGF = *vascular endothelial growth factor*.

Fonte: Elaborada para fins deste trabalho.

Os níveis de A β 42 estão correlacionados positivamente e com fraca intensidade com os níveis de IL-1ra ($p < 0,05$; $rho = 0,310$). O mesmo acontece para os níveis de p-Tau181 com os níveis de GM-CSF ($p < 0,05$; $rho = 0,255$) e para a razão p-Tau181/A β 42 com os níveis de IL-15 ($p < 0,05$; $rho = 0,277$). Já para os níveis de IL-1ra ($p < 0,05$; $rho = -0,344$), a razão p-Tau181/A β 42 está correlacionada negativamente e tem fraca intensidade.

Outras correlações significativas entre os níveis liquóricos de A β 42, p-Tau181, t-Tau e p-Tau181/A β 42 e os níveis liquóricos dos marcadores inflamatórios não foram observadas.

Análises de correlação entre a pontuação na HAMD e as pontuações da Mattis (total e subescalas) e da FAB, cujos valores não estão apresentados nas tabelas, foram realizadas. A HAMD mostra correlação negativa e de intensidade moderada com Mattis total ($rh = -0,490$; $p = 0,033$), com FAB ($rho = -0,547$; $p = 0,015$), com Mattis – subescala de Atenção ($rho = -0,560$; $p = 0,013$) e com Mattis – subescala de Iniciativa e Perseveração ($rho = -0,549$; $p = 0,015$). Não houve correlações significativas entre a HAMD e a Mattis – subescala de Construção ($p = 0,134$), a Mattis – subescala de Conceituação ($p = 0,207$) e a Mattis – subescala de Memória ($p = 0,348$).

A HAMD não apontou correlação com os marcadores A β 42 ($p = 0,462$), t-Tau ($p = 0,636$), p-Tau181 ($p = 0,900$) ou com os marcadores inflamatórios [IL-1 β ($p = 0,331$), IL-1ra ($p = 0,219$), IL-2 ($p = 0,881$), IL-4 ($p = 0,454$), IL-5 ($p = 0,965$), IL-6 ($p = 0,628$), IL-8 ($p = 0,215$), IL-9 ($p = 0,227$), IL-10 ($p = 0,594$), IL-12 (p70) ($p = 0,236$), IL-13 ($p = 0,594$), IL-15 ($p = 0,585$), IL-17 ($p = 0,863$), FGF ($p = 0,543$), CCL11 ($p = 0,839$), G-CSF ($p = 0,966$), GM-CSF ($p = 0,376$), IFN- γ ($p = 0,297$), CXCL10 ($p = 0,135$), CCL2 ($p = 0,531$), CCL3 ($p = 0,805$), CCL4 ($p = 0,879$), PDGF-bb ($p = 0,986$), CCL5 ($p = 0,789$), TNF- α ($p = 0,854$) e VEGF ($p = 0,294$), cujos valores não estão descritos nas tabelas.

5.4 Classificação da amostra segundo níveis liquóricos de proteína A β 42

Os sujeitos do presente estudo foram classificados como A β ⁺ ou A β ⁻, conforme exposto na Tabela 5. Entre os indivíduos do grupo TDM, 65% são A β ⁻; e 35%, A β ⁺. Entre os

indivíduos do grupo DDA, 80% são A β +; e 20%, A β -. Entre os indivíduos do grupo controle, 75% são A β -; e 25%, A β -.

Tabela 5 – Classificação dos participantes como A β + ou A β -

	TDM	DDA	controle
A β \geq 1012 pg/mL (A β -)	13 (65%)	4 (20%)	15 (75%)
A β < 1012 pg/mL (A β +))	7 (35%)	16 (80%)	5 (25%)
Total por grupo	20	20	20

TDM = transtorno depressivo maior; DDA = demência na doença de Alzheimer provável.

Fonte: Elaborada para fins deste trabalho.

5.4.1 Comparação entre os níveis de t-Tau e p-Tau181 dos grupos TDM A β -, DDA A β + e Controle A β -

As análises desta seção mostram comparações entre os 13 indivíduos do grupo TDM A β -, os 15 do grupo controle A β - e os 16 do grupo DDA A β + quanto aos níveis de t-Tau e p-Tau181, conforme projetado na Tabela 6 a seguir.

Tabela 6 – Comparação entre os níveis de t-Tau e p-Tau181 dos grupos TDM A β -, DDA A β + e Controle A β -

Biomarcadores (pg/mL)	TDM A β - n = 13 a	DDA A β + n = 16 b	controle A β - n = 15 c	Valor de p \dagger
t-Tau	2647 (2115 - 3986)	5689 (2990 - 6387)	4966 (3913 - 7324)	0,023 a < b; c=a; c=b
p-Tau181	63,5 (43,2 - 83,1)	143,3 (118,4 - 181,7)	79,2 (46,6 - 96)	< 0,001 a=c < b

TDM = transtorno depressivo maior; DDA = demência na doença de Alzheimer provável; valores apresentados como mediana (p25 - p75); \dagger Kruskal Wallis.

Fonte: Elaborada para fins deste trabalho.

Os dados da Tabela 6 mostram diferença nos níveis de t-Tau entre os grupos (p = 0,023), sendo que o grupo TDM apresenta mediana menor que o grupo DDA (p = 0,44); e a mediana do grupo controle não é diferente da mediana dos grupos TDM (p = 0,53) e DDA (p = 1,00).

Os níveis de p-Tau181 são diferentes entre os grupos (p < 0,001), sendo que os grupos TDM e controle contam com medianas menores do que aquelas do grupo DDA (p < 0,001 e

p = 0,001, respectivamente). Não há diferença estatisticamente significativa entre os grupos TDM e controle (p = 1,00).

5.4.2 Comparação entre os níveis de marcadores inflamatórios dos grupos TDM A β -, DDA A β + e controle A β -

Os 13 indivíduos do grupo TDM A β -, os 15 do grupo Controles A β - e os 16 do grupo DDA A β + foram comparados quanto aos níveis de IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, FGF, CCL-11, GM-CSF, G-CSF, IFN- γ , CXCL-10, CCL-2, CCL3, CCL4, PDGF-BB, CCL5, TNF- α e VEGF. Os resultados dessa comparação estão detalhados na Tabela 7.

Tabela 7 – Comparação entre os níveis de marcadores inflamatórios dos grupos TDM A β -, DDA A β + e controle A β -

Marcadores inflamatórios (pg/mL)	TDM A β - n = 13	DDA A β + n = 16	controle A β - n = 15	Valor de p†
CCL11	0,10 (0,08 - 0,17)	0,24 (0,21 - 0,28)	0,18 (0,12 - 0,21)	0,004 ^{a<b ; c=a ; c=b}
FGF	0,48 (0,42 - 0,53)	0,48 (0,42 - 0,63)	0,63 (0,53 - 0,63)	0,013 ^{a<c ; b=a ; b=c}
G-CSF	5,98 (4,56 - 6,71)	6,83 (5,82 - 8,33)	5,81 (5,30 - 7,84)	0,205
GM-CSF	0,08 (0,07 - 0,08)	0,08 (0,07 - 0,10)	0,08 (0,07 - 0,08)	0,387
IFN- γ	1,89 (1,27 - 2,11)	1,70 (1,33 - 2,16)	1,79 (1,49 - 1,99)	0,930
IL-1 β	0,02 (0,02 - 0,02)	0,02 (0,02 - 0,030)	0,02 (0,02-0,030)	0,522
IL-1ra	6,7 (4,6 - 9)	8,5 (6,5 - 9,3)	10,5 (8,5 - 12,1)	0,032 ^{a<c ; b=a ; b=c}
IL-2	0,11 (0,08 - 0,13)	0,13 (0,11 - 0,16)	0,13 (0,11 - 0,13)	0,084
IL-4	0,04 (0,03 - 0,04)	0,04 (0,03 - 0,04)	0,04 (0,04 - 0,04)	0,087
IL-5	1,45 (1,17 - 1,65)	1,59 (1,24 - 1,72)	1,45 (1,31 - 1,72)	0,660
IL-6	0,08 (0,06 - 0,10)	0,10 (0,75 - 0,12)	0,08 (0,06 - 0,09)	0,200
IL-8	3,6 (3,2 - 4,9)	5,2 (4,3 - 6,8)	6,7 (5,5 - 8,3)	0,003 ^{a<c ; b=a ; b=c}
IL-9	0,57 (0,48 - 0,94)	0,69 (0,43 - 0,93)	0,57 (0,45 - 0,69)	0,673

IL-10	0,29 (0,24 - 0,35)	0,32 (0,27 - 0,39)	0,29 (0,24 - 0,35)	0,367
IL-12 (p70)	0,15 (0,15 - 0,15)	0,15 (0,15 - 0,17)	0,15 (0,15 - 0,17)	0,725
IL-13	0,19 (0,18 - 0,20)	0,21 (0,19 - 0,25)	0,21 (0,19 - 0,23)	0,013^{a<c} ; b=a ; b=c
IL-15	9,34 (7,32 - 11,85)	11,07 (9,34 - 12,63)	9,34 (4,75 - 11,07)	0,151
IL-17	0,14 (0,12 - 0,17)	0,17 (0,11 - 0,20)	0,14 (0,14 - 0,17)	0,619
CXCL-10	146,59 (94,43 - 181,72)	168,54 (118,90 - 255,72)	213,18 (107,40 - 262,47)	0,399
CCL2	56,81 (46,34 - 70,54)	61,54 (48,73 - 71,88)	61,44 (50,84 - 64,03)	0,820
CCL3	0,61 (0,45 - 0,69)	0,66 (0,58 - 0,97)	0,64 (0,56 - 0,82)	0,297
CCL4	1,22 (0,86 - 1,79)	1,38 (1,08 - 1,94)	1,84 (1,14 - 1,93)	0,407
PDGF-bb	2,44 (2,44 - 2,62)	2,44 (2,44 - 2,62)	2,62 (2,44 - 2,62)	0,440
CCL5	0,90 (0,44 - 7,02)	0,73 (0,41 - 1,56)	0,61 (0,50 - 1,12)	0,602
TNF- α	1,03 (0,99 - 1,13)	1,2 (0,97 - 1,38)	1,24 (1,1 - 1,38)	0,032^{a<c} ; b=a ; b=c
VEGF	5,99 (5,73 - 6,34)	6,34 (5,68 - 6,68)	5,99 (5,64 - 6,17)	0,269

TDM = transtorno depressivo maior; DDA = demência na doença de Alzheimer provável; CCL = C-C motif chemokine ligand; FGF = fibroblast growth factor; G-CSF = granulocyte colony stimulating factor; GM-CSF = granulocyte-macrophage colony stimulating factor; IFN- γ = interferon gamma; IL = interleukin; ra = receptor antagonist; CXCL = C-X-C motif ligand; PDGF-bb = platelet-derived growth factor bb; TNF- α = tumor necrosis factor α ; VEGF = vascular endothelial growth factor; valores apresentados como mediana (p25 - p75); † Kruskal Wallis.

Fonte: Elaborada para fins deste trabalho.

O nível de CCL11 do grupo TDM A β - é menor quando comparado ao grupo DDA A β + (p = 0,003). Quando comparados ao nível de CCL11 do grupo controle, os níveis do grupo TDM A β - (p = 0,406) e do grupo DDA A β + (p = 0,199) não são diferentes.

Em comparação ao grupo controle, o grupo TDM apresenta níveis menores de FGF (p = 0,024), IL-1ra (p = 0,030), IL-8 (p = 0,002), IL-13 (p = 0,014) e TNF- α (p = 0,026). Diferenças entre os níveis de FGF, IL-1ra, IL-8, IL-13 e TNF- α no grupo DDA A β + em comparação com o grupo TDM A β - e com o grupo controle A β - não são identificadas.

Os grupos não se diferem quanto aos níveis de IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12 (p70), IL-15, IL-17, GM-CSF, G-CSF, IFN- γ , CXCL-10, CCL-2, CCL3, CCL4, PDGF-BB, CCL5 e VEGF.

5.5 Modelos Multivariados

Neste trabalho, os modelos lineares generalizados (GLM) foram utilizados para analisar a influência de marcadores inflamatórios sobre os marcadores liquóricos (A β 42 e p-Tau181). As próximas subseções trazem os dados gerados a partir dos modelos multivariados, os quais estão dispostos como Modelo 1 para A β 42 e Modelo 2 para p-Tau181.

5.5.1 Modelo 1

O Modelo 1 avaliou a influência de IL-1ra e IL-15 sobre o nível de A β 42, controlando para idade, sexo e diagnóstico clínico. As interleucinas testadas foram aquelas que se correlacionaram com os níveis de A β 42 e/ou com a razão A β 42/p-Tau181 nas análises anteriores.

O IL-1ra apresenta associação com os níveis de A β 42 ($p < 0,001$). Além disso, a classificação no grupo DDA pode ser determinante para valores menores de A β 42 quando comparada ao grupo controle ($p = 0,008$), conforme mostram os valores expressos na Tabela 8.

Tabela 8 – Modelo explicativo para os valores de A β 42

	Coeficiente	Qui-quadrado de Wald	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
				Limite inferior	Limite superior
Intercepto	1017,73	4,88	0,000	599,18	1436,28
TDM	-105,59	-0,49	0,62	-534,38	323,21
DDA	-570,58	-2,75	0,008	-986,42	-154,74
Controle	0
IL1ra	53,54	4,14	< 0,001	27,59	79,50

Variável dependente = A β 42; Variáveis independentes = idade, sexo, grupos (TDM, DDA e controle), IL-1ra e IL-15.

Fonte: Elaborada para fins deste trabalho.

5.5.2 Modelo 2

O Modelo 2 observou a influência de GM-CSF, IL-1ra, IL-15, TNF- α e IL-6 sobre o nível de p-Tau181, controlando para idade, sexo e diagnóstico clínico. GM-CSF, IL-1ra e IL-15 foram selecionados dentre os demais marcadores por terem se correlacionado com os níveis de p-Tau181 e/ou com a razão A β 42/p-Tau181 nas análises anteriores. O aumento dos níveis líquidos de TNF- α e IL-6 são consistentemente associados ao TDM na literatura (cf. ENACHE, PARIANTE e MONDELLI, 2019). A associação desses marcadores inflamatórios com p-Tau181 permanece pouco explorada.

O TNF- α é o único marcador inflamatório dentre os analisados que apresentou associação com os níveis de p-Tau181 ($p = 0,04$). A classificação no grupo DDA foi determinante para valores maiores de p-Tau181 quando comparada ao grupo controle ($p = 0,003$). A Tabela 9, adiante, detalha os valores encontrados.

Tabela 9 – Modelo explicativo para os valores de p-Tau181

	Coeficiente	Qui-quadrado de Wald	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
				Limite inferior	Limite superior
Intercepto	160,30	4,48	0,000	88,58	232,01
TDM	-21,77	-1,31	0,20	-55,18	11,64
DDA	52,31	3,16	0,003	19,12	85,49
Controle	0,00
TNF α	-58,85	-2,12	0,04	-114,38	-3,33

*Variável dependente = p-Tau181; Variáveis independentes = idade, sexo, grupos (1,2,3), GM-CSF, IL-1ra, IL-15, TNF- α e IL-6

Fonte: Elaborada para fins deste trabalho.

A seguir, os resultados apresentados neste capítulo serão discutidos.

6. DISCUSSÃO

Este trabalho envolveu indivíduos idosos com diagnóstico de TDM e queixas cognitivas; indivíduos idosos com diagnóstico de DDA provável de início tardio e em estágio inicial; e indivíduos idosos com rastreamento cognitivo normal, sem sintomas depressivos ou história de EDM prévio e sem queixas cognitivas, esses últimos alocados para o grupo controle.

Em relação aos dados sociodemográficos, a média de idade dos participantes dos grupos TDM e controle foi mais baixa que a média de idade dos participantes do grupo DDA. A frequência de indivíduos do sexo feminino foi maior no grupo TDM em comparação ao grupo DDA e diferenças no quesito escolaridade não foram observadas entre os grupos. No que diz respeito à avaliação cognitiva, quando comparado ao grupo DDA, o grupo TDM apresentou maior pontuação na subescala de Memória da Mattis. Dentre as análises de marcadores inflamatórios, o subgrupo TDM $A\beta^-$ apresentou níveis de CCL11 menores do que os identificados para o subgrupo DDA $A\beta^+$. Nas análises multivariadas, o nível líquórico de IL-1ra está associado positivamente com o nível de $A\beta_{42}$ e o nível de TNF- α apresentou associação negativa com o nível de p-Tau181.

As mulheres representaram 95% dos sujeitos do grupo TDM, 50% do grupo DDA e 70% do grupo controle. No que diz respeito à depressão em mulheres e homens idosos, a pesquisa de Abdoli, Salari, *et al.* (2022) aponta que a prevalência estimada é de 11,9% para mulheres e de 9,7% para homens. Já em relação à DDA em mulheres e homens idosos, o estudo de Matthews, Xu, *et al.* (2019) identifica a prevalência de 13,3% para mulheres e de 9,2% para homens. Por se tratar de uma amostra ambulatorial, a maior frequência de mulheres no grupo TDM pode estar relacionada à dificuldade que homens deprimidos costumam ter para buscar atendimento de saúde (SEIDLER, DAWES, *et al.*, 2016).

Os indivíduos do grupo DDA têm média de idade superior aos indivíduos dos grupos TDM e controle. O trabalho de Rabinovici (2019) atesta que, aproximadamente, 80% das pessoas com DDA têm mais de 75 anos. Além disso, dados das análises dos estudos de Hou, Dan, *et al.* (2019) e de Lopez e Kuller (2019) indicam que o risco de ter DDA aumenta com a idade. O aumento da incidência da doença em função da idade e a maior prevalência em idades mais avançadas pode explicar a maior média de idade entre os idosos do grupo DDA em comparação com a média de idade dos idosos do grupo TDM nessa amostra da população.

O grupo TDM apresentou maior frequência de diagnóstico de hipotireoidismo. A reposição de levotiroxina em pacientes com hipotireoidismo subclínico e a melhora de sintomas depressivos é uma questão controversa (LOH, LIM, *et al.*, 2019). No entanto, a prescrição de

levotiroxina aumentou significativamente nos últimos anos, sobretudo para pacientes com hipotireoidismo subclínico (CALISSENDORFF e FALHAMMAR, 2020). Por isso, é possível que os sintomas depressivos nos participantes do grupo TDM tenham influenciado na prescrição de levotiroxina e no diagnóstico de hipotireoidismo, mesmo naqueles que apresentavam hipotireoidismo subclínico. Cabe observar que níveis de TSH dentro dos limites de normalidade era critério para inclusão dos indivíduos dos grupos TDM e DDA e foram checados em prontuário.

Não houve diferença entre o grupo TDM e o grupo DDA com relação ao uso de antidepressivos. Embora controverso, o uso de antidepressivos é utilizado com frequência na DDA para manejo de alterações comportamentais e de sintomas neuropsiquiátricos (cf. MAGIERSKI, SOBOW, *et al.*, 2020). Além disso, o estudo de Gourdon, Petit, *et al.* (2021) demonstrou que o uso excessivo de antidepressivos é frequente em pacientes com demência, sendo que a principal razão para isso é o tempo prolongado de uso após um tratamento em que há indicação da medicação. Os grupos TDM e DDA não diferiram na frequência de EDM prévio. Em razão disso, pode-se supor que os participantes do grupo DDA tenham recebido prescrição de antidepressivo durante um EDM e, depois, a retirada desses medicamentos não tenha sido realizada.

Com relação à avaliação cognitiva, o grupo TDM apresentou maior pontuação na subescala de memória da Mattis em comparação com o grupo DDA e não diferiu do grupo controle. Embora queixas de memória sejam frequentes em pacientes com TDM, existe maior discrepância entre as queixas reportadas por eles e as avaliações objetivas de memória nesse grupo quando comparado aos indivíduos com comprometimento cognitivo leve secundário à DA (MENDES, CARDOSO, *et al.*, 2021). As queixas de memória em pacientes com TDM podem não ser preditoras de declínio objetivo nessa função cognitiva. As pontuações do grupo TDM em todos os demais testes cognitivos utilizados neste estudo, incluindo as outras subescalas da Mattis, não se diferenciaram das pontuações dos grupos DDA e controle. Os participantes do grupo TDM apresentaram média de pontuação na HAMD igual a 21,3 pontos. Segundo o trabalho de Zimmerman, Martinez, *et al.* (2013), esse valor é compatível com um quadro depressivo moderado, que pode comprometer o engajamento do indivíduo na testagem cognitiva (ver 5.3). De fato, o estudo de Lanza, Sejunaite, *et al.* (2020) mostra que as avaliações cognitivas parecem ser insuficientes para distinguir transtornos depressivos e DDA, sendo necessárias avaliações adicionais de biomarcadores.

Não houve diferença na pontuação da NPI entre os grupos TDM e DDA, o que revela uma sobreposição de sintomas neuropsiquiátricos nos dois grupos. Em estudos que utilizaram

a NPI, os sintomas de depressão são os sintomas neuropsiquiátricos mais comumente relatados tanto entre pacientes com demência ou com comprometimento cognitivo leve (cf. YORO-ZOHOUN, NUBUKPO, *et al.*, 2019) quanto entre pacientes com diagnóstico de TDM (cf. FISCHER, KORTEBI, *et al.*, 2019).

Houve diferença na funcionalidade, considerando as pontuações da Pfeffer. Quando comparado ao grupo TDM, o grupo DDA apresentou maiores pontuações na Pfeffer, indicando pior funcionalidade. Além disso, o grupo DDA apresenta mediana acima do ponto de corte da escala e o grupo TDM apresenta mediana abaixo. O comprometimento da funcionalidade é um critério clínico para o diagnóstico de demência (cf. MCKHANN, KNOPMAN, *et al.*, 2011), assim como para o diagnóstico de TDM (cf. AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013). A Pfeffer mostrou-se um bom instrumento para avaliar indivíduos com escores cognitivos fronteira de forma a reduzir falso-positivos para declínio cognitivo (PFEFFER, KUROSAKI, *et al.*, 1982).

A correlação entre marcadores líquidos e desempenho cognitivo no espectro da doença de Alzheimer ainda é um tema controverso na literatura (cf. VEMURI, WISTE, *et al.*, 2009; SOLÉ-PADULLÉS, LLADÓ, *et al.*; JACK JR, VEMURI, *et al.*, 2012; IBARRA, RADANOVIC, *et al.*, 2021). No presente estudo, de modo geral, as alterações patológicas associadas à DA (A β 42 e p-Tau181) estão correlacionadas a um pior desempenho na testagem cognitiva. A β 42 apresentou correlação negativa de intensidade moderada com a pontuação na Pfeffer e correlação positiva de intensidade moderada com a pontuação na FAB. P-Tau181 apresentou correlação negativa de intensidade moderada com a subescala de Memória da Mattis e com a FAB. A razão p-Tau181/ A β 42 teve correlação positiva de intensidade moderada com a Pfeffer e correlação negativa de intensidade moderada com a subescala de Memória da Mattis e com a FAB. Por outro lado, é importante apontar que o nível de t-Tau – marcador inespecífico de neurodegeneração – não está correlacionado a um pior desempenho nos testes dos indivíduos que fizeram parte deste estudo.

Correlações positivas fracas entre A β 42 e IL-1ra; p-Tau181 e GM-CSF; e a razão p-Tau181/A β 42 e IL-15 foram observadas. IL-1ra está correlacionada positivamente com A β 42. Uma análise anterior do presente estudo mostrou que o nível de IL-1ra no grupo controle foi maior do que os níveis obtidos para os grupos TDM e DDA. Esses achados sugerem um efeito neuroprotetor de IL-1ra, corroborando o trabalho prévio de Rubio-Perez e Morilla-Ruiz (2012). A IL-1ra regula as ações de IL-1 β , impedindo que a IL-1 β se ligue ao receptor do tipo 1 de IL-1, assim a IL-1ra consegue proteger o indivíduo contra a neurotoxicidade de IL-1 β (RUBIO-PEREZ e MORILLA-RUIZ, 2012). A correlação de GM-CSF com os níveis de p-Tau181

concorda com estudos prévios que evidenciaram níveis aumentados de GM-CSF em pessoas com DA (cf. TARKOWSKI, WALLIN, *et al.*, 2001), como resposta imunomoduladora e protetora do sistema imune (cf. KIYOTA, MACHHI, *et al.*, 2018). IL-15 está aumentada tanto nas fases pré-clínica e prodrômica como demencial da doença de Alzheimer e está positivamente associada aos níveis de t-Tau e p-Tau181, com mais força nos pacientes A β positivos (cf. JANELIDZE, MATTSSON, *et al.*, 2018).

Em relação aos níveis liquóricos de A β 42, 35% dos participantes do grupo TDM e 25% do grupo controle apresentaram A β +. Quatro dos 20 (20%) participantes do grupo DDA não apresentaram A β +. Estudos anteriores mostraram frequência elevada de patologia amiloide em amostra clínica de idosos deprimidos (cf. LANZA, SEJUNAITE, *et al.*, 2020) e em idosos cognitivamente normais (SHAW, ARIAS, *et al.*, 2018). As alterações no marcador A β 42 são consideradas o evento inicial da cascata de alterações patológicas na DA (LLORET, ESTEVE, *et al.*, 2019). Essas alterações podem surgir quando os indivíduos ainda estão cognitivamente normais (LLORET, ESTEVE, *et al.*, 2019). A frequência de participantes A β + em grupos clínicos de TDM sugere que pessoas com TDM sejam indivíduos com alto risco de desenvolver DA ou que os transtornos depressivos, ou parte deles, sejam um pródromo da doença de Alzheimer, que se iniciaria décadas antes da apresentação do quadro clínico de demência, o que é corroborado por estudos populacionais (cf. MIRZA, WOLTERS, *et al.*, 2016; SINGH-MANOUX, DUGRAVOT, *et al.*, 2017).

Assim, considerando os valores de A β 42 no liquor como definidores do *continuum* da doença de Alzheimer (cf. JACK JR, BENNETT, *et al.*, 2018) e a apresentação clínica dos pacientes, foram determinados três novos grupos: TDM A β -, DDA A β + e controle A β -. O grupo DDA A β + apresentou valores de t-Tau e p-Tau181 maiores do que os do grupo TDM A β -, o que reflete um processo neurodegenerativo mais avançado no grupo DDA A β + (cf. HADJICHRYSANTHOU, EVANS, *et al.*, 2020). O modelo proposto para a dinâmica dos marcadores da doença de Alzheimer através do espectro clínico da doença demonstrou que as alterações liquóricas de t-Tau e p-Tau ocorrem mais tardiamente do que as alterações observadas em A β 42 (cf. HADJICHRYSANTHOU, EVANS, *et al.*, 2020). Diferenças entre os níveis de t-Tau no grupo controle A β -, quando comparado aos grupos DDA A β + e TDM A β -, não foram observadas.

Quanto aos níveis de marcadores inflamatórios, houve diferença entre os grupos TDM A β - e DDA A β + apenas em CCL11, sendo a mediana do grupo TDM A β - menor do que a mediana do grupo DDA A β +. Quando os grupos clínicos originais são comparados, observa-se também diferença entre os níveis de CCL 11 do grupo TDM e do grupo DDA – grupos que se

diferenciaram pela subescala de Memória da Mattis e pela Pfeffer, sendo a mediana do grupo TDM menor que a do grupo DDA (ver 8.3). CCL 11 é uma quimiocina produzida por eosinófilos, células B, fibroblastos, células endoteliais, macrófagos, condrócitos etc., incluindo células da micróglia (IVANOVSKA, ABDI, *et al.*, 2020). Além da produção pela micróglia, a CCL 11 pode ser transportada do sangue periférico para o sistema nervoso central pela barreira hematoencefálica (IVANOVSKA, ABDI, *et al.*, 2020). Classicamente, a CCL 11 está associada ao recrutamento seletivo de eosinófilos para locais de inflamação durante reações alérgicas, como em casos de asma, rinite alérgica etc. (IVANOVSKA, ABDI, *et al.*, 2020). Estudos mais recentes associaram a CCL11 ao declínio das funções hipocâmpais, que está relacionado ao envelhecimento (cf. VILLEDA, LUO, *et al.*, 2011; PARAJULI, HORIUCHI, *et al.*, 2015) e ao comprometimento cognitivo em função executiva e em memória episódica e semântica nos transtornos psiquiátricos (cf. IVANOVSKA, ABDI, *et al.*, 2020). Esses dados prévios corroboram a hipótese de que a CCL11 está associada a um envelhecimento acelerado em transtornos psiquiátricos maiores, como transtorno afetivo bipolar e esquizofrenia (cf. TEIXEIRA, GAMA, *et al.*, 2018). Além disso, a CCL11 foi capaz de distinguir indivíduos com DDA de indivíduos do grupo controle e de indivíduos com comprometimento cognitivo leve (cf. MORGAN, TOUCHARD, *et al.*, 2019). Considerando os estudos prévios de Bettcher, Fitch, *et al.* (2016) e de Pagoni, Korologou-linden, *et al.* (2022), a diferença nos níveis líquidos de CCL11 encontrada entre os grupos DDA A β ⁺ e TDM A β ⁻ sugere que o aumento dessa quimiocina esteja entre os eventos iniciais associados à neurodegeneração relacionada às alterações de proteína A β .

O grupo TDM A β ⁻ apresentou valores menores do que os do grupo controle A β ⁻ para os seguintes marcadores: FGF, IL-1ra, IL-8, IL-13 e TNF- α . A presença de osteoartrose de joelho nos pacientes do grupo controle pode explicar os níveis mais altos de diferentes marcadores inflamatórios nesse grupo (cf. KOU e WU, 2014; CAI, SUN, *et al.*, 2015; LOUKOV, KARAMPATOS, *et al.*, 2018; KOH, CHAN, *et al.*, 2020). Embora a frequência de osteoartrose não seja diferente entre os grupos selecionados inicialmente, a hipótese de que a maior gravidade da patologia nos participantes do grupo controle, considerando a classificação de Ahlback (KEENAN, HOLLAND, *et al.*, 2020) e a indicação de artroplastia total de joelho, esteja relacionada à exacerbação de um processo inflamatório sistêmico (cf. KOSKINEN, JUSLIN, *et al.*, 2011).

Foram realizadas análises multivariadas, considerando os níveis de A β ₄₂ e de p-Tau₁₈₁ como variáveis-respostas. No Modelo 1, IL-1ra, IL-15, idade, sexo e diagnóstico clínico (grupos TDM, DDA e controle) foram testados como variáveis explicativas para níveis

de A β 42 como variável-resposta. A classificação do grupo DDA foi associada negativamente com os níveis de A β 42. No modelo final, além do grupo DDA, IL-1ra se manteve como variável explicativa. Esse dado reforça alguns achados discutidos previamente acerca dos níveis aumentados de IL-1ra no grupo controle em comparação aos demais grupos e a correlação positiva entre IL-1ra e A β 42. A associação de IL-1ra com A β 42 é corroborada por um estudo que demonstrou que a IL-1ra é um fator protetor para o efeito deletério que antecede a formação de placas amiloides em modelo animal de DA. Esse mesmo trabalho sugere que novas pesquisas testem a IL-1ra como possibilidade terapêutica (cf. QI, KLYUBIN, *et al.*, 2018). O Modelo 2 verificou a influência de GM-CSF, IL-1ra, IL-15, TNF- α e IL-6, idade, sexo e diagnóstico clínico sobre o nível de p-Tau181. A classificação no grupo DDA foi associada positivamente com o nível de p-Tau181. TNF- α foi o único marcador inflamatório que apresentou associação com os níveis de p-Tau181, sendo uma associação negativa. Alguns estudos prévios que investigaram TNF- α na DDA encontraram resultados diversos. Os trabalhos de Chen, Hu, *et al.* (2018) e Ng, Tam, *et al.* (2018) não observaram associação entre TNF- α e DA. Contudo, as pesquisas de Pillai, Maxwell, *et al.* (2019) e Peng, Chen, *et al.* (2020) mostraram associação entre TNF- α ou proteínas inflamatórias relacionadas ao TNF- α e níveis aumentados de p-Tau181, e a pesquisa de King, O'Brien, *et al.* (2018) demonstrou que níveis de TNF- α estão reduzidos em pacientes com comprometimento cognitivo leve em comparação com DDA e, também, com o grupo controle, sugerindo que os níveis de TNF- α podem estar reduzidos em estágios pré-clínicos da doença de Alzheimer e aumentam gradualmente no curso da doença. Considerando que a amostra do presente trabalho é composta por participantes com DDA inicial, além de participantes com comprometimento cognitivo secundário ao TDM, é possível que a associação negativa entre TNF- α e p-Tau181 reflita o processo inicial do aumento dessa citocina com efeito negativo sobre os níveis de p-Tau181, embora não tenham sido encontrados dados na literatura que suportem tal hipótese.

Entre as limitações deste estudo, destacam-se o tamanho amostral e o desenho transversal que não permitem o acompanhamento da variação dos biomarcadores com o passar do tempo e a inferência de relações de causa e efeito entre as variáveis estudadas. A análise de subgrupos de participantes deprimidos, considerando tempo de duração do episódio depressivo, gravidade, histórico de episódios prévios e idade no primeiro episódio depressivo não foi realizada. Isso também seria de grande valia para a melhor caracterização das variações dos biomarcadores nessas diferentes condições. Além disso, estudos de imagem, técnicas de avaliação de resposta celular frente a diferentes estímulos e avaliação genética dos participantes poderiam ter contribuído muito para a melhor compreensão dos mecanismos fisiopatológicos

do TDM no idoso. A diferença da média de idade entre os participantes do grupo TDM e do grupo DDA é também uma limitação tanto para a análise dos marcadores de DA (que podem aumentar com a idade, independentemente da apresentação clínica do indivíduo) quanto para a análise dos marcadores inflamatórios (que tendem a alterar em função de um processo, já mencionado nesta tese, chamado de *Inflammaging*).

7. CONCLUSÃO

- Avaliações cognitivas não demonstram ser um bom meio para diferenciar idosos com TDM e queixas cognitivas daqueles com DDA. Dentre os instrumentos utilizados no presente estudo, os grupos se diferenciaram apenas na subescala de Memória da Mattis.
- A β 42 e p-Tau181 estão correlacionados ao desempenho cognitivo, considerando as pontuações dos testes utilizados.
- Níveis de CCL11 são maiores em pacientes com DDA e marcador A β + quando comparados com pacientes com TDM e marcador A β -. A CCL11 parece estar relacionada a eventos iniciais associados à neurodegeneração.
- A IL-1ra está associada positivamente com níveis líquidos de A β 42, sugerindo efeito neuroprotetor dessa citocina, o que corrobora a literatura existente acerca desse tópico.
- Associação negativa entre TNF- α e p-Tau181 pode refletir um processo inicial do aumento dessa citocina com efeito negativo sobre os níveis de p-Tau181 em condições patológicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDOLI, N. et al. The global prevalence of major depressive disorder (MDD) among the elderly: A systematic review and meta-analysis. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 2022. 1067-1073.
- AL-HAKEIM, H. K. et al. Serum Interleukin Levels and Insulin Resistance in Major Depressive Disorder. **CNS Neurol Disord Drug Targets**, 2018. 618-625.
- ALMEIDA, O. P. [Mini mental state examination and the diagnosis of dementia in Brazil]. **Arq Neuropsiquiatr**, 605-6012 Setembro 1998.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5**. 5a. ed. [S.l.]: American Psychiatric Publishing, 2013.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-5-TR**. [S.l.]: American Psychiatric Publishing, 2022.
- AMORIM, P. Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. **Rev Bras Psiquiatr.**, 2000. 106-115.
- ASSIS, L. D. O. et al. Psychometric properties of the Brazilian version of Pfeffer's Functional Activities Questionnaire. **Front Aging Neurosci**, Setembro 2014. 255.
- AZIZI, G.; KHANNAZER, N.; MIRSHAFIEY, A. The Potential Role of Chemokines in Alzheimer's Disease Pathogenesis. **Am J Alzheimers Dis Other Dement**, Agosto 2014. 415-425.
- BABAEI, M. et al. Correlation between systemic markers of inflammation and local synovitis in knee osteoarthritis. **Caspian J Intern Med**, 2019. 383-387.
- BAIYEWU, O. et al. The Stick Design test: a new measure of visuoconstructional ability. **J Int Neuropsychol Soc**, 598-605 Setembro 2005.
- BEATO, R. G. et al. Brazilian version of the Frontal Assessment Battery (FAB): Preliminary data on administration to healthy elderly. **Dement Neuropsychol**, Janeiro-Março 2007. 59-65.
- BEKTAS, A. et al. Human T cell immunosenescence and inflammation in aging. **J Leukoc Biol**, Outubro 2017. 977-988.
- BETTCHER, B. M. et al. MCP-1 and eotaxin-1 selectively and negatively associate with memory in MCI and Alzheimer's disease dementia phenotypes. **Alzheimers Dement (Amst)**, Junho 2016. 91-97.
- BEYER, J. L. An evidence-based medicine strategy for achieving remission in bipolar disorder. **J Clin Psychiatry**, 2008. 31-37.
- BLENNOW, K. et al. Tau protein in cerebrospinal fluid: a biochemical marker for axonal degeneration in Alzheimer disease? **Mol Chem Neuropathol**, Dezembro 1995. 231-245.
- BLENNOW, K.; LEON, M. J. D.; ZETTERBERG, H. Alzheimer's disease. **Lancet**, 29 Julho 2006. 387-403.

- BLENNOW, K.; ZETTERBERG, H. Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future. **J Intern Med**, Dezembro 2018. 643-663.
- BROWN, E. E. et al. Tau in Late-Life Depression: A Systematic Review and Meta-Analysis. **J Alzheimers Dis**, Setembro 2016. 615-633.
- BRUCKI, S. M. D. et al. [Suggestions for utilization of the mini-mental state examination in Brazil]. **Arq Neuropsiquiatr**, Setembro 2003. 777-781.
- BUCH, K. B. N. et al. Cerebrospinal fluid tau protein shows a better discrimination in young old (**Curr Alzheimer Res**, 2017. 412-425.
- DIAS, F. L. D. C. et al. Prevalence of late-life depression and its correlates in a community-dwelling low-educated population aged 75+ years: The Pietà study. **J Affect Disord**, 1 Janeiro 2019. 173-179.
- DIAS, N. S. et al. Depressive disorders in the elderly and dementia: An update. **Dement Neuropsychol**, Jan-Mar 2020. 1-6.
- DINIZ, B. S. et al. Serum brain-derived neurotrophic factor level is reduced in antidepressant-free patients with late-life depression. **World J Biol Psychiatry**, Abril 2010. 550-555.
- DINIZ, B. S. et al. Reduced cerebrospinal fluid levels of brain-derived neurotrophic factor is associated with cognitive impairment in late-life major depression. **J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci**, Novembro 2014. 845-851.
- DINIZ, B. S. et al. Enhanced Molecular Aging in Late-Life Depression: the Senescent-Associated Secretory Phenotype. **Am J Geriatr Psychiatry**, Janeiro 2017. 64-72.
- DINIZ, B. S.; FISHER-HOCH, S.; MCCORMICK, J. The association between insulin resistance, metabolic variables, and depressive symptoms in Mexican-American elderly: A population-based study. **Int J Geriatr Psychiatry**, Fevereiro 2018. 294-299.
- DUBOIS, B. et al. The FAB: a Frontal Assessment Battery at bedside. **Neurology**, 12 Dezembro 2000. 1621-1626.
- DUIJS, F. H. et al. The cerebrospinal fluid "Alzheimer profile": easily said, but what does it mean? **Alzheimers Dement**, Novembro 2014. 713-723.
- DUTRA, M. C. et al. Accuracy and reliability of the Pfeffer Questionnaire for the Brazilian elderly population. **Dement Neuropsychol**, Abril-Junho 2015. 176-183.
- ENACHE, D.; PARIANTE, C. M.; MONDELLI, V. Markers of central inflammation in major depressive disorder: A systematic review and meta-analysis of studies examining cerebrospinal fluid, positron emission tomography and post-mortem brain tissue. **Brain, Behavior, and Immunity**, 2019. 24-40.
- ENDRIGHI, R.; HAMER, M.; STEPTOE, A. Post-menopausal Women Exhibit Greater Interleukin-6 Responses to Mental Stress Than Older Men. **Ann Behav Med**, Agosto 2016. 564-571.
- ERICKSON, M. A. et al. Genetics and sex influence peripheral and central innate immune responses and blood-brain barrier integrity. **PLoS One**, Outubro 2018.

- EYRE, H. A. et al. A meta-analysis of chemokines in major depression. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, Julho 2016. 1-8.
- FAMA, R. et al. Selective cortical and hippocampal volume correlates of Mattis Dementia Rating Scale in Alzheimer disease. **Arch Neurol**, Junho 1997. 718-723.
- FERRUCCI, L.; FABBRI, E. Inflammageing: chronic inflammation in ageing, cardiovascular disease, and frailty. **Nat Rev Cardiol**, Setembro 2018. 505-522.
- FISCHER, C. E. et al. Examining the Link Between Cardiovascular Risk Factors and Neuropsychiatric Symptoms in Mild Cognitive Impairment and Major Depressive Disorder in Remission. **J Alzheimers Dis**, 2019. 1305-1311.
- 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, Novembro 1975. 189-198.
- FOSS, M. P. et al. Mattis dementia rating scale (DRS) normative data for the brazilian middle-age and elderly populations. **Dement Neuropsychol**, Outubro 2013. 374-379.
- FUNES, C. M. et al. Apathy Mediates Cognitive Difficulties in Geriatric Depression. **Am J Geriatr Psychiatry**, Janeiro 2018. 100-106.
- FURMAN, D. et al. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. **Nat Med**, Dezembro 2019. 1822-1832.
- GAZALLE, F. K. et al. Bipolar depression: the importance of being on remission. **Braz J Psychiatry**, Junho 2006. 93-96.
- GOURDON, M. et al. Overuse of antidepressants in older outpatients with Alzheimer's disease and associated disorders: an observational study. **Geriatr Psychol Neuropsychiatr Vieil**, Junho 2021.
- GRASSI-OLIVEIRA, R. et al. Peripheral chemokine levels in women with recurrent major depression with suicidal ideation. **Braz J Psychiatry**, Março 2012. 71-75.
- GREENE, M. A.; LOESER, R. F. Aging-related inflammation in osteoarthritis. **Osteoarthritis Cartilage**, Novembro 2015. 1966-1971.
- HAAPAKOSKI, R. et al. Cumulative meta-analysis of interleukins 6 and 1 β , tumour necrosis factor α and C-reactive protein in patients with major depressive disorder. **Brain Behav Immun**, Outubro 2015. 206-215.
- HADJICHRYSANTHOU, C. et al. The dynamics of biomarkers across the clinical spectrum of Alzheimer' disease. **Alzheimers. Res Ther.** , 2020. 74.
- HALARIS, A. Inflammation-Associated Co-morbidity Between Depression and Cardiovascular Disease. **Curr Top Behav Neurosci**, 2017. 45-70.
- HALBACH, V. V. B. U.; HALBACH, O. V. B. U. BDNF effects on dendritic spine morphology and hippocampal function. **Cell Tissue Res**, Setembro 2018. 729-741.
- HALIM, M.; HALIM, A. The effects of inflammation, aging and oxidative stress on the pathogenesis of diabetes mellitus (type 2 diabetes). **Diabetes Metab Syndr**, Março-Abril 2019. 1165-1172.

- HAMILTON, M. A rating scale for depression. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, Fevereiro 1960. 56-62.
- HAMILTON, M. Development of a rating scale for primary depressive illness. **Br J Soc Clin Psychol**, Dezembro 1967. 278-296.
- HANSEEUW, B. J. et al. Association of Amyloid and Tau With Cognition in Preclinical Alzheimer Disease: A Longitudinal Study. **JAMA Neurol**, 1 Agosto 2019. 915-924.
- HANSEN, E. O. et al. Millipore xMap® Luminex (HATMAG-68K): An Accurate and Cost-Effective Method for Evaluating Alzheimer's Biomarkers in Cerebrospinal Fluid. **Front Psychiatry**, 31 Agosto 2021. 1-9.
- HARDY, J. A.; HIGGINS, G. A. Alzheimer's Disease: The Amyloid Cascade Hypothesis. **Science**, New York, 10 April 1992. 184-185.
- HEDLUND, J. L.; VIEWEG, B. W. The Hamilton Rating Scale for Depression: a Comprehensive Review. **Journal of Operational Psychiatry**, 1979. 149-165.
- HERRMANN, L. L.; GOODWIN, G. M.; EBMEIER, K. P. The cognitive neuropsychology of depression in the elderly. **Psychol Med**, Dezembro 2007. 1693-1702.
- HERRMANN, L. L.; MASURIER, M. L.; EBMEIER, K. P. White matter hyperintensities in late life depression: a systematic review. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, Junho 2008. 619-624.
- HERTZE, J. et al. Evaluation of CSF biomarkers as predictors of Alzheimer's disease: a clinical follow-up study of 4.7 years. **J Alzheimers Dis**, 2010. 1119-1128.
- HOU, Y. et al. Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. **Nat Rev Neurol**, Outubro 2019. 565-581.
- HUANG, T.-L.; LEE, C.-T. T-helper 1/T-helper 2 cytokine imbalance and clinical phenotypes of acute-phase major depression. **Psychiatry Clin Neurosci**, Agosto 2007. 415-420.
- HUGHES, C. P. et al. A new clinical scale for the staging of dementia. **Br J Psychiatry**, Junho 1982. 566-572.
- IBARRA, R. et al. AD-Related CSF Biomarkers Across Distinct Levels of Cognitive Impairment: Correlations With Global Cognitive State. **J Geriatr Psychiatry Neurol**, Novembro 2021. 659-667.
- IBGE. Número de idosos cresce 18% em 5 anos e ultrapassa 30 milhões em 2017. **Agência IBGE Notícias**, 2018. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/20980-numero-de-idosos-cresce-18-em-5-anos-e-ultrapassa-30-milhoes-em-2017>>. Acesso em: 17 Junho 2022.
- IVANOVSKA, M. et al. CCL-11 or Eotaxin-1: An Immune Marker for Ageing and Accelerated Ageing in Neuro-Psychiatric Disorders. **Pharmaceuticals (Basel)**, Setembro 2020. 230.
- IVANOVSKA, M. et al. CCL-11 or Eotaxin-1: An Immune Marker for Ageing and Accelerated Ageing in Neuro-Psychiatric Disorders. **Pharmaceuticals**, 2020. 2-17.

- JACK JR, C. R. et al. Shapes of the trajectories of 5 major biomarkers of Alzheimer disease. **Arch Neurol**, Julho 2012. 856-867.
- JACK JR, C. R. et al. A/T/N: An unbiased descriptive classification scheme for Alzheimer disease biomarkers. **Neurology**, 2 Agosto 2016. 539-547.
- JACK JR, C. R. et al. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. **Alzheimers Dement**, Abril 2018. 535-562.
- JACK JR, C. R.; HOLTZMAN, D. M. Biomarker modeling of Alzheimer's disease. **Neuron**, Dezembro 2013. 1347-1358.
- JAMIESON, A. et al. Depression related cerebral pathology and its relationship with cognitive functioning: A systematic review. **J Affect Disord**, 1 Maio 2019. 410-418.
- JANELIDZE, S. et al. CSF biomarkers of neuroinflammation and cerebrovascular dysfunction in early Alzheimer disease. **Neurology**, 28 Agosto 2018. 867-877.
- KEENAN, O. J. F. et al. Correlations between radiological classification systems and confirmed cartilage loss in severe knee osteoarthritis. **Bone Joint J**, 2020. 301-309.
- KERTESZ, A.; CLYDESDALE, S. Neuropsychological deficits in vascular dementia vs Alzheimer's disease. Frontal lobe deficits prominent in vascular dementia. **Arch Neurol**, Dezembro 1994. 1226-1231.
- KESSELS, R. P. C. et al. The backward span of the Corsi Block-Tapping Task and its association with the WAIS-III Digit Span. **Assessment**, Dezembro 2008. 426-434.
- KIM, Y.-K. et al. Cytokine imbalance in the pathophysiology of major depressive disorder. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, Junho 2007. 1044-1053.
- KING, E. et al. Peripheral inflammation in prodromal Alzheimer's and Lewy body dementias. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, 2018. 339-345.
- KIYOTA, T. et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor neuroprotective activities in Alzheimer's disease mice. **J Neuroimmunol**, 15 Junho 2018. 80-92.
- KNOPMAN, D. S. et al. Alzheimer disease. **Nat Rev Dis Primers**, 13 Maio 2021. 33.
- KOCHHANN, R. et al. The Mini Mental State Examination: Review of cutoff points adjusted for schooling in a large Southern Brazilian sample. **Dement Neuropsychol**, Janeiro-Março 2010. 35-41.
- KOH, S. M. et al. Elevated plasma and synovial fluid interleukin-8 and interleukin-18 may be associated with the pathogenesis of knee osteoarthritis. **Knee**, Janeiro 2020. 26-35.
- KÖHLER, C. A. et al. Peripheral cytokine and chemokine alterations in depression: a meta-analysis of 82 studies. **Acta Psychiatr Scand**, Maio 2017. 373-387.
- KOPER, M. J. et al. Necrosome complex detected in granulovacuolar degeneration is associated with neuronal loss in Alzheimer's disease. **Acta Neuropathol**, Março 2020. 463-484.

- KOSKINEN, A. et al. Adiponectin associates with markers of cartilage degradation in osteoarthritis and induces production of proinflammatory and catabolic factors through mitogen-activated protein kinase pathways. **Arthritis Res Ther**, 2011.
- KOU, S.; WU, Y. Meta-analysis of tumor necrosis factor alpha -308 polymorphism and knee osteoarthritis risk. **BMC Musculoskelet Disord**, 15 Novembro 2014.
- KRAUS, C. et al. Prognosis and improved outcomes in major depression: a review. **Transl Psychiatry**, Abril 2019.
- LAAKE, J.-P. S. et al. The association between depressive symptoms and systemic inflammation in people with type 2 diabetes: findings from the South London Diabetes Study. **Diabetes Care**, Agosto 2014. 2186-2192.
- LAI, K. S. P. et al. Peripheral inflammatory markers in Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of 175 studies. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, Outubro 2017. 876-882.
- LANA, D. et al. The Emerging Role of the Interplay Among Astrocytes, Microglia, and Neurons in the Hippocampus in Health and Disease. **Front Aging Neurosci**, 6 Abril 2021.
- LANZA, C. E. et al. On the conundrum of cognitive impairment due to depressive disorder in older patients. **PLoS One**, 2 Abril 2020.
- LANZA, C. et al. Cognitive profiles in persons with depressive disorder and Alzheimer's disease. **Brain Commun**, 27 Novembro 2020.
- LARNER, A. J. **Cognitive screening instruments: a practical approach**. 2a. ed. [S.l.]: Springer International Publishing, 2017.
- LAUGISCH, O. et al. Periodontal Pathogens and Associated Intrathecal Antibodies in Early Stages of Alzheimer's Disease. **J Alzheimers Dis**, 2018. 105-114.
- LEYHE, T. et al. A common challenge in older adults: Classification, overlap, and therapy of depression and dementia. **Alzheimers Dement**, Janeiro 13 2017. 59-71.
- LI, Y. et al. Altered expression of CD4(+)CD25(+) regulatory T cells and its 5-HT(1a) receptor in patients with major depression disorder. **J Affect Disord**, Julho 2010. 68-75.
- LINN, B. S.; LINN, M. W.; GUREL, L. Cumulative illness rating scale. **J Am Geriatr Soc**, Maio 1968. 622-626.
- LINO, V. Rastreamento de problemas de saúde e instrumentos usados na avaliação geriátrica e gerontológica. In: FREITAS, E. V.; L, P. Y. **Tratado de Geriatria e Gerontologia**. 3a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. Cap. 88, p. 1001-1013.
- LITKE, R. et al. Modifiable Risk Factors in Alzheimer Disease and Related Dementias: A Review. **Clin Ther**, Junho 2021. 953-965.
- LIVINGSTON, G. et al. Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. **Lancet**, 8 Agosto 2020. 413-446.
- LLORET, A. et al. When Does Alzheimer Disease Really Start? The Role of Biomarkers. **International Journal of Molecular Sciences**, 2019. 3-15.

- LOH, H. H. et al. Association between subclinical hypothyroidism and depression: an updated systematic review and meta-analysis. **BMC Psychiatry**, 2019. 12.
- LONG, J. M.; HOLTZMAN, D. M. Alzheimer Disease: An Update on Pathobiology and Treatment Strategies. **Cell**, 3 Outubro 2019. 312-339.
- LOPEZ, O. L.; KULLER, L. H. Epidemiology of aging and associated cognitive disorders: Prevalence and incidence of Alzheimer's disease and other dementias. **Handb Clin Neurol**, 2019. 139-148.
- LOTUFO, P. A. et al. Self-Reported High-Cholesterol Prevalence in the Brazilian Population: Analysis of the 2013 National Health Survey. **Arq Bras Cardiol**, Maio 2017. 411-416.
- LOUKOV, D. et al. Monocyte activation is elevated in women with knee-osteoarthritis and associated with inflammation, BMI and pain. **Osteoarthritis Cartilage**, Fevereiro 2018. 255-263.
- MACHADO, T. H. et al. Normative data for healthy elderly on the phonemic verbal fluency task - FAS. **Dement Neuropsychol**, Janeiro-Março 2009. 55-60.
- MAGIERSKI, R. et al. Pharmacotherapy of Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia: State of the Art and Future Progress. **Front Pharmacol**, 2020. 1168.
- MAIA, A. L. G. et al. [Application of the Brazilian version of the CDR scale in samples of dementia patients]. **Arq Neuropsiquiatr**, Junho 2006. 485-489.
- MASTERS, C. L. et al. Alzheimer's disease. **Nat Rev Dis Primers**, Outubro 2015. 150-156.
- MATTHEWSA, K. A. et al. Racial and ethnic estimates of Alzheimer's disease and related dementias in the United States (2015–2060) in adults aged ≥ 65 . **Alzheimers Dement**, 2019. 17-24.
- MATTIS, S. Dementia Rating Scale: professional manual. **Psychological Assessment Resources**, Florida, 1988.
- MCKHANN, G. M. et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimers Dement**, Maio 2011. 263-269.
- MENDES, T. et al. Memory awareness in patients with Major Depressive Disorder. **J Psychiatr Res**, Maio 2021. 411-418.
- MILLER, M. D. et al. Rating chronic medical illness burden in geropsychiatric practice and research: application of the Cumulative Illness Rating Scale. **Psychiatry Res**, Março 1992. 237-248.
- MIRZA, S. S. et al. 10-year trajectories of depressive symptoms and risk of dementia: a population-based study. **Lancet Psychiatry**, 2016. 628-635.
- MONSCH, A. U. et al. Clinical validity of the Mattis Dementia Rating Scale in detecting Dementia of the Alzheimer type. A double cross-validation and application to a community-dwelling sample. **Arch Neurol**, Setembro 1995. 899-904.

- MONTAÑO, M. B. M. M.; RAMOS, L. R. [Validity of the Portuguese version of Clinical Dementia Rating]. **Rev Saude Publica**, Dezembro 2005. 912-917.
- MORAES, E. N. D. **Princípios básicos de geriatria e gerontologia**. [S.l.]: COOPMED, 2008.
- MORGAN, A. R. et al. Inflammatory biomarkers in Alzheimer's disease plasma. **Alzheimers Dement**, 2019. 776-787.
- MORRIS, J. C. The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. **Neurology**, Novembro 1993. 2412-2414.
- MULDER, C. et al. Amyloid-beta(1-42), total tau, and phosphorylated tau as cerebrospinal fluid biomarkers for the diagnosis of Alzheimer disease. **Clin Chem**, Fevereiro 2010. 248-253.
- MYINT, A.-M. et al. Th1, Th2, and Th3 cytokine alterations in major depression. **J Affect Disord**, Outubro 2005. 167-173.
- NAISMITH, S. L. et al. The neurobiology of depression in later-life: clinical, neuropsychological, neuroimaging and pathophysiological features. **Prog Neurobiol**, Julho 2012. 99-143.
- NASCIMENTO, K. K. F. D. et al. Plasma and cerebrospinal fluid amyloid- β levels in late-life depression: A systematic review and meta-analysis. **J Psychiatr Res**, Outubro 2015. 35-41.
- NERURKAR, L. et al. Rheumatoid arthritis and depression: an inflammatory perspective. **Lancet Psychiatry**, Fevereiro 2019. 164-173.
- NEWCOMBE, E. A. et al. Inflammation: the link between comorbidities, genetics, and Alzheimer's disease. **J Neuroinflammation**, 24 Setembro 2018. 276.
- NG, A. et al. IL-1 β , IL-6, TNF- α and CRP in Elderly Patients with Depression or Alzheimer's disease: Systematic Review and Meta-Analysis. **Sci Rep**, 13 Agosto 2018.
- NUNES, P. V. et al. Low brain-derived neurotrophic factor levels in post-mortem brains of older adults with depression and dementia in a large clinicopathological sample. **J Affect Disord**, 1 Dezembro 2018. 176-181.
- O'BRYANT, S. E. et al. Staging dementia using Clinical Dementia Rating Scale Sum of Boxes scores: a Texas Alzheimer's research consortium study. **Arch Neurol**, Agosto 2008. 1091-1095.
- OWNBY, R. L. et al. Depression and risk for Alzheimer disease: systematic review, meta-analysis, and metaregression analysis. **Arch Gen Psychiatry**, Maio 2006. 530-538.
- PAGONI, P. et al. Causal effects of circulating cytokine concentrations on risk of Alzheimer's disease and cognitive function. **Brain Behav Immun**, 14 Maio 2022. 54-64.
- PAOLO, A. M. et al. Differentiation of the dementias of Alzheimer's and Parkinson's disease with the dementia rating scale. **J Geriatr Psychiatry Neurol**, Julho 1995. 184-188.
- PARAJULI, B. et al. CCL11 enhances excitotoxic neuronal death by producing reactive oxygen species in microglia. **Glia**, 2015.

- PAULA, J. J. D. et al. Validity and reliability of a "simplified" version of the Taylor Complex Figure Test for the assessment of older adults with low formal education. **Dement Neuropsychol**, Janeiro-Março 2016. 52-57.
- PAULSEN, J. S. et al. Distinct cognitive profiles of cortical and subcortical dementia in advanced illness. **Neurology**, Maio 1995. 951-956.
- PENG, Y. et al. Patterns of CSF Inflammatory Markers in Non-demented Older People: A Cluster Analysis. **Front Aging Neurosci**, 2020.
- PETRALIA, M. C. et al. Pathogenic contribution of the Macrophage migration inhibitory factor family to major depressive disorder and emerging tailored therapeutic approaches. **J Affect Disord**, 15 Fevereiro 2020. 15-24.
- PFEFFER, R. I. et al. Measurement of functional activities in older adults in the community. **J Gerontol**, Maio 1982. 323-329.
- PILLAI, J. A. et al. Key inflammatory pathway activations in the MCI stage of Alzheimer's disease. **Ann Clin Transl Neurol**, 2019. 1248-1262.
- PORTO, C. S. Escala de Avaliação de Demência (DRS). In: GORESTEIN, C.; WANG, Y. P.; HUNGERBÜHLER, I. **Instrumentos de avaliação em saúde mental**. 1a. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.
- PORTO, C. S. et al. Brazilian version of the Mattis dementia rating scale: diagnosis of mild dementia in Alzheimer's disease. **Arq Neuropsiquiatr**, Junho 2003. 339-345.
- PRAK, E. T. L. et al. No increase in inflammation in late-life major depression screened to exclude physical illness. **Transl Psychiatry**, Março 2022. 118.
- QI, Y. et al. NLRP3-dependent synaptic plasticity deficit in an Alzheimer's disease amyloidosis model in vivo. **Neurobiol Dis**, 2018. 24-30.
- QUERFURTH, H. W.; LAFERLA, F. M. Alzheimer's disease. **N Engl J Med**, 28 Janeiro 2010. 329-344.
- RABINOVICI, G. D. Late-onset Alzheimer Disease. **CONTINUUM (MINNEAP MINN)**, 2019. 14-33.
- REIS, T. et al. Cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's disease and geriatric depression: preliminary findings from Brazil. **CNS Neurosci Ther**, Julho 2012. 524-529.
- RIDDLE, M. et al. Longitudinal Cognitive Outcomes of Clinical Phenotypes of Late-Life Depression. **Am J Geriatr Psychiatry**, Outubro 2017. 1123-1134.
- ROCK, P. L. et al. Cognitive impairment in depression: a systematic review and meta-analysis. **Psychol Med**, Julho 2014. 2029-2040.
- ROCKWOOD, K. et al. Interrater reliability of the Clinical Dementia Rating in a multicenter trial. **J Am Geriatr Soc**, Maio 2000. 55-559.
- RUBIO-PEREZ, J. M.; MORILLA-RUIZ, J. M. A Review: Inflammatory Process in Alzheimer's Disease, Role of Cytokines. **The Scientific World Journal**, 2012. 15.

- SACHS-ERICSSON, N. et al. A longitudinal study of differences in late- and early-onset geriatric depression: depressive symptoms and psychosocial, cognitive, and neurological functioning. **Aging Ment Health**, 2013. 1-11.
- SANFILIPPO, C. et al. Increased neurogranin concentrations in cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease and in mild cognitive impairment due to AD. **J Neural Transm (Vienna)**, Dezembro 2016. 1443-1447.
- SCHAFER, K. A. et al. Reliability of monitoring the clinical dementia rating in multicenter clinical trials. **Alzheimer Dis Assoc Disord**, Outubro-Dezembro 2004. 219-222.
- SCHELTENS, P. et al. Alzheimer's disease. **Lancet**, 24 April 2021. 1577-1590.
- SCHÖNKNECHT, P. et al. Increased tau protein differentiates mild cognitive impairment from geriatric depression and predicts conversion to dementia. **Neurosci Lett**, 6 Abril 2007. 39-42.
- SCHWEITZER, I. et al. Structural neuroimaging studies in late-life depression: a review. **World J Biol Psychiatry**, Abril 2001. 83-88.
- SEIDLER, Z. E. et al. The role of masculinity in men's help-seeking for depression: A systematic review. **Clinical Psychology Review**, 2016. 106-118.
- SHAW, L. M. et al. Appropriate use criteria for lumbar puncture and cerebrospinal fluid testing in the diagnosis of Alzheimer's disease. **Alzheimers Dement**, 2018. 1505-1521.
- SHEEHAN, D. V. et al. The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. **J Clin Psychiatry**, 1998. 34-57.
- SIDDARTH, P. et al. Predictors of Cognitive Improvement Following Treatment for Late-Life Depression. **J Geriatr Psychiatry Neurol**, Março 2021. 162-168.
- SINGH-MANOUX, A. et al. Trajectories of Depressive Symptoms Before Diagnosis of Dementia: A 28-Year Follow-up Study. **JAMA Psychiatry**, 2 Março 2017. 712-718.
- SIUDA, J. et al. Cognitive impairment and BDNF serum levels. **Neurol Neurochir Pol**, Janeiro-Fevereiro 2017. 24-32.
- SOCHOCKA, M.; DINIZ, B. S.; LESZEK, J. Inflammatory Response in the CNS: Friend or Foe? **Mol Neurobiol**, Dezembro 2017. 8071-8089.
- SOLÉ-PADULLÉS, C. et al. Association between cerebrospinal fluid tau and brain atrophy is not related to clinical severity in the Alzheimer's disease continuum. **Psychiatry Res**. 140-146.
- SOPOVA, K. et al. Dysregulation of Neurotrophic and Haematopoietic Growth Factors in Alzheimer's Disease: From Pathophysiology to Novel Treatment Strategies. **Current Alzheimer Research**, 2014. 1-13.
- SPERLING, R. A. et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimers Dement**, Maio 2011. 280-292.
- STROOPER, B. D.; KARRAN, E. The Cellular Phase of Alzheimer's Disease. **Cell**, 11 Feb 2016. 603-615.

- TAIPA, R. et al. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in the CSF of patients with Alzheimer's disease and their correlation with cognitive decline. **Neurobiology of Aging**, 2019. 125-132.
- TANG, W. et al. Inflammatory cytokines, complement factor H and anhedonia in drug-naïve major depressive disorder. **Brain Behav Immun**, Julho 2021. 238-244.
- TARKOWSKI, E. et al. Local and systemic GM-CSF increase in Alzheimer's disease and vascular dementia. **Acta Neurol Scand**, 2001. 166-174.
- TEIXEIRA, A. L. et al. Revisiting the Role of Eotaxin-1/CCL11 in Psychiatric Disorders. **Front Psychiatry**, 2018. 41.
- VALIENGO, L. D. C. L.; STELLA, F.; FORLENZA, O. V. Mood disorders in the elderly: prevalence, functional impact, and management challenges. **Neuropsychiatr Dis Treat**, 24 Agosto 2016. 2105-2114.
- VEMURI, P. et al. MRI and CSF biomarkers in normal, MCI, and AD subjects: diagnostic discrimination and cognitive correlations. **Neurology**, 2009. 287-293.
- VILLEDA, S. A. et al. The ageing systemic milieu negatively regulates neurogenesis and cognitive function. **Nature**, 2011.
- WAISMAN, A. et al. Homeostasis of Microglia in the Adult Brain: Review of Novel Microglia Depletion Systems. **Trends Immunol**, Outubro 2015. 625-636.
- WELGE, V. et al. Combined CSF tau, p-tau181 and amyloid-beta 38/40/42 for diagnosing Alzheimer's disease. **J Neural Transm (Vienna)**, Fevereiro 2009. 203-2012.
- WHO. Mental health of older adults. **World Health Organization**, 2017. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mental-health-of-older-adults>>. Acesso em: 15 Janeiro 2019.
- WU, J.-J. et al. Late-life depression and the risk of dementia in 14 countries: a 10-year follow-up study from the Survey of Health, Ageing and Retirement in Europe. **Journal of Affective Disorders**, 1 Setembro 2020. 671-677.
- YORO-ZOHOUN, I. et al. Neuropsychiatric symptoms among older adults living in two countries in Central Africa (EPIDEMCA study). **Int J Geriatr Psychiatry**, Janeiro 2019. 169-178.
- ZIMMERMAN, M. et al. Severity classification on the Hamilton Depression Rating Scale. **J Affect Disord**, 2013. 384-388.

APÊNDICES

Correlações entre o método LUMINEX e o método ELISA

O liquor de 17 participantes deste estudo foi analisado pelo método ELISA quanto aos biomarcadores A β 42, t-Tau e p-Tau181. A análise de correlação entre as medidas encontradas foi feita por meio dos métodos LUMINEX e ELISA. Os valores obtidos para essa correlação estão descritos na Tabela 10.

Tabela 10 – Correlação de Spearman entre ELISA e LUMINEX

		A β 42_ELISA	t-Tau_ ELISA	p-Tau181_ ELISA	p-Tau181/ A β 42_ELISA
A β 42_ LUMINEX	rho	,826**			
	valor p	0,000			
	n	17			
t-Tau_ LUMINEX	rho		,887**		
	valor p		0,000		
	n		17		
p-Tau181_ LUMINEX	rho			,804**	
	valor p			0,000	
	n			17	
p-Tau181/ A β 42_ LUMINEX	rho				,824**
	valor p				0,000
	n				17

**p < 0,01

Fonte: Elaborada para fins deste trabalho.

Como pode ser observado na Tabela 10, as medidas do LUMINEX para os marcadores estudados, A β 42, t-Tau e p-Tau181, apresentam correlações positivas e fortes com as medidas do ELISA, o que também acontece para a razão p-Tau181/A β 42 calculada com as medidas do LUMINEX e do ELISA.

Comparação entre os grupos TDM, DDA e controle com relação a A β 42, Tau total e p-Tau181

A Tabela 11 mostra os resultados da comparação entre os níveis liquóricos (em pg/mL) dos marcadores A β 42, Tau total e p-Tau181 entre os grupos TDM, DDA e controle.

Tabela 11 – Comparação entre os níveis de A β 42, t-Tau e p-Tau181 nos grupos TDM, DDA e controle

Biomarcadores(pg/mL)	TDM (n = 20) a	DDA (n = 20) b	controle (n = 20) c	Valor de p†
A β 42 – mediana (P25 - P75)	1407,50 805,80 - 1953,50	807,58 594,98 - 951,12	1561 937,76 - 1708,00	0,009 ^{b<c, a=b; a=c}
t-Tau – mediana (P25 - P75)	2621,00 2006,50 - 4363,00	5297,50 3090,50 - 6261,50	4960,00 3549 - 7332,00	0,006 ^{a<b=c}
p-Tau181 – mediana (P25 - P75)	61,46 43,22 - 79,44	136,51 102,4 - 177,02	79,37 50,50 - 101,34	< 0,001 ^{a=c<b}
p-Tau181/A β 42 – mediana (P25 - P75)	0,04 b 0,03 - 0,09	0,21 a 0,14 - 0,27	0,05 b 0,03 - 0,07	< 0,001 ^{a=c<b}

TDM = transtorno depressivo maior; DDA = demência na doença de Alzheimer; n = número;

P25 - P75 = intervalo interquartil 25% - 75%; † Kruskal-Wallis

Fonte: Elaborada para fins deste trabalho.

Os níveis líquóricos de A β 42 entre os grupos ($p = 0,009$) foram diferentes. Tanto as medianas obtidas pela comparação dos níveis de A β 42 entre os grupos TDM e DDA ($p = 0,055$) quanto aquelas verificadas pela comparação dos níveis de A β 42 entre os grupos TDM e controle ($p = 1,000$) foram distintas. Já a mediana dos níveis de A β 42 do grupo DDA foi maior do que a do grupo controle ($p = 0,013$).

Assim como diferenças nos níveis líquóricos de A β 42 entre os grupos foram identificadas, os níveis líquóricos de t-Tau entre os grupos ($p = 0,006$) também foram diferentes. A mediana dos níveis de t-Tau para o grupo TDM foi mais baixa do que as aquelas obtidas a partir dos níveis de t-Tau para o grupo DDA ($p = 0,022$) e para o grupo controle ($p = 0,013$). Em contrapartida, as medianas dos níveis de t-Tau do grupo DDA e do grupo controle foram similares ($p = 1,000$).

Para a mediana dos níveis de p-Tau181 entre os grupos ($p < 0,001$), também houve diferenças de resultados, sendo que a mediana do grupo DDA foi maior do que a do grupo TDM ($p < 0,001$), bem como do que a do grupo controle ($p = 0,007$), mas não houve diferença entre as medianas dos grupos TDM e controle ($p = 0,655$).

Por fim, diferenças também foram identificadas para as razões p-Tau181/A β 42 dos grupos ($p < 0,001$). A mediana das razões do grupo DDA foi maior do que as medianas dos grupos TDM ($p < 0,001$) e controle ($p = 0,002$). Contudo, as medianas das razões desses últimos grupos – TDM e controle – foram as mesmas ($p = 1,000$).

Comparação entre os grupos TDM, DDA e controle com relação aos marcadores inflamatórios

A Tabela 12 mostra os resultados da comparação entre os níveis líquidos (em pg/mL) de marcadores inflamatórios entre os grupos TDM, DDA e controle.

Tabela 12 – Comparação entre os níveis de marcadores inflamatórios nos grupos TDM, DDA e controle

Marcadores inflamatórios (pg/mL)	TDM (n=20) a	DDA (n=20) b	controle (n=20) c	Valor de p†
CCL11 - mediana (P25 - P75)	0,10 0,07 - 0,18	0,24 0,20 - 0,32	0,16 0,12 - 0,21	0,002 ^{a<} b; c=a; c=b
FGF - mediana (P25 - P75)	0,51 a 0,42 - 0,53	0,53 a, b 0,42 - 0,63	0,63 b 0,53 - 0,63	0,012 ^{a<} c; b=a; b=c
G-CSF - mediana (P25 - P75)	6,27 5,24 - 6,94	7,28 5,96 - 9,32	5,61 4,98 - 7,59	0,097
GM-CSF - mediana (P25 - P75)	0,08 0,07 - 0,08	0,09 0,07 - 0,11	0,08 0,07 - 0,09	0,087
IFN- γ - mediana (P25 - P75)	1,84 1,36 - 2,13	1,75 1,42 - 2,16	1,68 1,46 - 1,99	0,984
IL-1 β - mediana (P25 - P75)	0,02 0,02 - 0,02	0,02 0,02 - 0,03	0,02 0,02 - 0,03	0,568
IL-1ra - mediana (P25 - P75)	7,33 4,99 - 8,99	8,52 7,16 - 9,52	8,71 5,42 - 11,51	0,302
IL-2 - mediana (P25 - P75)	0,11 0,08 - 0,13	0,13 0,11 - 0,16	0,12 0,11 - 0,13	0,033 ^{a<} b; c=a; c=b
IL-4 - mediana (P25 - P75)	0,04 0,03 - 0,04	0,04 0,04 - 0,04	0,04 0,04 - 0,04	0,024 ^{a<} b; c=a; c=b
IL-5 - mediana (P25 - P75)	1,45 1,26 - 1,59	1,59 1,26 - 1,83	1,45 1,31 - 1,72	0,575
IL-6 - mediana (P25 - P75)	0,08 0,07 - 0,12	0,10 0,08 - 0,12	0,09 0,06 - 0,12	0,417
IL-8 - mediana (P25 - P75)	4,18 3,24 - 7,16	5,42 4,31 - 7,06	6,61 4,13 - 8,32	0,103
IL-9 - mediana (P25 - P75)	0,57 0,47 - 0,68	0,76 0,58 - 0,88	0,57 0,47 - 0,69	0,268
IL-10 - mediana (P25 - P75)	0,29 0,24 - 0,35	0,35 0,29 - 0,41	0,29 0,24 - 0,35	0,195
IL-12 (p70) - mediana (P25 - P75)	0,15 0,14 - 0,15	0,15 0,15 - 0,17	0,15 0,15 - 0,17	0,180
IL-13 - mediana (P25 - P75)	0,19 0,18 - 0,19	0,21 0,19 - 0,25	0,21 0,19 - 0,23	0,001 ^{a<} b=c

IL-15 - mediana (P25 - P75)	9,30 7,3 - 10,9	11,1 9,8 - 12,6	11,1 5,40 - 12,2	0,041 a<b; c=a; c=b
IL-17 - mediana (P25 - P75)	0,15 0,14 - 0,17	0,17 0,11 - 0,24	0,14 0,12 - 0,17	0,613
CXCL-10 - mediana (P25 - P75)	159,60 100,6 - 244,6	177,3 122,1 - 259,6	213,10 104,30 - 260,40	0,850
CCL-2 - mediana (P25 - P75)	58,50 48,9 - 70,6	61,50 50,1 - 71,9	61,90 50,90 - 69,60	0,924
CCL-3 - mediana (P25 - P75)	0,64 0,57 - 0,85	0,70 0,58 - 0,98	0,62 0,55 - 0,81	0,579
CCL-4 - mediana (P25 - P75)	1,21 0,99 - 1,87	1,61 1,08 - 1,89	1,86 1,23 - 2,04	0,203
PDGF -bb - mediana (P25 - P75)	2,44 2,37 - 2,62	2,44 2,44 - 2,62	2,62 2,44 - 2,62	0,209
CCL-5 - mediana (P25 - P75)	1,08 0,5 - 3,18	0,83 0,42 - 3,91	0,61 0,50 - 1,22	0,590
TNF- α - mediana (P25 - P75)	1,10 1,03 - 1,22	1,24 0,98 - 1,43	1,19 1,05 - 1,35	0,406
VEGF - mediana (P25 - P75)	5,99 5,69 - 6,34	6,34 5,69 - 6,81	5,99 5,64 - 6,60	0,426

TDM = transtorno depressivo maior; DDA = demência na doença de Alzheimer provável; n = número; CCL = *C-C motif chemokine ligand*; FGF = *fibroblast growth factor*; G-CSF = *granulocyte colony stimulating factor*; GM-CSF = *granulocyte-macrophage colony stimulating factor*; IFN- γ = *interferon gamma*; IL = *interleukin*; ra = *receptor antagonist*; CXCL-10 = *C-X-C motif ligand*; PDGF-bb = *platelet-derived growth factor bb*; TNF- α = *tumor necrosis factor α* ; VEGF = *vascular endothelial growth factor*; P25 - P75 = intervalo interquartil 25% - 75%; † Kruskal-Wallis.

Fonte: Elaborada para fins deste trabalho.

Os níveis de CCL11 ($p = 0,002$), FGF ($p = 0,012$), IL-2 ($p = 0,033$), IL-4 ($p = 0,024$), IL-13 ($p = 0,001$) e IL-15 ($p = 0,041$) apresentaram resultados diferentes entre os grupos.

As medianas obtidas para o grupo TDM no que engloba os níveis de CCL11, IL-2, IL-4 e IL-15 foram menores em comparação com aquelas encontradas para o grupo DDA ($p = 0,001$; $p = 0,033$; $p = 0,047$; $p = 0,038$; respectivamente). Ainda com relação a esses marcadores, diferenças não foram identificadas entre o grupo controle e os grupos TDM ($p = 0,783$; $p = 1,000$; $p = 0,064$; $p = 1,000$) e DDA ($p = 0,053$; $p = 0,213$; $p = 1,000$; $p = 0,321$).

No que concerne os níveis de FGF, a mediana observada para o grupo TDM foi menor em comparação com a respectiva mediana verificada para o grupo controle ($p = 0,010$). Já as medianas alcançadas para o grupo DDA acerca desse marcador não foram diferentes daquelas obtidas para os grupos TDM ($p = 0,941$) e controle ($p = 0,181$).

A mediana do nível de IL-13, por sua vez, foi menor no grupo TDM em comparação com as dos grupos DDA ($p = 0,005$) e controle ($p = 0,005$). Por outro lado, as medianas do nível de IL-13 para os grupos DDA e controle não foram diferentes ($p = 1,000$).

Para os níveis de IL-1 β ($p = 0,568$), IL-1ra ($p = 0,302$), IL-5 ($p = 0,575$), IL-6 ($p = 0,417$), IL-8 ($p = 0,103$), IL-9 ($p = 0,268$), IL-10 ($p = 0,195$), IL-12 (p70) ($p = 0,170$), IL-17 ($p = 0,613$), GM-CSF ($p = 0,087$), G-CSF ($p = 0,097$), IFN- γ ($p = 0,984$), CXCL-10 ($p = 0,850$), CCL-2 ($p = 0,924$), CCL3 ($p = 0,579$), CCL4 ($p = 0,203$), PDGF-BB ($p = 0,209$), CCL5, ($p = 0,590$), TNF- α ($p = 0,406$) e VEGF ($p = 0,426$), diferenças não foram identificadas.

Comparação entre os níveis de p-Tau181 e t-Tau dos grupos TDM A β - e TDM A β +

Os 13 participantes do grupo TDM A β - foram comparados aos 7 participantes do grupo TDM A β + com relação aos níveis de p-Tau181 e Tau total. Os dados gerados a partir dessas comparações estão descritos na Tabela 13.

Tabela 13 – Comparação entre os níveis de t-Tau e p-Tau181 dos grupos TDM A β - e TDM A β +

Biomarcadores (pg/mL)	TDM (A β -) n = 13	TDM (A β +) n = 7	Valor de p \dagger
t-Tau	2647 (2114,5 -3985,5)	2006 (1909 -5257)	0,588
p-Tau181	63,5 (43,2 -83,1)	56,3 (41,9 -81,2)	0,757

TDM = transtorno depressivo maior; A β - = amiloide negativo; A β + = amiloide positivo; valores apresentados como mediana (p25 - p75); \dagger Mann Whitney

Fonte: Elaborada para fins deste trabalho.

Não houve diferença dos níveis de Tau total ($p = 0,588$) e p-Tau181 ($p = 0,757$) entre os grupos TDM A β - e TDM A β +

Comparação entre os níveis de marcadores inflamatórios dos grupos TDM A β - e TDM A β +

Os 13 participantes do grupo TDM A β - foram comparados aos 7 participantes do grupo TDM A β + com relação aos níveis dos marcadores inflamatórios: IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, FGF, CCL-11, GM-CSF, G-

CSF, IFN- γ , CXCL-10, CCL-2, CCL3, CCL4, PDGF-BB, CCL5 e TNF- α e VEGF. Os resultados dessas comparações são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 – Comparação entre os níveis de marcadores inflamatórios dos grupos TDM A β - e TDM A β +

Marcadores inflamatórios (pg/mL)	TDM (A β -)	TDM (A β +)	Valor de p†
CCL-11	0,10 (0,07 - 0,16)	0,09 (0,06 - 0,59)	0,938
FGF	0,48 (0,42 - 0,53)	0,53 (0,42 - 0,63)	0,938
G-CSF	5,98 (4,56 - 6,72)	6,94 (5,98 - 9,11)	0,050
GM-CSF	0,08 (0,07 - 0,08)	0,07 (0,06 - 0,09)	0,699
IFN- γ	1,89 (1,27 - 2,11)	1,6 (1,35 - 2,29)	0,817
IL-1 β	0,02 (0,02 - 0,02)	0,02 (0,02 - 0,03)	0,643
IL-1ra	6,68 (4,57 - 8,96)	8,33 (6,46 - 8,99)	0,340
IL-2	0,11 (0,08 - 0,13)	0,11 (0,08 - 0,13)	1,000
IL-4	0,04 (0,03 - 0,04)	0,03 (0,03 - 0,04)	0,536
IL-5	1,45 (1,17 - 1,65)	1,45 (1,45 - 1,59)	0,643
IL-6	0,08 (0,06 - 0,10)	0,11 (0,08 - 0,18)	0,135
IL-8	3,58 (3,21 - 4,91)	7,84 (3,25 - 10,30)	0,157
IL-9	0,57 (0,48 - 0,94)	0,57 (0,45 - 0,63)	0,938
IL-10	0,29 (0,24 - 0,35)	0,29 (0,21 - 0,47)	1,000
IL-12 (p70)	0,15 (0,15 - 0,16)	0,13 (0,13 - 0,15)	0,030
IL-13	0,19 (0,18 - 0,20)	0,19 (0,18 - 0,19)	0,938
IL-15	9,34 (7,32 - 11,85)	9,34 (6,14 - 9,34)	0,485
IL-17	0,14 (0,12 - 0,17)	0,17 (0,14 - 0,20)	0,393
CXCL-10	146,59 (94,43 - 181,72)	238,96 (105,19 - 463,25)	0,135
CCL2	56,81 (46,34 - 70,54)	62,96 (56,81 - 70,73)	0,241
CCL3	0,61 (0,45 - 0,69)	0,83 (0,64 - 1,13)	0,050
CCL4	1,22 (0,86 - 1,79)	1,18 (1,07 - 1,99)	1,000
PDGF-bb	2,44 (2,44 - 2,62)	2,44 (2,26 - 2,62)	0,438
CCL5	0,90 (0,44 - 7,02)	1,33 (0,50 - 2,82)	1,000
TNF-a	1,03 (1 - 1,14)	1,17 (1,1 - 1,51)	0,024
VEGF	5,99 (5,73 - 6,34)	5,99 (5,46 - 6,34)	0,817

TDM = transtorno depressivo maior; CCL = *C-C motif chemokine ligand*; FGF = *fibroblast growth factor*; G-CSF = *granulocyte colony stimulating factor*; GM-CSF = *granulocyte-macrophage colony stimulating factor*; IFN- γ = *interferon gamma*; IL = *interleukin*; ra = *receptor antagonist*; CXCL = *C-X-C motif ligand*; PDGF-bb = *platelet-derived growth factor bb*; TNF- α = *tumor necrosis factor α* ;

VEGF = *vascular endothelial growth factor* valores apresentados como mediana (p25 - p75); † Mann Whitney

Fonte: Elaborada para fins deste trabalho.

A mediana dos níveis de TNF- α foi diferente entre os grupos ($p = 0,024$), sendo que a mediana do grupo TDM A β - foi menor do que a obtida para o grupo TDM A β + no escopo desse marcador inflamatório.

A mediana dos níveis de IL-12 também foi diferente entre os grupos ($p = 0,030$); a mediana do grupo TDM A β - foi maior do que aquela alcançada para o grupo TDM A β + no âmbito do marcador inflamatório em questão.

Para o restante dos níveis – IL-1 β ($p = 0,643$), IL-1ra ($p = 0,340$), IL-2 ($p = 1,000$), IL-4 ($p = 0,536$), IL-5 ($p = 0,643$), IL-6 ($p = 0,135$), IL-8 ($p = 0,157$), IL-9 ($p = 0,938$), IL-10 ($p = 1,000$), IL-13 ($p = 0,877$), IL-15 ($p = 0,485$), IL-17 ($p = 0,393$), FGF ($p = 0,938$), CCL11 ($p = 0,938$), G-CSF ($p = 0,050$), GM-CSF ($p = 0,699$), IFN- γ ($p = 0,817$), CXCL-10 ($p = 0,135$), CCL-2 ($p = 0,241$), CCL3 ($p = 0,050$), CCL4 ($p = 1,000$), PDGF-BB ($p = 0,438$), CCL5 ($p = 1,000$) e VEGF ($p = 0,817$), diferenças não foram identificadas.

Caracterização dos grupos A β + e A β -

Caracterização clínica e sociodemográfica

Uma divisão da amostra baseada apenas nos níveis líquóricos da proteína A β foi investigada no presente estudo. Em razão disso, tal amostra foi dividida em dois grupos: A β - e A β +. As características demográficas e clínicas desses grupos estão descritas da Tabela 15 a seguir.

Tabela 15 – Dados demográficos e caracterização clínica dos grupos A β - e A β +

	A β - (n = 32)	A β + (n = 28)	Valor de p
Características sociodemográficas			
Idade em anos – média (dp)	70,4 (7,2)	75,7 (5,9)	p < 0,01*
Escolaridade anos – mediana (P25 - P75)	4 4 - 11	4 3,3 - 9	0,330†
Sexo Feminino – frequência	78,1%	64,3%	0,235† †
Características clínicas			
HAS – frequência	75,0%	82,1%	0,503† †

DM2 – frequência	40,6%	39,3%	0,916† †
Dislipidemia – frequência	65,6%	50,0%	0,221† †
IMC – média (dp)	28,7 (5,2)	27,1 (4,3)	0,223*
História de AVE – frequência	6,3%	3,6%	0,635† †
História de IAM – frequência	6,3%	7,1%	0,890† †
Hipotireoidismo – frequência	31,3%	17,9%	0,232† †
Osteoartrose – frequência	46,9%	39,3%	0,554† †
HP tabagismo – frequência	46,9%	44,4%	0,852† †
Carga tabágica – mediana	0	0	0,797†
(P25 - P75)	0 - 10,1	0 - 10	
EDM prévio – frequência	25,0%	42,9%	0,143† †
EDM atual – frequência	40,6%	32,1%	0,496† †
Uso de antidepressivo – frequência	37,5%	53,6%	0,212† †

DA = doença de Alzheimer; n = número; IMC = índice de massa corporal; HAS = hipertensão arterial sistêmica; DM2 = diabetes *mellitus* tipo 2; AVE = acidente vascular encefálico; IAM = infarto agudo do miocárdio; HP = história pessoal; EDM = episódio depressivo maior; HF = história familiar; *Teste t; † Mann Whitney; † † χ^2 Pearson

Fonte: Elaborada para fins deste trabalho.

Como mostrado na Tabela 15, 32 indivíduos do grupo A β - e 28 do grupo A β + foram avaliados. Existe diferença no que concerne à idade ($p < 0,01$) uma vez que o grupo A β + obteve uma mediana superior em relação a do grupo A β -. Não houve, porém, diferença entre a escolaridade dos grupos, sendo a mediana igual a quatro nos três grupos ($p = 0,330$), nem diferença acerca da predominância do sexo feminino entre os sujeitos dos grupos A β - e A β + ($p = 0,235$) que participaram desta pesquisa.

No que diz respeito às demais características clínicas – HAS ($p = 0,503$), DM2 ($p = 0,916$), dislipidemia ($p = 0,221$), IMC ($p = 0,223$), história de AVE ($p = 0,635$), história de IAM ($p = 0,890$), hipotireoidismo ($p = 0,232$), osteoartrose ($p = 0,554$), história pessoal de tabagismo ($p = 0,852$), carga tabágica ($p = 0,797$), EDM prévio ($p = 0,143$), EDM atual ($0,496$) e uso de antidepressivos ($p = 0,212$) – diferenças não foram verificadas entre os grupos.

Comparação entre os grupos A β - e A β + com relação à avaliação cognitiva e à funcionalidade

Os grupos A β - e A β + também foram comparados com relação à CIRSG, MEEM, Mattis e às suas subescalas, FAB, NPI e Pfeffer. A Tabela 16 traz as comparações cujos resultados apontaram diferenças entre os grupos.

Tabela 16 – Diferenças significativas em escalas e em testes cognitivos dos grupos A β ⁺ e A β ⁻

Instrumento	A β ⁺	A β ⁻	Valor de p
MEEM mediana (P25 - P75)	22 (19,3 - 26,8)	26,5 (23 - 29)	0,015
Mattis Memória mediana (P25 - P75)	18 (15 - 22,5)	20 (18 - 24)	0,036
FAB mediana (P25 - P75)	7 (0 - 8,5)	13 (10 - 15)	0,002
Pfeffer mediana (P25 - P75)	5,5 (0,25 - 11)	0 (0-2)	< 0,001

TDM = transtorno depressivo maior; DA = doença de Alzheimer; n = número; P25 - P75 = intervalo interquartil 25% - 75%; CIRSG = *Cumulative Illness Rating Scale for Geriatrics*; MEEM = Miniexame do Estado Mental; IP = iniciativa e perseveração; Conc.= conceituação; FAB = *Frontal Assessment Battery*; NPI = *Neuropsychiatric Inventory*; † Kruskal-Wallis; †† Anova unidirecional

Fonte: Elaborada para fins deste trabalho.

Diferenças na pontuação do MEEM ($p = 0,015$), na pontuação da subescala de Memória da Mattis ($p = 0,036$) e na pontuação da FAB ($p = 0,002$) foram observadas entre os grupos, sendo que a mediana do grupo A β ⁻ para esses testes foi maior do que a do grupo A β ⁺.

Em relação à pontuação da Pfeffer, diferenças significativas foram registradas entre os grupos ($p < 0,001$); e a comparação das medianas feita no escopo da pontuação da Pfeffer evidenciou que a mediana do grupo A β ⁻ foi menor do que a do grupo A β ⁺.

Diferenças significativas nas pontuações da CIRSG ($p = 0,497$); da Mattis Total ($p = 0,055$), na subescala de Iniciativa e Perseveração da Mattis ($p = 0,140$), na subescala de Atenção da Mattis ($p = 0,666$), na subescala de Conceituação da Mattis ($p = 0,110$) e na subescala de Construção da Mattis ($p = 0,849$) e do NPI ($p = 0,699$) não foram verificadas, por isso os dados correspondentes a esses parâmetros não estão descritos na Tabela 16.

Comparação entre os grupos A β ⁻ e A β ⁺ com relação aos biomarcadores

Para finalizar, os grupos A β ⁻ e A β ⁺ também foram comparados com relação aos níveis líquidos de A β 42, Tau total, p-Tau181, A β 42/p-Tau181 e marcadores inflamatórios. A Tabela 17, a seguir, mostra as comparações que apresentaram diferenças significativas entre os grupos.

Tabela 17 – Diferenças significativas de biomarcadores nos grupos A β ⁺ e A β ⁻

Biomarcadores (pg/mL)	A β ⁺	A β ⁻	Valor de p†
A β 42	697,3 (520 - 886,8)	1708 (1408 - 2060)	< 0,001
p-Tau181	125,5 (69,1 - 164,58)	70,2 (47,9 - 88,3)	0,002
p-Tau181/A β 42	0,185 (0,13 - 0,241)	0,035 (0,026 - 0,053)	< 0,001

IL-6	0,1 (0,083 - 0,12)	0,08 (0,063 - 0,108)	0,037
------	--------------------	----------------------	--------------

† Mann Whitney

Fonte: Elaborada para fins deste trabalho.

Os valores de A β 42 ($p < 0,001$) e p-Tau181 ($p = 0,002$) obtidos pelo liquor dos grupos A β + e A β - foram diferentes, sendo que a mediana do grupo A β + foi menor para A β 42; e maior para p-Tau181. Os valores da razão p-Tau181/A β 42 também foram diferentes ($p < 0,001$) para os grupos, sendo a razão do grupo A β + maior do que a do grupo A β -. Já as medianas de t-Tau para os grupos A β + e A β - ($p = 0,514$) não foram diferentes, por esse motivo esses dados não estão na Tabela 17.

Com relação aos marcadores inflamatórios, apenas os valores encontrados para IL-6 foram diferentes entre os grupos ($p = 0,037$), sendo a mediana do grupo A β + maior. Para os outros marcadores inflamatórios – IL-1 β ($p = 0,970$), IL-1ra ($p = 0,120$), IL-2 ($p = 0,632$), IL-4 ($p = 0,348$), IL-5 ($p = 0,829$), IL-8 ($p = 0,912$), IL-9 ($p = 0,806$), IL-10 ($p = 0,485$), IL-12 (p70) ($p = 0,151$), IL-13 ($p = 0,616$), IL-15 ($p = 0,319$), IL-17 ($p = 0,518$), FGF ($p = 0,223$), CCL11 ($p = 0,257$), G-CSF ($p = 0,293$), GM-CSF ($p = 0,536$), IFN- γ ($p = 0,620$), CXCL-10 ($p = 0,700$), CCL-2 ($p = 0,296$), CCL3 ($p = 0,273$), CCL4 ($p = 0,778$), PDGF-BB ($p = 0,179$), CCL5 ($p = 0,858$), TNF- α ($p = 0,766$) e VEGF ($p = 0,163$) – diferenças não foram observadas, por isso a ausência desses valores na Tabela 17.

ANEXOS

Artigo 1 – Depressive disorders in the elderly and dementia – An update

Este artigo aborda uma revisão da literatura feita com o objetivo de reunir os dados bibliográficos acerca dos possíveis mecanismos neurobiológicos existentes tanto nos transtornos depressivos em idosos quanto na demência.


Dement Neuropsychol 2020 March;14(1):1-6

Views & Reviews

<http://dx.doi.org/10.1590/1980-57642020dn14-010001>

Depressive disorders in the elderly and dementia

An update

Natália S. Dias¹, Izabela G. Barbosa^{1,2}, Weihong Kuang³, Antonio L. Teixeira^{1,4,5} 

ABSTRACT. The relationship between depressive disorders in the elderly and dementia, particularly Alzheimer's disease (AD), is highly complex. While the nature of this relationship is still a matter of debate, differential diagnosis and treatment remain a great clinical challenge. We review recent findings on the conundrum of depressive disorders in the elderly and AD. There is a biological continuum between depressive disorders in the elderly – or at least a subgroup of them – and AD. While elderly subjects with depression and patients with AD exhibit higher circulating levels of pro-inflammatory molecules and lower BDNF than matched controls, CSF levels of A β 42 can discriminate AD from depressive disorders in the elderly. The role of antidepressant treatment as a strategy to minimize the risk of AD remains to be established.

Key words: depression, dementia, Alzheimer's disease, differential diagnosis, therapeutics.

TRANSTORNOS DEPRESSIVOS EM IDOSOS E DEMÊNCIA: UMA ATUALIZAÇÃO

RESUMO. A relação entre transtornos depressivos em idosos e demência, particularmente a doença de Alzheimer (DA), é altamente complexa. Embora a natureza desse relacionamento ainda seja motivo de debate, o diagnóstico e o tratamento diferenciais continuam sendo um grande desafio clínico. Revisamos descobertas recentes sobre o dilema de transtornos depressivos em idosos e DA. Existe um contínuo biológico entre os transtornos depressivos em idosos – ou pelo menos um subgrupo deles – e a DA. Enquanto indivíduos idosos com depressão e pacientes com DA exibem níveis circulantes mais altos de moléculas pró-inflamatórias e menor BDNF do que os controles correspondentes, os níveis de A β 42 no LCR podem discriminar a DA de distúrbios depressivos em idosos. O papel do tratamento antidepressivo como estratégia para minimizar o risco de DA ainda precisa ser estabelecido.

Palavras-chave: depressão, demência, Alzheimer, diagnóstico diferencial, terapêutica.

The world's population is ageing rapidly. The proportion of the world's older adults is estimated to almost double between 2015 and 2050.¹ In absolute terms, this is an expected increase from 900 million to 2 billion people over the age of 60.¹

The prevalence of depressive disorders among older adults is around 35%.² Actually, depressive disorders – both major depressive disorder (MDD) and subthreshold depres-

sive symptoms – are the most common psychiatric disorders in the elderly.³ Moreover, a Brazilian study showed that the frequency of depressive symptoms in people between 60 to 79 years of age is 30% higher than with young adults.⁴ Depressive disorders also have a significant social impact, and specifically MDD accounts for 5.7% of years lived with disability (YLDs) among people older than 60 years.¹

This study was conducted at the Institute of Biological Sciences, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil.

¹Neuroscience Program, Institute of Biological Sciences, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil. ²Department of Mental Health, School of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil. ³Department of Psychiatry, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu, China. ⁴Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, UT Health, Houston, United States. ⁵Instituto de Ensino e Pesquisa, Santa Casa BH, Belo Horizonte, MG, Brazil.

Antonio L. Teixeira. Rua República Argentina, 795 / 302 – 30315-490 Belo Horizonte MG – Brazil. E-mail: altex@gmail.com

Disclosure: The authors report no conflicts of interest.

Received December 09, 2019. Accepted in final form, February 02, 2020.



Depressive disorders in the elderly can be classified according to the age of emergence of the first mood episode.⁵ Early-onset depression (EoD) is defined by the first depressive disorder starting before 60 years of age, while late-onset depression (LoD) refers to the first depressive disorder onset after 60 years of age.⁵

In the elderly, depressive disorders, particularly LoD, are marked by apathy, psychomotor changes and cognitive impairment.⁶ Differentiating cognitive deficits secondary to depressive disorders from dementia with depressive symptoms remains a great clinical challenge. This is complicated by the fact that depressive disorders in the elderly have been defined as risk factor or prodrome of neurodegenerative diseases, possibly reflecting underlying vascular and/or degenerative processes.⁷

This review aims to discuss clinical presentation, pathophysiological mechanisms and treatment of depressive disorders in the elderly. For this narrative review, we searched the pertinent literature on the Pubmed database until November 2019, focusing on meta-analyses, systematic reviews and studies published in English in the last five years. We also included historically relevant studies.

DEPRESSIVE DISORDERS IN THE ELDERLY AND COGNITIVE DEFICIT: THE CLINICAL CHALLENGES

Cognitive impairment is a defining feature of depressive disorders according to the DSM-5⁸ and ICD11.⁹ However, when elderly patients with depressive disorders exhibit marked cognitive dysfunction and even functional decline, they might be diagnosed as “pseudodementia”. This is an old and highly disputable concept that underscores the cognitive symptoms in the context of mood disorders.

Cognitive deficits related to depressive disorders are classically marked by executive dysfunction, including problem resolution and planning, flexibility, decision making ability and inhibitory control,^{10,11} and impairment in selective and sustained attention, semantic and fonemic fluency.¹¹ In the elderly, EoD has been associated with episodic memory deficits and bilateral hippocampus atrophy.^{12,13} This finding goes in line with the epidemiological evidence implicating depression as a risk factor for Alzheimer’s disease.¹⁴ Conversely, LoD has been associated with more executive dysfunction and prominent cerebrovascular lesions in pre-frontal regions, *i.e.* white matter hyperintensities in magnetic resonance imaging.^{12,15,16} More recent studies have shown more severe memory impairment and hippocampal volume loss in LoD compared to EoD,^{11,17} suggesting

that not only vascular burden but also neurodegenerative changes might be implicated in the pathogenesis of LoD.

Depressive disorders have been associated with cognitive impairment even when euthymic state is achieved.¹⁸ A recent study showed that remitted MDD patients had a cognitive performance between healthy controls and non-remitted MDD patients.¹⁹ In the elderly, depressive disorders have also been associated with cognitive deficits after mood symptom remission.^{20,21} Interestingly, cognitive impairment seems to be mediated by apathy in elderly subjects with MDD as in neurodegenerative diseases like AD and Parkinson’s disease.²¹

There is considerable overlap in clinical presentation, neuropsychological performance and even neuroimaging findings between elderly patients with depressive disorders and patients with dementia.⁷ The differential diagnosis of these two conditions can be challenging, requiring careful clinical follow-up with neuropsychological assessment and, if available, CSF and PET neuroimaging tests. Understanding the biological interaction between depression and dementia and identifying putative biomarkers could improve both the diagnosis process and the treatment of depressive disorders in the elderly.

DEPRESSIVE DISORDERS: RISK FACTOR OR A PRODROME OF DEMENTIA

In the past two decades, several populational studies have shown that depressive disorders are risk factor for cognitive decline and dementia, especially AD.^{22,23} A recent meta-analysis including longitudinal studies with 49,612 subjects further promoted the association between depressive disorders and dementia with 2.53 fold-increased risk for vascular dementia and 1.85 fold-increased risk for AD.²⁴ It is worth mentioning that most studies in this meta-analysis did not clearly differentiate between EoD and LoD.

Otherwise, two recent community-based studies suggested that depressive symptoms are prodrome of dementia. Mirza and collaborators (2015)²⁵ performed a 11 year cohort study evaluating depressive symptoms in 3,325 non-demented participants. Five trajectories of depressive symptoms were identified: stable low depression scores (2441 [73%]); moderately high starting scores but then remitting (369 [11%]); low starting scores, increasing, then remitting (170 [5%]); low starting scores that steadily increased (255 [8%]); and persistent high scores (90 [3%]). Increased risk of dementia was observed in patients with steadily increasing depres-

sive symptoms (8%), but not in the other patterns of depressive symptoms.²⁵ These findings are consistent with the hypothesis that a specific pattern of depression presentation later in life might be seen as a prodrome of dementia. Indeed, depressive symptoms might lie in a continuum between subclinical cognitive impairment and overt dementia. In a 28 year follow-up cohort with 10,308 participants, Singh-Manoux and collaborators (2017)²⁶ also showed that depressive symptoms can be seen as a prodrome of dementia and initiate ten years before the diagnosis of dementia.²⁶

Taking into account that the great majority of neurodegenerative diseases develops throughout many years, it is conceivable that depressive symptoms might precede cognitive decline and other clinical features.^{27,28} This supports the idea that depressive disorders in elderly population, especially LoD, is a prodrome than a risk factor for dementia. It is worth noticing that psychiatric symptoms, like depression, anxiety, euphoria and irritability can occur in patients with the established diagnosis dementia.²⁹

PUTATIVE MECHANISMS

Elderly patients with depressive disorder exhibit increased cortisol levels in comparison with age-matched controls,³⁰ suggesting an impairment in the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis.³⁰ Cortisol differences during middle and older adulthood is not significantly different, but among individuals with depression, cortisol levels seemed to increase with age.³¹ Several studies have shown that increased cortisol levels are associated with hippocampus atrophy and cognitive impairment.³²⁻³⁴ Thus, the HPA axis dysfunction might contribute to the amnesic deficits shown in elderly patients with depressive disorders.³⁰

Several studies have also reported association between inflammatory markers imbalance and depressive disorders. Patients with depressive disorders present increased circulating levels of proinflammatory molecules, such as interleukin (IL) – 6, tumoral necrosis factor (TNF), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and C-reactive protein (CRP).^{35,36} The ageing process itself is associated with innate and adaptive immunity changes, collectively called immunosenescence, including low grade chronic inflammation and immune response polarization towards a Th2 profile.³⁰ The presence of depression in the elderly would add further burden to the ageing process, being associated with even higher levels of pro-inflammatory molecules. A systematic review found that high IL-8, IL-6 and TNF

levels might be potential biomarkers for depressive disorders in the elderly.³⁷ A recent exploratory cross-sectional study showed that increased vascular endothelial growth factor (VEGF), IL-7, MCP-1, TNF and IL-1 β plasma levels predicted with 95.1% of accuracy the diagnosis of depressive disorder in elderly subjects.³⁸ One study evaluating 119 patients with LoD and 231 patients with EoD showed increased CRP plasma levels in LoD, and this was related with higher social stressors among LoD cases.³⁹

Dementia, particularly AD, has been associated with increased peripheral proinflammatory profile as well. Patients with AD present increased IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-18, soluble TNF-receptor (sTNF-R) 1 and 2, high sensitivity CPR (hsCPR), interferon (IFN) – γ , C-X-C motif chemokine (CXCL) – 10, epidermal growth factor (EGF), vascular cell adhesion molecule (VCAM) – 1, α 1-antichymotrypsin and transferrin compared to age-matched controls.⁴⁰ These mediators might play a direct role on cognition. Moreover, IL-6 blood levels have been inversely correlated with the Mini-Mental State Examination (MMSE) scores in patients with dementia.⁴⁰ There is no study directly comparing the immune profile in depressive disorders in elderly versus dementia.

The brain-derived neurotrophic factor (BDNF), a neurotrophin expressed in the hippocampus, plays an important role in neuronal survival, synaptic integrity, and neuroplasticity.⁴¹ Decreased BDNF levels have been systematically associated with cognitive impairment^{42,43} and dementia.⁴⁴⁻⁴⁶ Elderly patients with depressive disorders also demonstrated decreased BDNF levels.^{47,48}

Patients with AD have low β -amyloid level protein and high total tau and phosphorylated tau in the cerebrospinal fluid (CSF).⁴⁹ The CSF levels of the isoform with 42 aminoacids of β -amyloid protein and tau protein (total tau and phosphorylated tau) are strongly related with AD neuropathology and are considered the gold-standard biomarkers in differentiating AD from dementia of other causes and psychiatric disorders,^{49,50} as depicted in Table 1.

The current knowledge on the dynamics of A β peptides in the CSF and plasma of depressive disorders in the elderly is limited. A metaanalysis including 142 elderly patients with depressive disorders showed decreased A β 42 CSF levels when compared with elderly controls.⁴⁹ However, A β 42 CSF levels are higher⁵¹⁻⁵³ in older adults with depressive disorders in comparison with patients with AD. Total tau and phosphorylated tau levels did not differ between elderly patients with depressive disorders and controls in serum and/or plasma⁵⁵ and total tau and phosphorylated tau levels

Table 1. Cerebrospinal fluid biomarkers in depressive disorders in the elderly, neurodegenerative disorders and psychiatric disorders.

	β -amyloid	p-tau	total tau
AD	↓↓	↑↑	↑↑
FTD	↓	=	↑
LBD	↓	↑	↑
VD	↓	=	=
MDD	↓	=	=

p-tau: phosphorylated tau; AD: Alzheimer's Disease; LBD: Lewy's body dementia; FTD: frontotemporal dementia; VD: vascular dementia; MDD: major depressive disorder (in late-life). Adapted from Schoonenboom et al., 2011; with information from Nascimento et al., 2015 and Brown et al., 2016.

in the CSF are decreased in elderly with depressive disorders in comparison with patients with AD⁵¹⁻⁵⁷. It is worth mentioning that these meta-analytical studies did not undertake subgroup analysis taking into account EoD and LoD. This type of analysis would provide relevant information on the link between AD and a specific subgroup of late life depressive disorder.

Changes in CSF biomarkers in depressed elderly patients are in the same direction of changes observed in AD patients. These findings might suggest a shared neurobiology between depressive disorders in the elderly population and AD. Another hypothesis is that AD in the early stage and depressive disorders in the elderly might be in the same continuum.

Cerebrovascular disease is another mechanism potentially associated with depressive disorders in the elderly. It has been classically associated with a subtype of depressive disorder characterized by a distinct clinical presentation: psychomotor slowing, lack of initiative and apathy, absence of a family history of depression, a medical history of hypertension and cognitive impairment, and typical neuroimaging findings.⁵⁸ Though not formally recorded in psychiatric diagnostic manuals, "vascular depression" has been a well accepted construct in the research setting.⁵⁸

TREATMENT

Psychotherapy associated with antidepressant are the treatment of choice for depressive disorders in the elderly.⁵⁹

Whether antidepressants improve cognitive performance in the elderly is a matter of debate. A recent meta-analysis of nine placebo-controlled randomized trials including a total of 2,550 participants demonstrated that antidepressant treatment was associated

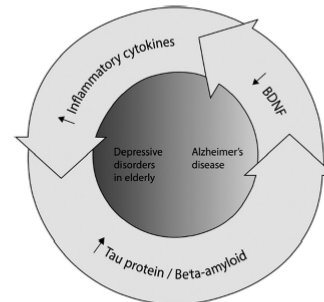


Figure 1. The complex interplay of biomarkers in the depressive disorders – Alzheimer's disease continuum.

with increased psychomotor speed and better performance on delayed recall test.⁶⁰ On the other hand, a community-based cohort study including 7,381 participants aged 65 years and over showed that patients taking tricyclic antidepressants (TCA) had impairment at verbal fluency, visual memory and psychomotor speed tests.⁵⁷ Conversely, selective serotonin reuptake inhibitors (SSRI) were associated with impairment at verbal fluency and psychomotor speed tests. Besides highlighting the potential negative effects on cognition of antidepressants, this study showed that different classes of antidepressants might influence different cognitive parameters.⁶¹

A recent review suggests that antidepressants may attenuate AD risk and, particularly, SSRIs may be effective in delaying AD onset.⁶² Unfortunately, studies reviewed are limited by their observational nature, lack of randomization and confounding biases,⁶² like the prescription of antidepressants for elderly depressed patients – that could be already in a prodromal stage of AD.

The prescription of anticholinesterase agents as add on drugs for depressive disorder in elderly patients is controversial. Donepezil as add on drug to depressive disorder in elderly patients does not seem to influence cognitive performance and the dementia conversion rate.^{63,64}

A last important question must be addressed. Is there any evidence that the prescription of antidepressants might help to treat depressive disorders in patients with dementia? While the prescription of antidepressants in patients with dementia is widespread, recent meta-analyses have shown that antidepressants present little or no effect on depressive symptoms, cognitive functioning and activities of daily living in this specific population.⁶⁵ Therefore, a more critical approach is needed and clinicians

must consider not only this lack of evidence but also that antidepressants might cause adverse events and interact with other medications.⁶⁵

CONCLUSIONS

Older age is a consistent and important risk factor for a poorer course of depressive disorders.⁶⁶ Depressive disorders in the elderly and AD present common clinical symptoms that might dim the diagnosis of both conditions. Moreover, biomarkers suggest shared neurobiological mechanisms between AD and depressive disorders. The variable terminology and classificatory systems,⁶⁷ alongside methodological heteroge-

neity are still important obstacles to the field advance. More studies comparing blood-based and CSF markers, neuroimaging and neuropsychological performances in elderly patients with depressive disorders and patients with AD are needed. The identification and validation of biomarkers would help in the diagnostic process and possibly in the eligibility process for therapeutic interventions.⁶⁸

Author contributions. Dr. Dias and Dr. Barbosa performed the literature review and wrote the first draft of the manuscript. Dr. Huang and Dr. Teixeira revised the content and organization of the manuscript. All authors approved its final version.

REFERENCES

- World Health Organization [homepage]. Mental health of older adults [accessed in January 15th 2019]. Available in: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mental-health-of-older-adults>
- Coelho CL, Crippa JA, Santos JL, Pinsky I, Zaleski M, Caetano R, Ronaldo Laranjeira. Higher prevalence of major depressive symptoms in Brazilians aged 14 and older. *Rev Bras Psiquiatr.* 2013;35:142-9.
- Steffens DC and Potter GG. Geriatric Depression and Cognitive Impairment. *Psychol Med.* 2007;38:163-75.
- Munhoz TN, Nunes BP, Wehrmeister FC, Santos IS, Matijasevich A. A nationwide population-based study of depression in Brazil. *J Affect Disord.* 2016;192:226-33.
- Van den Berg, Oldehinkel AJ, Bouhuys AL, Brilman EI, Beekman AT, Ormel J. Depression in later life: three etiologically different subgroups. *J Affect Disord.* 2001;65:19-26.
- Naismith SL, Norrie LM, Mowszowski L, Hickie IB. The neurobiology of depression in later-life: clinical, neuropsychological, neuroimaging and pathophysiological features. *Prog Neurobiol.* 2012;98:99-143.
- Leyhe T, Reynolds III CF, Melcher T, Linnemann C, Köppel S, Blennow K, et al. A common challenge in older adults: classification, overlap and therapy of depression and dementia. *Alzheimers Dement.* 2017;13:59-71.
- American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-V)*. Arlington, VA: American Psychiatric Association, 2013.
- World Health Organization (2018). International statistical classification of diseases and related health problems, 11th Revision. Retrieved from <https://icd.who.int/browse11/l-m/en>.
- Rock PL, Roiser JP, Riedel WJ, Blackwell AD. Cognitive impairment in depression: a systematic review and meta-analysis. *Psychol Med.* 2014;44:2029-40.
- Valengo LCL, Stella F, Forlenza OV. Mood disorders in the elderly: prevalence, functional impact, and management challenges. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2016;12:2105-14.
- Herrmann LL, Goodwin GM, Ebmeier KP. The cognitive neuropsychology of depression in the elderly. *Psychol Med.* 2007;37:1693-702.
- Schweitzer J, Tuckwell V, Ames D, O'Brien J. Structural neuroimaging studies in late-life depression: a review. *World J Biol Psychiatry.* 2001;2: 83-8.
- Owrbly RL, Crocco E, Acevedo A, John V, Loewenstein D. Depression and risk for Alzheimer disease: systematic review, meta-analysis, and meta-regression analysis. *Arch Gen Psychiatry.* 2006;63:530-8.
- Herrmann LL, Le Masurier M, Ebmeier KP. White matter hyperintensities in late life depression: a systematic review. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2008;79:619-24.
- Naismith SL, Norrie LM, Mowszowski L, Hickie IB. The neurobiology of depression in later-life: clinical, neuropsychological, neuroimaging and pathophysiological features. *Prog Neurobiol.* 2012;98:99-143.
- Sachs-Ericsson N, Corsentino E, Moxley J, Hames JL, Rushing NC, Sawyer K, et al. A longitudinal study of differences in late and early onset geriatric depression: Depressive symptoms and psychosocial, cognitive, and neurological functioning. *Aging Ment Health.* 2013;17:1-11.
- Hasselbalch BJ, Knorr U, Kessing LV. Cognitive impairment in the remitted state of unipolar depressive disorder: a systematic review. *J Affect Disord.* 2011;134:20-31.
- Grützner TM, Sharma A, Listunova L, Bartolovic M, Weisbrod M, Roesch-Ely D. Neurocognitive performance in patients with depression compared to healthy controls: association of clinical variables and remission state. *Psychiatry Res.* 2019;343-50.
- Riddle M, Potter GG, McQuoid DR, Steffens DC, Beyer JL, Taylor WD. Longitudinal cognitive outcomes of clinical phenotypes of late-life depression. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2017;25(10):1123-34.
- Funes CM, Lavretsky H, Ercoli L, St Cyr N, Siddarth P. Apathy mediates cognitive difficulties in geriatric depression. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2018;26:100-6.
- Mourão RJ, Mansur G, Malloy-Diniz LF, Castro-Costa E, Diniz BS. Depressive symptoms increase the risk of progression to dementia in subjects with mild cognitive impairment: systematic review and meta-analysis. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2016;31:905-11.
- Köhler CA, Magalhaes TF, Oliveira JM, Alves GS, Knochel C, Oertel-Knöchel V. Neuropsychiatric Disturbances in Mild Cognitive Impairment (MCI): A Systematic Review of Population-Based Studies. *Curr Alzheimer Res.* 2016;13:1066-82.
- Diniz BS, Butters MA, Albert SM, Dew MA, Reynolds CF III. Late-life depression and risk of vascular dementia and Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis of community-based cohort studies. *Br J Psychiatry.* 2013;202:329-35.
- Mirza SS, Wolters FJ, Swanson SA, Koudstaal PJ, Hofman A, Tiemeier H, Ikram MA. 10-year trajectories of depressive symptoms and risk of dementia: a population-based study. *Lancet Psychiatry.* 2016;3:628-35.
- Singh-Manoux A, Dugravot A, Fournier A, Abel J, Ebmeier K, Kivimäki M, Sabia S. Trajectories of Depressive Symptoms Before Diagnosis of Dementia: A 28-Year Follow-up Study. *JAMA Psychiatry.* 2017;74:712-8.
- Liepert-Scarfone I, Behnke S, Godau J, Schweitzer KJ, Wolf B, Gaenslen A, Berg D. Relation of risk factors and putative premotor markers for Parkinson's disease. *J Neural Transm.* 2011;118:579-85.
- Ishihara L, Brayne C. A systematic review of depression and mental illness preceding Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand.* 2006;113: 211-20.
- Ismail Z, Gatchel J, Bateman DR, Barcelos-Ferreira R, Cantillon M, Jaeger J, et al. Affective and emotional dysregulation as pre-dementia risk markers: exploring the mild behavioral impairment symptoms of depression, anxiety, irritability, and euphoria. *Int Psychogeriatr.* 2018;30: 185-96.
- Belvederi Murri M, Pariante C, Mondelli V, Masotti M, Atti AR, Mellaacqua Z, et al. HPA axis and aging in depression: systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology.* 2014;41:46-62.
- Stetler C, Miller GE. Depression and Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Activation: a quantitative summary of four decades of research. *Psychosom Med.* 2011;73:114-6.

32. O'Brien JT, Ames D, Schweitzer I, Colman P, Desmond P, Tress B. Clinical and Magnetic Resonance Imaging Correlates of Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Function in Depression and Alzheimer's Disease. *Br J Psychiatry*. 1996;168:679-87.
33. Knoop A, Gerritsen L, Graaf Y, Mali WP, Geerlings MI. Basal Hypothalamic Pituitary Adrenal Axis Activity and Hippocampal Volumes: The SMART-Medea Study. *Biol Psychiatry*. 2010;67:1191-8.
34. Lebedeva A, Sundstrom A, Lindgren L, Stomby A, Aarsland D, Westman E, et al. Longitudinal relationships among depressive symptoms, cortisol, and brain atrophy in the neocortex and the hippocampus. *Acta Psychiatr Scand*. 2018;137:491-502.
35. Haapakoski R, Mathieu J, Ebmeier KP, Alenius H, Kivimäki M. Cumulative meta-analysis of interleukins 6 and 1 β , tumour necrosis factor α and C-reactive protein in patients with major depressive disorder. *Brain Behav Immun*. 2015;49:206-15.
36. Eyre HA, Air T, Pradhan A, Johnston J, Lavretsky H, Stuart MJ, Baune BT. A meta-analysis of chemokines in major depression. *Prog Neuro-psychopharmacol Biol Psychiatry*. 2016;68:1-84.
37. Martínez-Cengotitabengoa M, Carrascón L, O'Brien JT, Díaz-Gutiérrez MJ, Bermúdez-Ampudia C, Sanada K, et al. Peripheral Inflammatory Parameters in Late-Life Depression: A Systematic Review. *Int J Mol Sci*. 2016;17: E2022.
38. Gaarden TL, Engedal K, Benth JS, Larsen M, Lorentzen B, Mollnes TE, et al. Exploration of 27 immune markers: a cross-sectional comparison of 64 old psychiatric inpatients having unipolar major depression and 18 non-depressed old persons. *BMC Geriatrics*. 2018;18:149.
39. Rozing MP, Veerhuis R, Westendorp RGJ, Eikelenboom P, Stek M, Marijssen RM, et al. Inflammation in older subjects with early- and late-onset depression in the NESDO study: a cross-sectional and longitudinal case-only design. *Psychoneuroendocrinology*. 2019;99:20-7.
40. Lai KSP, Liu CS, Rau A, Lanctôt KL, Köhler CA, Pakosh M, et al. Peripheral inflammatory markers in Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of 175 studies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2017;88:876-82.
41. Halbach OB, Halbach VB. BDNF effects on dendrit spine morphology and hippocampal function. *Cell and Tissue Res*. 2018;373:729-41.
42. Dwivedi Y. Involvement of brain-derived neurotrophic factor in late-life depression. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2013;21:433-49.
43. Diniz BS, Teixeira AL, Machado-Vieira R, Talib LL, Radanovic M, Gattaz WF, Forlenza OV. Reduced cerebrospinal fluid levels of brain-derived neurotrophic factor is associated with cognitive impairment in late-life major depression. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci*. 2014;69:845-51.
44. Sampaio TB, Savall AS, Gutierrez MEZ, Pinton S. Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's diseases: implications for pathogenesis and therapy. *Neural Regen Res*. 2017;12:549-57.
45. Siuda J, Patalong-Ogiejwa M, Zmuda W, Targosz-Gajniak M, Niewiadomska E, Matuszek I, et al. Cognitive impairment and BDNF serum levels. *Neurol Neurochir Pol*. 2017;51:24-32.
46. Sopova K, Gatsiou K, Stellos K, Laske C. Dysregulation of neurotrophic and haematopoietic growth factors in Alzheimer's disease: from pathophysiology to novel treatment strategies. *Curr Alzheimer Res*. 2014;11:27-39.
47. Diniz BS, Teixeira AL, Talib LL, Mendonça VA, Gattaz WF, Forlenza OV. Serum brain-derived neurotrophic factor level is reduced in antidepressant-free patients with late-life depression. *World J Biol Psychiatry*. 2010;11:550-5.
48. Nunes PV, Nascimento CF, Kim HK, Andreatza AC, Brentani HP, Suemoto CK, et al. Low brain-derived neurotrophic factor levels in post-mortem brains of older adults with depression and dementia in a large clinicopathological sample. *J Affect Disord*. 2018;241:176-81.
49. Nascimento KKF, Silva KP, Malloy-Diniz LF, Butters MA, Diniz BS. Plasma and cerebrospinal fluid amyloid β levels in late-life depression: a systematic review and meta-analysis. *J Psychiatry Res*. 2015;69:35-41.
50. Schoonenboom NS, Reesink FE, Verwey NA, Kester MI, Teunissen CE, van de Ven PM, et al. Cerebrospinal fluid markers for differential dementia diagnosis in a large memory clinic cohort. *Neurology*. 2012;78:47-54.
51. Sanfilippo C, Forlenza O, Zetterberg H, Blennow K. Increased neurogranin concentrations in cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease and in mild cognitive impairment due to AD. *J Neural Transm (Vienna)*. 2016;123:1443-7.
52. Reis T, Brandão CO, Freire Coutinho ES, Engelhardt E, Laks J. Cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's disease and geriatric depression: preliminary findings from Brazil. *CNS Neurosci Ther*. 2012;18:524-9.
53. Hertze J, Minthon L, Zetterberg H, Vanmechelen E, Blennow K, Hansson O. Evaluation of CSF biomarkers as predictors of Alzheimer's disease: A clinical follow-up study of 4.7 years. *J Alzheimers Dis*. 2010;21:1119-28.
54. Welge V, Fiege O, Lewczuk P et al. Combined CSF tau, p-tau 181 and amyloid- β 38/40/42 for diagnosing Alzheimer's disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 2009;116:203-12.
55. Brown EE, Iwata Y, Chung JK, Mollenhauer B, Esselmann H, Klafki HW, et al. Tau in Late-Life Depression: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Alzheimers Dis*. 2016;54:615-33.
56. Schonknecht P, Pantel J, Kaiser E, Thomann P, Schröder J. Increased tau protein differentiates mild cognitive impairment from geriatric depression and predicts conversion to dementia. *Neurosci Lett*. 2007;416:39-42.
57. Blennow K, Wallin A, Agren H, Spenger C, Siegfried J, Vanmechelen E. Tau protein in cerebrospinal fluid. A biochemical marker. *Mol Chem Neuropathol*. 1995;26:231-45.
58. Aizenstein HJ, Baskys A, Boldrini M, Butters MA, Diniz BS, Jaiswal MK, et al. Vascular depression consensus report – a critical update. *BMC Med* 2016;14:161.
59. Alexopoulos GS, Katz IR, Reynolds CF 3rd, Carpenter D, Docherty JP. The expert consensus guideline series. Pharmacotherapy of depressive disorders in older patients. *Postgrad Med*. 2001; Spec No Pharmacotherapy: 1-86.
60. Rosenblatt JD, Kakar R, McIntyre RS. The Cognitive Effects of Antidepressants in Major Depressive Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2015;19(2), pii: pyv082.
61. Carrière I, Norton J, Farré A, Wyart M, Tzourio C, Noze P, et al. Antidepressant use and cognitive decline in community-dwelling elderly people – The Three-City Cohort. *BMC Med* 2017;15:81.
62. Khoury R, Grossberg GT. Impact of antidepressant use on the trajectory of Alzheimer's disease: evidence, mechanisms, and therapeutic implications. *CNS Drugs* 2019;33:17-29.
63. Reynolds CF 3rd, Butters MA, Lopez O, Pollock BG, Dew MA, Mulsant BH, et al. Maintenance treatment of depression in old age: a randomized, double-blind, placebo-controlled evaluation of the efficacy and safety of donepezil combined with antidepressant pharmacotherapy. *Arch Gen Psychiatry* 2011;68:51-60.
64. Devanand DP, Pelton GH, D'Antonio K, Ciarleglio A, Scodes J, Andrews H, et al. Donepezil Treatment in Patients With Depression and Cognitive Impairment on Stable Antidepressant Treatment: A Randomized Controlled Trial. *Am J Geriatr Psychiatry* 2018;26:1050-1060.
65. Dudas R, Malouf R, McCleery J, Deming T. Antidepressants for treating depression in dementia (Review). *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;31:8.
66. Schaakos R, Comijs HC, Lamers S, Kok RM, Beekman ATF, Penninx BWJH. Associations between age and the course of major depressive disorder: a 2-year longitudinal cohort study. *Lancet Psychiatry*. 2018;5:581-90.
67. Hiles SA, Baker AL, Malmanche T, Attia J. A meta-analysis of differences in IL-6 and IL-10 between people with and without depression: exploring the causes of heterogeneity. *Brain Behav Immun*. 2012;26:1180-8.
68. Jha MK, Trivedi MH. Personalized antidepressant selection and pathway to novel treatments: clinical utility of targeting inflammation. *Int J Mol Sci*. 2018;19(1): E233.

Artigo 2 – Millipore xMap Luminex (HATMAG-68K): Na accurate and Cost-Effective Method for Evaluating Alzheimer's Biomarkers in Cerebrospinal Fluid



Millipore xMap[®] Luminex (HATMAG-68K): An Accurate and Cost-Effective Method for Evaluating Alzheimer's Biomarkers in Cerebrospinal Fluid

Erika Oliveira Hansen^{1,2*}, Natalia Silva Dias^{3,4}, Ivonne Carolina Bolaños Burgos⁵, Monica Vieira Costa², Andréa Teixeira Carvalho⁶, Antonio Lucio Teixeira^{7,8}, Izabela Guimarães Barbosa^{3,4,9}, Lorena Aline Valu Santos¹⁰, Daniela Valadão Freitas Rosa¹⁰, Aloisio Joaquim Freitas Ribeiro¹¹, Bernardo Mattos Viana^{1,4,9} and Maria Aparecida Camargos Bicalho^{1,2,4,10,12}

OPEN ACCESS

Edited by:

Breno Satler Diniz,
University of Connecticut Health
Center, United States

Reviewed by:

Bruno Pietro Imbimbo,
Ciesi Farmaceutici, Italy
Cristiano Capurso,
University of Foggia, Italy

*Correspondence:

Erika Oliveira Hansen
erikaohansen@gmail.com

Specialty section:

This article was submitted to
Aging Psychiatry,
a section of the journal
Frontiers in Psychiatry

Received: 29 May 2021

Accepted: 21 July 2021

Published: 31 August 2021

Citation:

Hansen EO, Dias NS, Burgos ICB, Costa MV, Carvalho AT, Teixeira AL, Barbosa IG, Santos LAV, Rosa DV, Ribeiro AJF, Viana BM and Bicalho MAC (2021) Millipore xMap[®] Luminex (HATMAG-68K): An Accurate and Cost-Effective Method for Evaluating Alzheimer's Biomarkers in Cerebrospinal Fluid. *Front. Psychiatry* 12:716686. doi: 10.3389/fpsy.2021.716686

¹ Jenny de Andrade Faria Institute– Reference Center for the Elderly, Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil, ² Molecular Medicine Program, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil, ³ Neuroscience Program, Institute of Biological Sciences, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil, ⁴ Elderly Psychiatry and Psychology Extension Program (PROEPSI), Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil, ⁵ Adult Health Sciences Applied Program, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil, ⁶ René Rachou Institute, Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), Belo Horizonte, Brazil, ⁷ Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, UT Health, Houston, TX, United States, ⁸ Instituto de Ensino e Pesquisa, Santa Casa de Belo Horizonte, Belo Horizonte, Brazil, ⁹ Department of Mental Health, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil, ¹⁰ National Institute of Science and Technology of Molecular Medicine (INCT-MM), Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil, ¹¹ Institute of Exact Sciences, Statistics Department, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil, ¹² Department of Clinical Medicine, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

Background: Alzheimer's disease (AD) biomarkers are of great relevance in clinical research, especially after the AT(N) framework. They enable early diagnosis, disease staging and research with new promising drugs, monitoring therapeutic response. However, the high cost and low availability of the most well-known methods limits their use in low and medium-income countries. In this context, Millipore xMap[®] Luminex may be a cost-effective alternative. In our study, using INNOTEST[®] as reference, we assess the diagnostic accuracy of Millipore xMap[®] and propose a cutoff point for AD.

Methods: We performed lumbar puncture of seven older individuals with clinically defined AD, 17 with amnesic mild cognitive impairment (aMCI) and 11 without objective cognitive impairment-control group (CG). Cerebrospinal fluid (CSF) biomarkers concentrations for aB42, p-Tau, and t-Tau were measured by INNOTEST[®] and Millipore xMap[®], and then the techniques were compared to assess the diagnostic accuracy of the new test and to define a cutoff.

Results: INNOTEST[®] and Millipore xMap[®] measurements showed all correlations >0.8 for the same biomarker, except for t-Tau that was 0.66. Millipore xMap[®] measurements showed a robust accuracy for all biomarkers, with AUC higher than 0.808 (t-Tau), and the best for Aβ42 (AUC = 0.952). The most accurate cutoffs were found at 1012.98

pg/ml (A β 42), 64.54 pg/ml (p-tau), 3251.81 pg/ml (t-tau), 3.370 (t-Tau/A β 42), and 0.059 (p-Tau/A β 42).

Conclusion: Given its good accuracy and cost-effectiveness, Milliplex xMap® tests seems a reliable and promising tool, especially for low and middle-income countries.

Keywords: Alzheimer's disease, biomarker, Millipore xMap® Luminex, cerebrospinal fluid, A β 42, tau, INNOTEST

INTRODUCTION

Globally, over 50 million people were living with dementia in 2018, and this number is expected to nearly triple to 152 million by 2050 (1). This growth stands out in low and middle-income countries (2). The global cost of dementia was about 818 billion in 2015, with only about 10% incurred in low and middle-income countries (3). Following this trend, in the Southern Latin American, it is estimated a 77% increase in the number of people with dementia. As prevalence rates across the region increase, so too will the costs associated with providing dementia care and support (4). Dementia is recognized as one of the main causes of functional decline, morbidity and mortality among elderly (5).

Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia (2). It is associated with the accumulation of insoluble forms of amyloid- β (A β) and aggregation of tau protein in neurofibrillary tangles (6). The clinical diagnosis in early stages is often delayed since it may rely on patients' signs and symptoms or caregivers' concerns, as well as cognitive assessment. In research centers, a clinical diagnosis of AD is around 80% sensitive and 70% specific based on clinicopathological studies (7). Therefore, the use of biomarkers is of great relevance, making it possible to establish early diagnosis, estimating risks, assessing disease stages and monitoring progression and therapeutic response.

In 2018, the National Institute on Aging and Alzheimer's Association proposed a research framework focused on the diagnosis of AD with biomarkers (8). It is a binary system in which biomarkers are grouped into those related to β amyloid deposition (A), tau pathology (T), and neurodegeneration (N) - [AT(N)], based on cerebrospinal fluid (CSF) and/or molecular and structural neuroimaging (9). Therefore, diagnosis is not only based on clinical manifestations of AD, so that the definition of AD has become a biological construct. Based on this background, the AT(N) framework defined three categories: Normal AD biomarkers, Alzheimer's continuum and Non-AD pathologic change (8).

The term Alzheimer's continuum was first established in 2011 by Sperling et al. (10). Nowadays, it is well-established that AD is a continuum from a preclinical to a symptomatic stage, and that neuropathological changes precede clinical manifestations by 20–30 years. Updating concepts, Alzheimer's continuum is an umbrella term that include all individual with biomarkers evidence of A β deposition, independently from tau pathology or neurodegeneration, and the term "Alzheimer's disease" should be used only if there is evidence of both A β and tau pathology. This concept is independent of the clinical presentation (8).

Nowadays, there are available commercial techniques for CSF biomarkers, like the non-automated method enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), the semi-automated Luminex xMAP (11) and the next generation automated assays, chemiluminescent enzyme immunoassay (Lumipulse®, Fujirebio, Europe) and electrochemiluminescence immunoassay (Elecsys®, Roche Diagnostics, Switzerland) (12, 13). Despite the emergence of innovative technology, the most commonly used technique in research has been ELISA, particularly INNOTEST® (Fujirebio, Europe) (14). This method is based on solid-phase enzyme immunoassay by a single analyte (15). On the other hand, Luminex xMap is a multiple analyte test which simultaneously detects and quantifies both A β and Tau proteins in the same sample (16). Therefore, this method has advantages in reducing sample volume, processing time and decreases chance of human errors (17). While additional advantages of xMap might include reduced intra-assay and intra-laboratory variations, the method displays worse inter-assay performance than automated testing (18). Taking into account cost-effectiveness and accuracy, the Luminex xMAP can be an interesting alternative.

Previous research showed similar accuracy between Luminex xMAP and ELISA (19–22). Until now, the most commonly used Luminex xMap in research has been INNO-BIA AlzBio3® (Fujirebio, Europe). However, the company Fujirebio discontinued its commercialization in January 2021. So, other commercially available Luminex tests should be used, like Millipore xMap® (HNABTMAG-68K) (Millipore, Germany). To the best of our knowledge, Millipore xMap® was little studied as an Alzheimer's biomarker and there is no validation of this method in AD.

The aim of this study was to assess the correlation and accuracy of Millipore xMap® for AD's CSF biomarker, using ELISA INNOTEST® as gold-standard. Furthermore, we propose Millipore xMap® cutoff points for AD's diagnosis in clinical scenarios based on ROC curves analysis.

MATERIALS AND METHODS

We recruited older adults who attended the geriatric outpatient clinic from the Jenny de Andrade Faria Institute (JAFI) - Hospital das Clínicas - Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFMG), which including 24 patients with cognitive decline, amnesic mild cognitive impairment (aMCI) and probable Alzheimer's disease dementia (ADD), and two participants without objective cognitive impairment. IJAF is a Reference Center for the diagnosis and treatment of dementia and for diagnosis and treatment of frailty older adults. In addition, we

included nine patients without cognitive impairment who were recruited from scheduled orthopedic surgery.

All subjects underwent a comprehensive clinical, cognitive and behavioral assessment (23) by a previously trained geriatrician or geriatric psychiatrist. Briefly, the screening tests included Mini-mental state examination (24), Dementia Rating Scale (25), Clinical Dementia Rating Scale (26), Neuropsychiatric Inventory (27) and Instrumental Activities of Daily Living (28). Individuals with cognitive impairment also underwent a neuropsychological assessment and have been followed at the same Center for two or more years. The neuropsychological battery used was previously validated for assessment of older adults with low educational level and with heterogeneous cognitive background (29). All tests were validated for use with Brazilian elderly and cut-off points were considered according to their education level. Patients with cognitive impairment also underwent routine blood tests (e.g., hematology, biochemistry, thyroid-stimulating hormone, vitamin B12 and folate levels, syphilis, and HIV serology) and brain imaging studies (computerized tomography or nuclear magnetic resonance).

Diagnosis of probable ADD was performed according to the criteria of McKhann et al. (30) and of aMCI according to the DSM-5 (31). So, we defined three groups according to the clinical diagnosis: 11 individuals without objective cognitive impairment-control group (CG), seven with probable mild ADD and, 17 with aMCI.

The research was approved by the local Ethics Committee (CAAE 79354317.1.0000.5149) and all participants or legal guardians signed the consent form.

CSF Sample Collection

Lumbar puncture (LP) was performed by an anesthesiologist to collect cerebrospinal fluid (CSF) from participants with cognitive impairment. For CG, CSF collection was performed during lumbar puncture for spinal anesthesia, since these patients would be submitted to elective surgical procedures.

LP was performed into the L3/L4 or L4/L5 intervertebral space to collect 6 ml of CSF in polypropylene tubes. Samples were immediately transported to the laboratory, where they were centrifuged at 3,000 revolutions per minute (rpm) for 15 min, at 4°C, at a maximum time of 2 h after collection. Then, they were frozen and stored at -80°C until the time of analysis.

Concentrations of Aβ1-42, t-tau and p-tau in CSF samples were measured using both ELISA and Luminex xMap assay protocols. Samples were processed by trained professionals, based on robust protocol, as, our laboratory has a strict quality control system. Also, we followed the protocols described by manufactures We used the INNOTEST hTAU Ag®[®], INNOTEST PHOSPHO-TAU (181P)®[®], and INNOTEST β-Amyloid (1-42)®[®] (Fujirebio, Europe) kits by ELISA technique. We performed the Human Amyloid Beta and Tau Magnetic Bead Panel®[®] (HNABTMAG-68K) (Millipore, Germany) kit by Luminex xMAP technique. This technology uses labeled microspheres or beads and internally dyes bead sets with precise concentrations of fluorescent dyes, resulting in 500 distinctly colored bead sets.

The bead mixture is incubated with the sample and the median fluorescence intensities detected on a Luminex instrument (32).

The enzymatic immunoassay ELISA - INNOTEST®[®] was used as a reference test for biological diagnosis. This is a solid-phase enzyme immunoassay in which the protein is captured by a monoclonal antibody. CSF samples are added and incubated with a biotinylated antibody, and then this antigen-antibody complex is detected. After addition of substrate working solution, samples develop a specific color. The color intensity is a measure for the amount of protein in the sample (33).

The cut-off points for ELISA - INNOTEST®[®] was based on Duits et al. work (34, 35): Aβ42 < 550 pg/ml, total tau (t-tau) > 375 pg/ml, phosphorylated tau (p-tau) > 52 pg/ml, ratio t-tau/Aβ42 > 0.52 and ratio p-tau/ Aβ42 > 0.08. Thus, we categorize patients into biological groups according to the AT(N) system (10): (1) normal AD biomarkers (A-T-N-), (2) Alzheimer's continuum (A+T(+/-)N(+/-) or (3) Non-AD pathologic change (A-T+N(+/-) or A-T-N+). Lastly, we compare each biomarker's results of ELISA and Luminex to assess the accuracy and define a possible cut-off for Millipore xMap®.

Statistical Analysis

Socio-demographic, comorbidities and biomarkers differences between clinical and biological groups were assessed using chi-square tests (with *p*-values chosen by MonteCarlo simulation), ANOVA and the Kruskal-Wallis tests for non-parametric variables. For multiple comparisons, we applied the Turkey method or the Nemenyi test with X square approximation. We analyzed compared variables based on both clinical and biological criteria. CSF biomarkers were log transformed. Pearson's linear correlation showed the strength of association between the same biomarker in the two methods.

Receiver Operating Characteristic (ROC) curves were plotted and areas under the curve (AUCs) were calculated for every biomarker and index, and the cut-off points of Luminex were established for the best combination of sensitivity and specificity.

We also applied the following precision measures: proportion of correct classifications, Youden index and the distance from the cutoff point to the top left of the ROC curve.

Finally, we calculate the power of the test using the `power.roc.test` function from the `pROC` package of the R software (36).

Statistical analyzes were performed using the R software (www.r-project.org).

RESULTS

We studied 35 elderly individuals, 11 without objective cognitive impairment, seven with probable ADD and 17 aMCI. The mean age was 72.63 years (SD 6.02), 82.85% were female, 5.27 years (3.38) of formal education and 42.85% had family history of dementia. The results were described considering clinical and biological criteria (based on results of Aβ42, p-tau and t-tau ELISA). Results of clinical and socio demographic variables are shown in Table 1. There were no statistically significant differences among groups regarding age, gender, years of formal education, family history of ADD. As expected, ADD had

TABLE 1 | Clinical and socio demographic characteristics according to baseline diagnosis clinical and biological.

Variables	Clinical diagnosis				Biological diagnosis			
	CG (11)	ADD (7)	aMCI (17)	p-value	Normal AD biomarkers (10)	Alzheimer's continuum (14)	Non-AD pathologic change (11)	p-value
Age (years)	70.82 (6.11)	77.0 (5.94)	72.0 (5.41)	0.084	71.10 (5.38)	74.14 (5.86)	72.09 (6.82)	0.458
Formal education (years)	6.18 (4.07)	4.14 (2.04)	5.15 (3.34)	0.594*	4.60 (1.35)	4.96 (4.35)	6.27 (3.29)	0.286*
Gender** (%) M/F	9.1/90.9	42.86/57.14	11.77/88.23	0.1784	20.0/80.0	21.43/78.57	9.1/90.90	0.7226
MMSE	26.18 (2.48)	19.29 (3.82)	22.76 (3.54)	0.002*	24.10 (3.11)	21.71 (4.55)	24.09 (3.94)	0.240*
Pfeffer	0.44 (0.73)	8.71 (4.82)	3.23 (2.59)	0.000*	2.43 (2.07)	4.62 (5.28)	3.33 (3.77)	0.690*
Parental ADD (%)**	36.36	57.14	41.12	0.7626	40.00	50.00	36.36	0.8351
Smoking (%)**	81.82	57.14	47.06	0.2149	60.00	57.14	63.64	0.1082
BMI	28.88 (4.81)	25.04 (4.40)	28.37(5.12)	0.240	30.42 (5.46)	26.70 (4.24)	27.03 (4.95)	0.156
Stroke (%)**	18.18	14.28	5.89	0.8081	20.00	14.28	0.00	0.4398
CAD (%)*	18.18	0.00	17.64	0.6822	20.00	14.28	9.09	0.5090
Diabetes mellitus (%)**	45.45	0.00	52.94	0.0615	50.00	28.57	45.45	0.5827
Dyslipidemia (%)**	63.63	42.85	52.94	0.7386	60.00	42.85	63.63	0.6192
Depressive symptoms (%)	18.18	71.42	70.59	0.0159	60.00	57.14	54.54	0.8256

*Kruskal-Wallis test.

**X-square test.

CG, individuals without objective cognitive impairment (control group); ADD, Alzheimer's disease dementia; aMCI, amnesic mild cognitive impairment; M, male, F, female; MMSE, Mini Mental State; BMI, body mass index; CAD, coronary arterial disease. Bold value means p values < 0.05.

TABLE 2 | Concentrations of biomarkers (A β 42, p-Tau, and t-Tau) by ELISA and xMAP in cerebrospinal fluid according to baseline diagnosis clinical and biological.

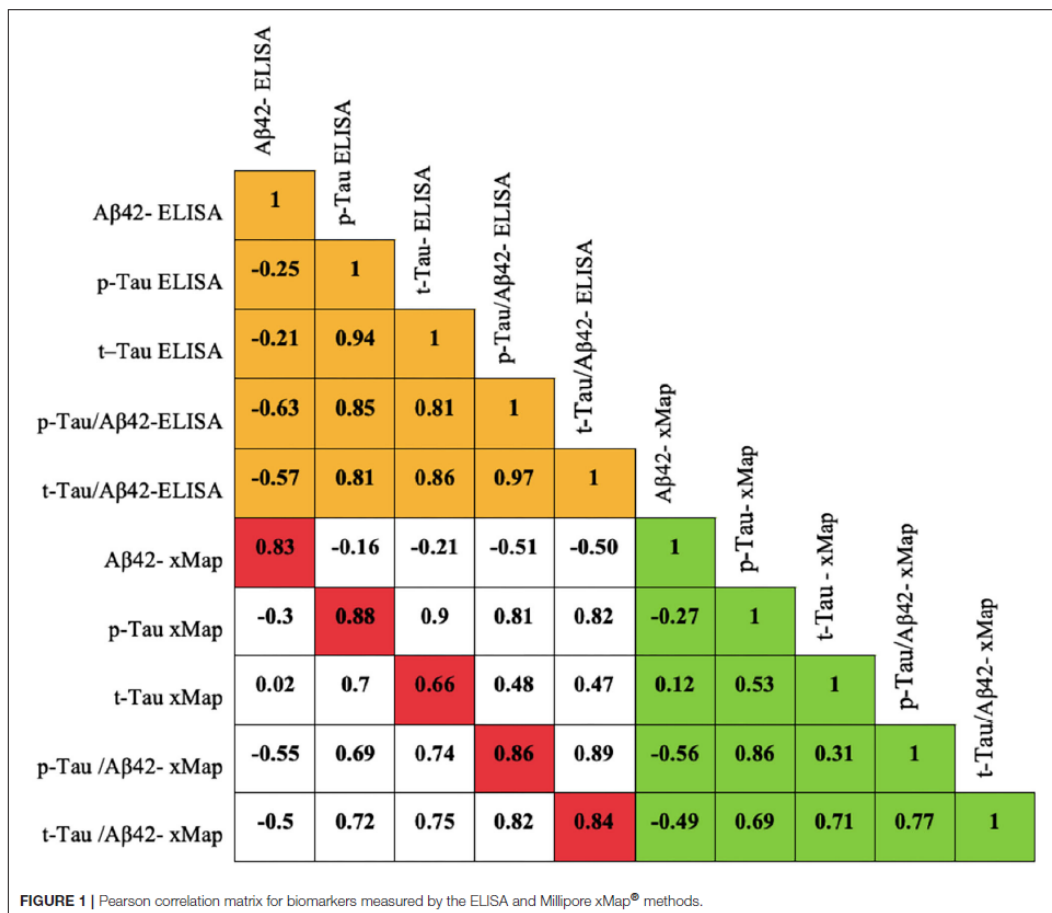
Variables	Clinical diagnosis				Biological diagnosis			
	CG (11)	ADD (7)	aMCI (17)	p-value	Normal AD biomarkers (10)	Alzheimer's continuum (14)	Non-AD pathologic change (11)	p-value
A β 42 ELISA	759.09 (280.93)	517.31 (54.49)	740.79 (314.64)	0.111	947.89 (245.20)	426.10 (85.26)	829.12 (240.47)	0.000
A β 42 xMap	1483.32 (692.25)	993.97 (756.84)	1195.14 (575.70)	0.148	1506.10 (584.88)	739.14 (180.66)	1652.98 (710.06)	0.000
p-TAU ELISA	57.29 (24.06)	88.28 (32.27)	51.90 (26.05)	0.018	38.64 (6.73)	67.51 (35.74)	72.92 (23.39)	0.007
p-TAU xMap	71.48 (32.33)	131.91 (46.07)	83.48 (52.60)	0.023*	58.09 (14.06)	99.54 (56.75)	104.93 (51.67)	0.043*
t-TAU ELISA	312.43 (129.43)	578.93 (227.31)	353.43 (212.64)	0.025	251.30 (67.16)	422.63 (249.17)	460.70 (207.33)	0.038
t-TAU xMap	4028.15 (2817.22)	5125.86 (2072.83)	4231.68 (2737.00)	0.410	2790.35 (792.89)	4269.01 (2680.45)	5859.96 (2708.46)	0.021
p-TAU/A β 42 ELISA	0.09 (0.05) ¹	0.20 (0.10) ^{1:5}	0.08 (0.05) ⁵	0.004	0.04 (0.01) ^a	0.16 (0.09) ^a	0.10 (0.05)	0.000
p-TAU/A β 42 xMap	0.06 (0.06) ²	0.18 (0.12) ^{2:6}	0.08 (0.07) ⁶	0.017	0.04 (0.02)	0.14 (0.10)	0.09 (0.08)	0.019
t-TAU/A β 42 ELISA	0.47 (0.28) ³	1.37 (0.77) ^{3:7}	0.54 (0.39) ⁷	0.003	0.27 (0.08)	1.02 (0.66)	0.63 (0.43)	0.000
t-TAU/A β 42 xMap	3.27 (3.19) ⁴	6.80 (3.81) ⁴	3.94 (2.65)	0.041	2.01 (0.76)	5.97 (3.59)	4.27 (3.06)	0.002

*Kruskal-Wallis test. Multiple comparison: ¹p = 0.014; ²p = 0.0158; ³p = 0.0039; ⁴p = 0.0315; ⁵p = 0.0037; ⁶p = 0.0415; ⁷0.056. ^ap = 0.000. CG, individuals without objective cognitive impairment-control group; ADD, Alzheimer's disease dementia; aMCI, amnesic mild cognitive impairment. Bold value means p values < 0.05.

significantly lower MMSE and higher Pfeffer scores. Also, ADD, and aMCI subjects had significantly more depressive symptoms. These differences were not present between the groups by biological criteria. There was 85.7% of agreement between the clinical and biological diagnosis of ADD.

Results of CSF biomarkers are shown in Table 2. We observed that the p-Tau/A β 42 ratio and t-Tau/A β 42 ratio had

significant differences between clinical criteria groups in both tests, although, there were no statistically significant differences for A β 42 alone. This difference was observed between CG and ADD groups for both ratios, and aMCI and ADD for p-Tau/A β 42. For biological groups, we found significant differences in all biomarkers for both techniques (except for A β 42 by ELISA and Luminex and t-Tau by Luminex), particularly for ratio.



INNOTEST® and Millipore xMap® measurements showed strong correlations for the same biomarker. All correlations were >0.8, except for t-Tau, indicating a strong linear association between the results of each biomarker (Figure 1).

The ROC curve analyses using xMap® showed a good diagnostic accuracy for all biomarkers (Figure 2). The highest area under the curve was 0.952 for Aβ42 (sensitivity = 100% and specificity = 85.7%) at the optimal cutoff of 1012.98 pg/ml (Figure 2). This cutoff was determined by the best Youden Index and the distance to the top-left corner of the ROC curve, and so, it maximized the proportion of correct classifications (Table 3). It is important to notice that only t-Tau cutoff did not meet both criteria. In this case, we considered the cutoff 3251.81 pg/ml, based in Youden index, once it had the best sensitivity (Table 3, Figure 2).

The lowest AUC value (area under the ROC curve) obtained for the biomarkers considered was 0.80 (for t-Tau). With

the sample sizes considered in the study, and considering a significance level of 5%, the power of the test, was at least 0.90.

DISCUSSION

In this study, we observed that the Millipore xMap® is an accurate diagnostic test, and it shows high concordance with results of INNOTEST®. Furthermore, it can rightly discriminate between ADD and elderly without objective cognitive impairment, although, it cannot differentiate from patients with aMCI.

Nowadays, the use of biomarkers has been encouraged as they are likely to play a role in the early diagnosis of AD, differential diagnosis of dementias, treatment and monitoring of new disease-modifying drug (37). AD biomarkers are mainly measured in the CSF and through molecular neuroimaging with PET-CT. Several studies that compared CSF AD biomarkers

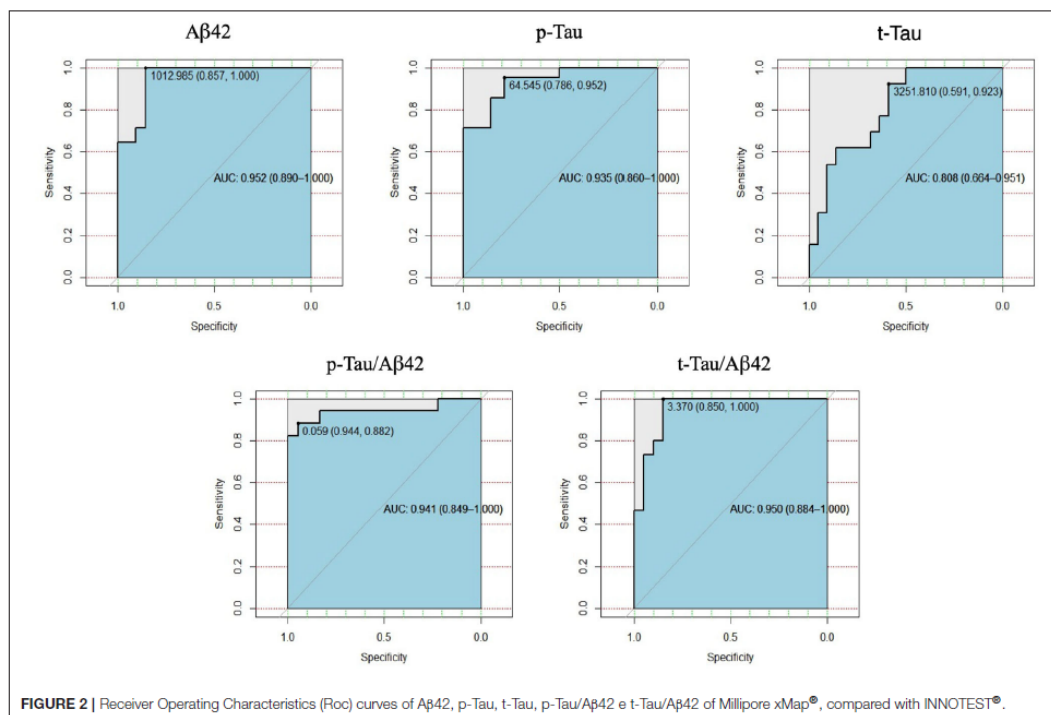


TABLE 3 | Optimal cut-off of A β 42, p-Tau, t-Tau, p-Tau/A β 42, and t-Tau/A β 42 by Millipore xMap[®], with their respective values of sensitivity, specificity, precision measurements and area below the ROC curve.

Biomarker	Cut-off	Sensitivity	Specificity	Proportion of correct classifications	Youden index	Distance to the top-left corner	AUC
A β 42	1012.98	1.000	0.857	0.9143	1.8571	0.0204	0.952
p-Tau	64.540	0.952	0.786	0.8857	1.7381	0.0482	0.935
t-Tau	3251.810	0.923	0.591	0.7143	1.5140	0.1743	0.808
p-Tau/A β 42	0.0595	0.882	0.944	0.9143	1.8268	0.0169	0.941
t-Tau/A β 42	3.370	1.000	0.850	0.9143	1.8500	0.0225	0.950

showed high concordance between amyloid PET (38) with both ELISA and Luminex (39, 40). Some of them indicated CSF biomarkers can detect cerebral amyloid- β accumulation earlier than PET (41). Similar findings have been reported for Tau biomarkers, with moderate association between CSF and PET biomarkers (42). Finally, it is important to notice that lumbar puncture is a well-know, safe, accessible and easy procedure, while PET-CT is an expensive technology, rarely available, which depends on specific substrates, in addition to skilled professionals for manipulate the equipment and interpretation of the results. Thus, in most low and middle-income countries, CSF biomarkers are more cost-effective procedures (43).

ELISA and Luminex are the most used CSF biomarkers techniques, but these techniques generate different absolute measures for CSF A β 42 (38). Several reports showed good correlation between them (19–22). Applying the Milliplex xMap[®], we observed higher levels of all biomarkers than INNOBIA ALZBIO3[®] and INNOTEST[®]. However, measurements of each biomarkers followed the expected trend: reduction of A β 42 and increase of t-Tau and p-Tau in patients with ADD compared to cognitively intact controls. Also, the strong correlation found between both methods reinforces the consistency of our results with previous clinical studies.

It is important to notice that biomarker levels and cutoff values are still a matter of debate in the literature. More than 10% of individuals without cognitive impairment may have positive CSF AD biomarkers, especially after 60 years-old (44). In a large cohort of healthy control subjects study, 42% of subjects over 50-years-old had abnormal CSF A β 42, particularly for APOE4 carriers, and t-Tau and p-Tau increased from the sixth decade of life independent of APOE4. It is expected that frequency of both positive biomarkers (amyloid and neurodegeneration) increases to 28% at 85 years (45). In this context, some authors suggest there should be an age-adjusted cut-off for t-tau biomarker (46). On the other hand, Toledo et al. (45) argued these changes most likely represent an increase in frequency of preclinical AD, and therefore, they considered the cut-off should not be adjusted based on age. Lastly, members of the Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative (ABSI) suggested the use of a "gray zone" defined as a 10% increment of the cutoff value in the case of t-Tau and p-Tau or a 10% decrement of A β 42 (47).

Another way to improve accuracy of biomarkers is through the use of ratios. Several studies have attempted to establish mathematical formulas to improve diagnostic accuracy. Duits et al. (34) suggested that using the ratio t-Tau/A β 42 for ELISA assays performed as good as complex regression formulas, and it recommended applying this rate for differentiating AD patients from other dementia (34). Furthermore, it has been suggested that the ratio could be used not only for differential diagnosis of dementia but also for identifying MCI that will convert to ADD (48, 49). In our study we found p-Tau/A β ratio was able to differentiate between patients with ADD and cognitively intact controls, and ADD and aMCI, for both technologies.

Finally, plasma AD biomarkers represent a more convenient and less invasive alternative to CSF biomarkers. Previous studies showed plasma p-tau181 (50, 51), p-tau217 (52, 53), and p-tau231 (54) isoforms can correctly diagnose and predict AD in large studies. However, this is currently a very expensive technology and, unfortunately, it is not available in low and middle-income countries, where million people are living with dementia."

We found an association between depressive and cognitive symptoms in the clinical diagnostic group. However, we did not observe it in the biological criteria. Neuropsychiatric symptoms are very common in dementia syndromes and often precede cognitive symptoms (55). A meta-analysis estimated depression affects almost 30% of persons with MCI, with higher prevalence in memory clinics (56). Some studies suggested depressive symptoms in late life increases the risk for dementia and may even be a prodromal feature of ADD (57). Furthermore, some studies demonstrated a link between depressive symptoms and A β deposition, suggesting that higher neuropsychiatric symptoms are associated with higher A β and cognitive decline in individuals with cognitive impairment over time (58). However, this evidence was not consistent across studies (59).

The main limitations of this study were a relatively small sample. However, sample size proved to be adequate to test the hypothesis under study. Besides, It is not very different from other studies (16). Furthermore, as the definite diagnosis of AD can only be made at autopsy, there is no true gold standard test for determining whether A β burden is normal or abnormal *in*

vivo (60). Of the current available methods, we considered ELISA as gold standard because it is the most used test in research and clinical settings, and it is highly correlated with PET and histopathologic results (14, 38).

It is important to notice that dementia incidence and prevalence are expected to increase in low and middle-income countries, especially in Latin America. Therefore, there is a need for affordable and cost-effective biomarkers tests for AD in these countries. Luminex kits are approximately half of the cost of ELISA kits, and has a semi-automated and multiple analyte processing, analyzing both A β and Tau proteins in the same sample. Therefore, this may represent a scalability advantage of Luminex in a more cost-effective manner.

In conclusion, the use of Milliplex Map as well as other Luminex alternatives may be a suitable technology with good accuracy and cost-effectiveness for clinical and research scenarios, especially for low and middle-income countries. To the best of our knowledge, this is the first study to explore the use of this assay in older adults and to compare it with the current most used technique. Nevertheless, it is important to notice that more research is needed to better understand the limitations and advantages of the Milliplex Map® in different clinical and research scenarios.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

ETHICS STATEMENT

The studies involving human participants were reviewed and approved by Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais - CAAE 79354317.1.0000.5149. The patients/participants provided their written informed consent to participate in this study.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

EH, ND, IB, BV, and MB designed the study, collected the data, analyzed the data, interpreted the data, and wrote the manuscript. IB, LS, and DR processed the samples. MC performed the neuropsychological evaluations. AR performed the statistical analysis. AC, AT, and IB analyzed the data and interpreted the data. All authors revised the manuscript and approved it for submission.

FUNDING

The study was supported by CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) - 436735/2018-0, 309953/2018-9, 474208/2013-3; and FAPEMIG (Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais) - CDS - APQ-04706-10.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the students of the CECiDa-LabEst Extension Project - free consultancy in Statistical Analysis (Institute

of Exact Sciences - Department of Statistics - UFMG), for all the help with statistical. We thank Marco Aurelio Fagundes Angelo and all the other anesthesiologists- who

contributed to the lumbar puncture. We thank Rafaela Ávila and all the other neuropsychologists - who performed neuropsychological assessment.

REFERENCES

- Patterson C. *World Alzheimer Report 2018: the State of the Art of Dementia Research: New Frontiers*. London: Alzheimer's Disease International (2018). Available online at: <https://www.alzint.org/u/WorldAlzheimerReport2018.pdf> (accessed April 15, 2021).
- Livingston G, Sommerlad A, Orgeta V, Costafreda S, Huntley J, Ames D, et al. Dementia prevention, intervention, and care. *Lancet*. (2017) 390:2673–2734. doi: 10.1016/S0140-6736(17)31363-6
- Prince M, Wimo AGM, Ali GC, Wu YT, Prina M. *World Alzheimer Report 2015: the global impact of dementia: an analysis of prevalence, incidence, cost and trends*. London: Alzheimer's Disease International (2015). Available online at: <https://www.alzint.org/u/WorldAlzheimerReport2015.pdf> (accessed April 15, 2021).
- Alzheimer's Disease International. *ADI/Bupa report: Dementia in the Americas: Current and future cost and prevalence of Alzheimer's disease and other dementias*. London: Alzheimer's Disease International (2013). Available online at: <https://www.alzint.org/u/dementia-in-the-americas-ENGLISH.pdf> (accessed April 15, 2021).
- Alzheimer's Association. 2021 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement*. (2021) 17:327–406. doi: 10.1002/alz.12328
- Masters C, Bateman R, Blennow K, Rowe C, Sperling R, Cummings J. Alzheimer's disease. *Nat Rev Dis Primers*. (2015) 1:1–18. doi: 10.1038/nrdp.2015.56
- Knopman D, DeKosky S, Cummings J, Chui H, Corey-Bloom J, Relkin N, et al. Practice parameter: diagnosis of dementia (an evidence-based review). Report of the quality standards subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. (2001) 56:1143–53. doi: 10.1212/WNL.56.9.1143
- Jack C, Bennett D, Blennow K, Carrillo M, Dunn B, Haeberlein S, et al. NIA-AA research framework: toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. (2018) 14:535–62. doi: 10.1016/j.jalz.2018.02.018
- Jack C, Bennett D, Blennow K, Carrillo M, Feldman H, Frisoni G, et al. A/T/N: an unbiased descriptive classification scheme for Alzheimer disease biomarkers. *Neurology*. (2016) 87:539–47. doi: 10.1212/WNL.0000000000002923
- Sperling R, Aisen P, Beckett L, Bennett D, Craft S, Fagan A, et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. (2011) 7:280–92. doi: 10.1016/j.jalz.2011.03.003
- Olsson B, Lautner R, Andreasson U, Öhrfelt A, Portelius E, Bjerke M, et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol*. (2016) 15:673–84. doi: 10.1016/S1474-4422(16)00070-3
- Leitão M, Silva-Spinola A, Santana I, et al. Clinical validation of the Lumipulse G cerebrospinal fluid assays for routine diagnosis of Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*. (2019) 11:91. doi: 10.1186/s13195-019-0550-8
- Bittner T, Zetterberg H, Teunissen C, Ostlund R, Militello M, Andreasson U, et al. Technical performance of a novel, fully automated electrochemiluminescence immunoassay for the quantitation of β -amyloid (1-42) in human cerebrospinal fluid. *Alzheimers Dement*. (2016) 12:517–26. doi: 10.1016/j.jalz.2015.09.009
- Leuzy A, Ashton N, Mattsson-Carlgren N, Dodich A, Boccardi M, Corre J, et al. 2020 update on the clinical validity of cerebrospinal fluid amyloid, tau, and phospho-tau as biomarkers for Alzheimer's disease in the context of a structured 5-phase development framework. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. (2021) 48:2121–39. doi: 10.1007/s00259-021-05258-7
- Veerabhadrapa B, Delaby C, Hirtz C, Vialaret J, Alcolea D, Lleó A, et al. Detection of amyloid beta peptides in body fluids for the diagnosis of alzheimer's disease: where do we stand? *Crit Rev Clin Lab Sci*. (2020) 57:99–113. doi: 10.1080/10408363.2019.1678011
- Herskovits A, Locascio J, Peskind E, Li G, Hyman B. A Lumindex assay detects amyloid β oligomers in Alzheimer's disease cerebrospinal fluid. *PLoS ONE*. (2013) 8:e67898. doi: 10.1371/journal.pone.0067898
- Kang J, Vanderstichele H, Trojanowski J, Shaw L. Simultaneous analysis of cerebrospinal fluid biomarkers using microsphere-based xMAP multiplex technology for early detection of Alzheimer's disease. *Methods*. (2012) 56:484–93. doi: 10.1016/j.ymeth.2012.03.023
- Kollhoff A, Howell J, Hu W. Automation vs. experience: measuring Alzheimer's beta-amyloid 1-42 peptide in the CSF. *Front Aging Neurosci*. (2018) 10:253. doi: 10.3389/fnagi.2018.00253
- Le Bastard N, Coart E, Vanderstichele H, Vanmechelen E, Martin J, Engelborghs S. Comparison of two analytical platforms for the clinical qualification of Alzheimer's disease biomarkers in pathologically-confirmed dementia. *J Alzheimers Dis*. (2013) 33:117–31. doi: 10.3233/JAD-2012-121246
- Fagan AM, Shaw LM, Xiong C, Vanderstichele H, Mintun MA, Trojanowski JQ, et al. Comparison of analytical platforms for cerebrospinal fluid measures of β -Amyloid 1-42, Total tau, and P-tau181 for identifying Alzheimer disease amyloid plaque pathology. *Arch Neurol*. (2011) 68:1137–44. doi: 10.1001/archneurol.2011.105
- Irwin DJ, McMillan CT, Toledo JB, Arnold SE, Shaw LM, Wang L-S, et al. Comparison of cerebrospinal fluid levels of Tau and A β 1-42 in Alzheimer Disease and frontotemporal degeneration using 2 analytical platforms. *Arch Neurol*. (2012) 69:1018–25. doi: 10.1001/archneurol.2012.26
- Wang L-S, Leung YY, Chag S-K, et al. Comparison of xMAP and ELISA assays for detecting cerebrospinal fluid biomarkers of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. (2012) 31:439–45. doi: 10.3233/JAD-2012-120082
- Vieira R, Ávila R, de Paula J, Cintra M, de Souza R, Nicolato R, et al. Association between DCHS2 gene and mild cognitive impairment and Alzheimer's disease in an elderly Brazilian sample. *Int J Geriatr Psychiatry*. (2016) 31:1337–44. doi: 10.1002/gps.4440
- Folstein M, Folstein S, McHugh P. "Mini-mental state": A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. (1975) 12:129–138. doi: 10.1016/0022-3956(75)90026-6
- Mattis S. Dementia rating scale. *Professional Manual*. Florida, FL: Psychological Assessment Resources. (1988)
- Morris J. The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. *Neurology*. (1993) 43:2412–4. doi: 10.1212/WNL.43.11.2412-a
- Cummings J, Mega M, Gray K, Rosenberg-Thompson S, Carusi D, Gornbein J. The Neuropsychiatric Inventory: comprehensive assessment of psychopathology in dementia. *Neurology*. (1994) 44:2308–14. doi: 10.1212/WNL.44.12.2308
- Pfeiffer R, Kurosaki T, Harrah C, Chance J, Filos S. Measurement of functional activities in older adults in the community. *J Gerontol*. (1982) 37:323–9. doi: 10.1093/geronj/37.3.323
- de Paula J, Bertola L, Ávila R, Moreira L, Coutinho G, de Moraes E, et al. Clinical applicability and cutoff values for an unstructured neuropsychological assessment protocol for older adults with low formal education. *PLoS ONE*. (2013) 18:e73167. doi: 10.1371/journal.pone.0073167
- McKhann G, Knopman D, Chertkow H, Hyman B, Jack C, Kawas C, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. (2011) 7:263–9. doi: 10.1016/j.jalz.2011.03.005
- American Psychiatric Association. *Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-5*. 5th ed. Porto Alegre: Artmed (2014).
- Angeloni S, Das S, Dunbar S, Stone V, Swift S. *xMap Cookbook: A Collection of methods and protocols for developing multiplex assays with xMAP Technology*. (2018). Available online at: <https://info.luminexcorp.com/en-us/research/download-the-xmap-cookbook> (accessed April 25, 2021).
- Vanderstichele H, De Vreese K, Blennow K, Andreasen N, Sindic C, Ivanov A, et al. Analytical performance and clinical utility of the INNOTEST

- PHOSPHO-TAU181P assay for discrimination between Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies. *Clin Chem Lab Med.* (2006) 44:1472–80. doi: 10.1515/CCLM.2006.258
34. Duits F, Teunissen C, Bouwman F, Visser P, Mattsson N, Zetterberg H, et al. The cerebrospinal fluid "Alzheimer profile": easily said, but what does it mean? *Alzheimer's & Dementia.* (2014) 10:713–23.e2. doi: 10.1016/j.jalz.2013.12.023
 35. Mulder C, Verwey N, van der Flier W, Bouwman F, Kok A, van Elk E, et al. Amyloid-beta(1-42), total tau, and phosphorylated tau as cerebrospinal fluid biomarkers for the diagnosis of Alzheimer disease. *Clin Chem.* (2010) 56:248–53. doi: 10.1373/clinchem.2009.130518
 36. Robin X, Turck N, Hainard A, Tiberti N, Lisacek F, Sanchez J-C, et al. pROC: an open-source package for R and S+ to analyze and compare ROC curves. *BMC Bioinform.* (2011) 12:77. doi: 10.1186/1471-2105-12-77
 37. Khoury R, Ghossoub E. Diagnostic biomarkers of Alzheimer's disease: a state-of-the-art review. *Biomarkers Neuropsychiatry.* (2019) 1:100005. doi: 10.1016/j.bionps.2019.100005
 38. Blennow K, Mattsson N, Schödl M, Hansson O, Zetterberg H. Amyloid biomarkers in Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol Sci.* (2015) 36:297–309. doi: 10.1016/j.tips.2015.03.002
 39. Landau S, Lu M, Joshi A, Pontecorvo M, Mintun M, Trojanowski J, et al. Comparing positron emission tomography imaging and cerebrospinal fluid measurements of β -amyloid. *Ann Neurol.* (2013) 74:826–36. doi: 10.1002/ana.23908
 40. Palmqvist S, Zetterberg H, Blennow K, Vestberg S, Andreasson U, Brooks D, et al. Accuracy of brain amyloid detection in clinical practice using cerebrospinal fluid β -amyloid 42: a cross-validation study against amyloid positron emission tomography. *JAMA Neurol.* (2014) 71:1282–9. doi: 10.1001/jamaneurol.2014.1358
 41. Palmqvist S, Mattsson N, Hansson O. Cerebrospinal fluid analysis detects cerebral amyloid- β accumulation earlier than positron emission tomography. *Brain.* (2016) 139(Pt. 4):1226–36. doi: 10.1093/brain/aww015
 42. Mattsson N, Schödl M, Strandberg O, Smith R, Palmqvist S, Insel P, et al. 18 F-AV-1451 and CSF T-tau and P-tau as biomarkers in Alzheimer's disease. *EMBO Mol Med.* (2017) 9:1212–23. doi: 10.15252/emmm.201707809
 43. Grøntvedt G, Lauridsen C, Berge G, White L, Salvesen Ø, Bråthen G, et al. The Amyloid, Tau, and Neurodegeneration (A/T/N) classification applied to a clinical research cohort with long-term follow-up. *J Alzheimers Dis.* (2020) 74:829–37. doi: 10.3233/JAD-191227
 44. Shaw L, Arias J, Blennow K, Galasko D, Molinuevo J, Salloway S, et al. Appropriate use criteria for lumbar puncture and cerebrospinal fluid testing in the diagnosis of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* (2018) 14:1505–21. doi: 10.1016/j.jalz.2018.07.220
 45. Toledo JB, Zetterberg H, van Harten AC, Glodzik L, Martinez-Lage P, Bocchio-Chiavetto L, et al. Alzheimer's disease cerebrospinal fluid biomarker in cognitively normal subjects. *Brain.* (2015) 138(Pt. 9):2701–15. doi: 10.1093/brain/awv199
 46. Sjögren M, Vanderstichele H, Agren H, Zachrisson O, Edsbacke M, Wikkelso C, et al. Tau and Abeta42 in cerebrospinal fluid from healthy adults 21–93 years of age: establishment of reference values. *Clin Chem.* (2001) 47:1776–81. doi: 10.1093/clinchem/47.10.1776
 47. Molinuevo J, Blennow K, Dubois B, Engelborghs S, Lewczuk P, Perret-Liaudet A, et al. The clinical use of cerebrospinal fluid biomarker testing for Alzheimer's disease diagnosis: a consensus paper from the Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative. *Alzheimers Dement.* (2014) 10:808–17. doi: 10.1016/j.jalz.2014.03.003
 48. de Souza L, Lamari F, Belliard S, Jardel C, Houillier C, De Paz R, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers in the differential diagnosis of Alzheimer's disease from other cortical dementias. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* (2011) 82:240–6. doi: 10.1136/jnnp.2010.207183
 49. Santangelo R, Masserini F, Agosta F, Sala A, Caminiti S, Cecchetti G, et al. CSF p-tau/A β 42 ratio and brain FDG-PET may reliably detect MCI "imminent" converters to AD. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* (2020) 47:3152–64. doi: 10.1007/s00259-020-04853-4
 50. Karikari TK, Benedet al, Ashton NJ, Rodriguez JL, Snellman A, Suarez-Calvet M, et al. Diagnostic performance and prediction of clinical progression of plasma phospho-tau181 in the Alzheimer's disease neuroimaging initiative. *Mol Psychiatry.* (2021) 26:429–42. doi: 10.1038/s41380-020-00923-z
 51. Moscoso A, Grothe MJ, Ashton NJ, Karikari TK, Rodriguez JL, Snellman A, et al. Longitudinal associations of blood phosphorylated Tau181 and neurofilament light chain with neurodegeneration in Alzheimer disease. *JAMA Neurol.* (2021) 78:396–406. doi: 10.1001/jamaneurol.2020.4986
 52. Palmqvist S, Janelidze S, Quiroz YT, Zetterberg H, Lopera F, Stomrud E, et al. Discriminative accuracy of plasma phospho-tau217 for Alzheimer Disease vs other neurodegenerative disorders. *JAMA.* (2020) 324:772–81. doi: 10.1001/jama.2020.12134
 53. Palmqvist S, Tideman P, Cullen N, Zetterberg H, Blennow K, Dage JL et al. Prediction of future Alzheimer's disease dementia using plasma phospho-tau combined with other accessible measures. *Nat Med.* (2021) 27:1034–42. doi: 10.1038/s41591-021-01348-z
 54. Ashton NJ, Pascoal TA, Karikari TK, Benedet al, Lantero-Rodriguez J, Brinkmalm G, et al. Plasma p-tau231: a new biomarker for incipient Alzheimer's disease pathology. *Acta Neuropathol.* (2021) 141:709–24. doi: 10.1007/s00401-021-02275-6
 55. Wise E, Rosenberg P, Lyketos C, Leoutsakos J. Time course of neuropsychiatric symptoms and cognitive diagnosis in National Alzheimer's Coordinating Centers volunteers. *Alzheimers Dement.* (2019) 11:333–9. doi: 10.1016/j.jad.2019.02.006
 56. Ismail Z, Fischer CE, Hogan DB, Millikin CP, Schweizer T, Mortby ME, et al. Prevalence of depression in patients with mild cognitive impairment: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Psychiatry.* (2017) 74:58–67. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2016.3162
 57. Singh-Manoux A, Dugravot A, Fournier A, Abell J, Ebmeier K, Kivimäki M, et al. Trajectories of depressive symptoms before diagnosis of dementia: a 28-year follow-up study. *JAMA Psychiatry.* (2017) 74:712–8. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2017.0660
 58. Ng K, Chiew H, Rosa-Neto P, Kandiah N, Ismail Z, Gauthier S. Associations of AT(N) biomarkers with neuropsychiatric symptoms in preclinical Alzheimer's disease and cognitively unimpaired individuals. *Transl Neurodegener.* (2021) 10:11. doi: 10.1186/s40035-021-00236-3
 59. Donovan N, Hsu D, Dagle A, Schultz A, Amariglio R, Mormino E, et al. Depressive symptoms and biomarkers of Alzheimer's disease in cognitively normal older adults. *J Alzheimers Dis.* (2015) 46:63–73. doi: 10.3233/JAD-142940
 60. Lantero Rodriguez J, Karikari T, Suarez-Calvet M, Troakes C, King A, Emersic A, et al. Plasma p-tau181 accurately predicts Alzheimer's disease pathology at least 8 years prior to post-mortem and improves the clinical characterisation of cognitive decline. *Acta Neuropathol.* (2020) 140:267–78. doi: 10.1007/s00401-020-02195-x

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Copyright © 2021 Hansen, Dias, Burgos, Costa, Carvalho, Teixeira, Barbosa, Santos, Rosa, Ribeiro, Viana and Bicalho. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Artigo 3 – Higher IL-6 and IL-4 plasma levels in depressed elderly women are influenced by diabetes mellitus

O artigo *Higher IL-6 and IL-4 plasma levels in depressed elderly women are influenced by diabetes mellitus* foi submetido para publicação em 11 de janeiro de 2022 na revista Trends in Psychiatry and Psychotherapy e está em fase de revisão.

Trends in Psychiatry and Psychotherapy

Trends

in Psychiatry and Psychotherapy

Higher IL-6 and IL-4 plasma levels in depressed elderly women are influenced by diabetes mellitus

Journal:	<i>Trends in Psychiatry and Psychotherapy</i>
Manuscript ID:	TRENDS-2022-0466.R1
Manuscript Type:	Brief Communication
Date Submitted by the Author:	27-May-2022
Complete List of Authors:	Dias, Natália ; Universidade Federal de Minas Gerais Teixeira, Antônio Lúcio; UHealth; Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte Sattler, Breno ; University of Toronto, Faculty of Medicine; Centre for Addiction and Mental Health, Geriatric Psychiatry Division Vieira, Érica ; Universidade Federal de Minas Gerais, Laboratório Interdisciplinar de Investigações Médicas Viana, Bernardo; Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Psiquiatria Guimarães, Izabela; Universidade Federal de Minas Gerais
Keyword:	female, cytokines, inflammation, major depressive disorder, diabetes mellitus, elderly

SCHOLARONE™
Manuscripts

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1. Introduction

Since the early 1990s, depressive disorders have been associated with altered circulating levels of inflammatory markers, such as interleukin (IL) – 6 and tumor necrosis factor (TNF)⁽¹⁻³⁾. This is a matter still on debate with recent findings confirming the association of altered cytokine levels and MDD⁽⁴⁻⁶⁾. There is also evidence of T helper (Th) 1/Th2 cytokine imbalance⁽⁷⁻¹⁰⁾, with higher Th1/Th2 ratios in depressed patients when compared to controls.

There is emerging literature on inflammatory/immune dysfunction in older adults with depressive disorders⁽¹¹⁻¹⁷⁾. However, most of the literature failed to control the role played by medical comorbidities on increasing inflammatory mediators^(18, 19). This is an important issue as depressive disorders are frequently associated with comorbidities that are common in the elderly population and that are linked to inflammation, such as type 2 diabetes mellitus (DM2)⁽²⁰⁾ and cardiovascular diseases⁽²¹⁾. Depressive disorders are even associated with dementia as a risk factor or as prodrome⁽²²⁾ and inflammatory mechanisms probably underly this association⁽²³⁾.

The present study aimed to investigate a set of cytokines in female elderly patients with major depressive disorder (MDD) compared to controls, exploring potential associations with clinical parameters, including medical comorbidities.

2. Methods

2.1. Subjects

This cross-sectional study consecutively included 60-year old or older female subjects evaluated at the Psychogeriatrics Outpatient Clinic at the Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil. Twenty-five female patients with acute MDD were included. Nineteen age-matched female controls from an ongoing cohort study of cognitive healthy aging at the Federal University of Minas Gerais were included.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

30 All participants were clinically evaluated with the Mini-International Neuropsychiatric Interview (MINI – Plus)⁽²⁴⁾. The severity of depressive symptoms was assessed by the
31 Hamilton Depressive Rating Scale 17-item version (HAM-D)⁽²⁵⁾. Participants were
32 excluded if neuropsychological evaluation suggested dementia (scores lower than two
33 standard deviation in two or more cognitive domain). The neuropsychological battery was
34 comprised by the following tests: Mattis Dementia Rating Scale⁽²⁶⁾, Digit Span Forward
35 and Backward⁽²⁷⁾, Five Digits⁽²⁸⁾, Rey Auditory-Verbal Learning Test (RAVLT)⁽²⁹⁾,
36 Verbal Phonemic Fluency⁽³⁰⁾, Frontal Assessment Battery (FAB)⁽³¹⁾, Taylor's Complex
37 Figure Simplified⁽³²⁾, Corsi's Cubes⁽³³⁾, Clock Drawing Test⁽³⁴⁾, Stick Design Test⁽³⁵⁾,
38 Laboratory of Neuropsychological Investigations Naming Test⁽³⁶⁾ and Pfeffer's
39 Functionality Scale⁽³⁷⁾. Participants were also excluded if they presented mood disorders
40 due to general medical conditions, other psychiatric conditions (except nicotine
41 dependence), infectious or active autoimmune diseases or if they were using illicit drugs
42 or presented alcohol abuse. In addition, participants who had used corticosteroids, anti-
43 inflammatory or antibiotics in the four weeks prior to the study were excluded. Controls
44 could not present any psychiatric disorder or use antidepressant drugs.

46 Written informed consent was obtained from all participants. The local institutional ethics
47 committee approved the study, which is in accordance with the Helsinki Declaration of
48 1975.

50 2.2. Samples

51 Four milliliters of blood were drawn from each participant by venipuncture into
52 ethylenediamine tetra acetic acid (EDTA) tube between 8 am and 11 am on the same day
53 of the clinical assessment. Blood was immediately centrifuged at 3000rpm, 4°C for
54 15min. Plasma was collected and stored at -80°C until assayed.

55 Plasma levels of IL-6, IL-4, IL-10, IFN- γ and TNF- α were measured by Luminex,
56 according to the procedures supplied by the kit HCYTOMAG-60k manufacturer (Merck
57 Millipore, Darmstadt, Germany). Detection limits were defined at 0.9 pg/mL for IL-6, 4.5
58 pg/mL for IL-4, 1.1 pg/mL for IL-10, 0.8 pg/mL for IFN- γ and 0.7 pg/mL for TNF- α .

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

60 2.3. Data analysis and statistical evaluation

61 Dichotomous variables were assessed by chi-square test or Fisher's exact test when the
62 number of cases was ≤ 5 or less than 20% of the group. Non-parametric distribution was
63 considered for continuous variables and they were assessed by *UMann-Whitney* test. The
64 results were presented as medians and interquartile range. IL-4, IL-6, DM2,
65 cardiovascular diseases, hypothyroidism and age were tested as explanatory /independent
66 variables in logistic regression model. Variables were included if $p < 0.20$ in univariate
67 analyses. The dichotomous groups "depression" and "control" were the dependent
68 variables. *Odds ratio* was calculated for statistically significant explanatory/independent
69 variable identified. Omnibus Test of Model Coefficients was used to check if the final
70 model is an improvement over the baseline model. Cox-Snell R. Square considered the
71 model percentage of explanation. Statistical tests were two-tailed, considering a
72 significance level of < 0.05 . Statistical analyses were performed using SPSS software
73 version 22.0.

74

75 3. Results

76 Demographic and clinical features of all participants are shown in the table 1. Patients
77 with MDD did not differ from controls in the frequency of cardiovascular diseases and
78 hypothyroidism ($p=0.180$ and $p=1.00$, respectively). Patients with MDD presented higher
79 frequency of DM2 ($p=0.04$).

80 Cytokine plasma levels in patients and controls are also shown in the table 1. Patients had
81 higher IL-6 ($p=0.02$) and IL-4 ($p=0.01$) plasma levels when compared to controls. There
82 were no significant differences between patients and controls in plasma levels of TNF- α
83 ($p=0.188$), IFN- γ ($p=0.090$) and IL-10 ($p=0.180$). Patients' ratios (TNF- α /IL-10 and IFN-
84 γ /IL-4) did not differ from control ratios ($p=0.78$ and $p=0.70$, respectively).

85 Ten patients were using antidepressant drugs: three of them were using tricyclic
86 antidepressant drug and seven of them were using selective serotonin reuptake inhibitor
87 (SSRI) drug. There were no significant differences between patients using antidepressants
88 and those not using these drugs in the plasma levels of IL-6 ($p=0.311$), IL-4 ($p=0.723$),
89 TNF- α ($p=0.892$), IFN- γ ($p=0.605$) and IL-10 ($p=0.723$).

1
2
3
4 90 In the logistic regression model of potential predictors of MDD, no inflammatory markers
5 91 tested [IL-4 ($p=0.62$) and IL-6 ($p=0.29$)] or other variables [cardiovascular diseases
6 92 ($p=0.71$), hypothyroidism ($p=0.39$) or age ($p=0.05$)] remained associated with MDD,
7
8 93 other than DM2 (OR= 6.54; CI95%= 1.06-57.08; B=2.05 ± 1.01; $p=0.03$). Omnibus test
9
10 94 showed that the final model was significantly better fit than the baseline model ($p=0.015$),
11
12 95 indicating that the accuracy of the model improved when the explanatory variable was
13
14 96 added.

97

98 4. Discussion

19
20
21
22 99 In the current study, female elderly patients with MDD exhibited increased levels of
23
24 100 immune mediators but, after adjusting for confounding factors, they were no longer
25
26 101 associated with MDD.

27
28 102 We found higher levels of IL-6 in female elderly patients with MDD compared to
29
30 103 controls. IL-6 has been implicated in depressive disorders pathophysiology as well as in
31
32 104 prognosis and therapeutic response to antidepressants⁽³⁸⁾. We also found an increase in
33
34 105 IL-4 in patients with MDD, which agrees with previous evidence showing a Th2 skewed
35
36 106 response in MDD⁽³⁹⁾. However, in the multivariate analysis, only DM2 remained
37
38 107 associated with MDD. There was a significant difference in the frequency of DM2
39
40 108 between patients and controls, which reflects the increased occurrence of DM2 in MDD
41
42 109 patients⁽⁴⁰⁻⁴²⁾. It is already known that the comorbidity of MDD and DM2 might be related
43
44 110 to a broader proinflammatory state, associated both with insulin resistance as well as with
45
46 111 depressive symptoms⁽⁴³⁻⁴⁵⁾. However previous studies failed to control the association of
47
48 112 MDD and cytokine levels for DM2 as a confounding factor.

49
50 113 The findings show that cytokine patterns in depressed elderly may be difficult to clarify
51
52 114 due to the pathophysiological processes involved in aging and to the presence of
53
54 115 comorbidities. These conditions, particularly DM2, also impact on biomarkers, and,
55
56 116 hence, hinder any association between depression and inflammatory measures.
57
58 117 Nevertheless, our study reinforce the role of cytokines in late-life MDD and comorbidities
59
60 118 and calls attention to the need of controlling confounders in future studies.

119

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

120 Selection of only female patients should be considered a strength of our work as gender
121 differences in immunological profile related to psychiatric disorders have been shown<sup>(46-
122 48)</sup>.

123 The sample size represents a limitation of the study. This was a convenience sample.
124 Considering this specific age group with strict inclusion and exclusion criteria, the
125 number of participants resulted in the total sample size presented. The sample size was
126 not very different from other recent group and subgroup analysis with psychogeriatric
127 population^(49, 50). It is also important to consider that sample size must have a relationship
128 with future predictable performance that is fit for purpose and this varies from application
129 to application⁽⁵¹⁾. **Despite this limitation, the influence of comorbidities on inflammatory
130 markers of late-life MDD is an important and frequently neglected topic and needs to be
131 investigated.**

132 There are other limitations worth mentioning. Half of the patients were already medicated
133 prior to enrollment in the study. Although there was no difference in cytokine levels
134 between medicated and unmedicated patients, it is not possible to completely rule out the
135 effect of antidepressants. There is also the uncertain relationship between peripheral and
136 central nervous system (CNS) levels of cytokines. Correlations between peripheral
137 cytokine levels and cytokine levels in the CNS are still a matter of investigation and
138 debate⁽⁵²⁻⁵⁴⁾. **It was not possible to distinguish older adults with early- and late-onset
139 depression in the present study. Anyway, there is little evidence of a distinct cytokine
140 profile between early-onset and late-onset depression⁽⁵⁵⁾. Nutritional status might
141 interfere in the inflammatory profile of participants^(56, 57), but was not controlled in the
142 present study.**

143 In conclusion, our findings suggest that higher plasma levels of IL-6 and IL-4 in depressed
144 elderly women compared to controls are influenced by DM2. **More studies are required
145 in order to investigate the present findings. Studies about depression and inflammation
146 should take this evidence into account in order to mitigate confounding factors.**

147

148

149

1
2
3 **150 Funding**4
5
6 **151** ALT is funded by CNPq (Brazil) and UTHealth Houston.7
8 **152** BSD was funded by CNPq (Brazil).9
10 **153**11
12
13 **154 References**

- 14
15
16 **155** 1. Haapakoski R, Mathieu J, Ebmeier KP, Alenius H, Kivimäki M. Cumulative
17 **156** meta-analysis of interleukins 6 and 1 β , tumour necrosis factor α and C-reactive protein in
18 **157** patients with major depressive disorder. *Brain Behav Immun*. 2015;49:206-15.
- 19 **158** 2. Eyre HA, Air T, Pradhan A, Johnston J, Lavretsky H, Stuart MJ, et al. A meta-
20 **159** analysis of chemokines in major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol*
21 **160** *Psychiatry*. 2016;68:1-8.
- 22 **161** 3. Köhler CA, Freitas TH, Maes M, de Andrade NQ, Liu CS, Fernandes BS, et al.
23 **162** Peripheral cytokine and chemokine alterations in depression: a meta-analysis of 82
24 **163** studies. *Acta Psychiatr Scand*. 2017;135(5):373-87.
- 25 **164** 4. Das R, Emon MPZ, Shahriar M, Nahar Z, Islam SMA, Bhuiyan MA, et al. Higher
26 **165** levels of serum IL-1 β and TNF- α are associated with an increased probability of major
27 **166** depressive disorder. *Psychiatry Res*. 2021;295:113568.
- 28 **167** 5. Anjum S, Qusar MMAS, Shahriar M, Islam SMA, Bhuiyan MA, Islam MR.
29 **168** Altered serum interleukin-7 and interleukin-10 are associated with drug-free major
30 **169** depressive disorder. *Ther Adv Psychopharmacol*. 2020;10:2045125320916655.
- 31 **170** 6. Rahman S, Shanta AA, Daria S, Nahar Z, Shahriar M, Qusar MS, et al. Increased
32 **171** serum resistin but not G-CSF levels are associated in the pathophysiology of major
33 **172** depressive disorder: Findings from a case-control study. *PLoS One*.
34 **173** 2022;17(2):e0264404.
- 35 **174** 7. Myint AM, Leonard BE, Steinbusch HW, Kim YK. Th1, Th2, and Th3 cytokine
36 **175** alterations in major depression. *J Affect Disord*. 2005;88(2):167-73.
- 37 **176** 8. Kim YK, Na KS, Shin KH, Jung HY, Choi SH, Kim JB. Cytokine imbalance in
38 **177** the pathophysiology of major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol*
39 **178** *Psychiatry*. 2007;31(5):1044-53.
- 40 **179** 9. Huang TL, Lee CT. T-helper 1/T-helper 2 cytokine imbalance and clinical
41 **180** phenotypes of acute-phase major depression. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2007;61(4):415-
42 **181** 20.
- 43 **182** 10. Li Y, Xiao B, Qiu W, Yang L, Hu B, Tian X, et al. Altered expression of
44 **183** CD4(+)/CD25(+) regulatory T cells and its 5-HT(1a) receptor in patients with major
45 **184** depression disorder. *J Affect Disord*. 2010;124(1-2):68-75.
- 46 **185** 11. van den Berg KS, Wiersema C, Hegeman JM, van den Brink RHS, Rhebergen D,
47 **186** Marijnissen RM, et al. Clinical characteristics of late-life depression predicting mortality.
48 **187** *Aging Ment Health*. 2021;25(3):476-83.
- 49 **188** 12. Carpita B, Betti L, Palego L, Bartolomei N, Chico L, Pasquali L, et al. Plasma
50 **189** redox and inflammatory patterns during major depressive episodes: a cross-sectional
51 **190** investigation in elderly patients with mood disorders. *CNS Spectr*. 2021;26(4):416-26.
- 52 **191** 13. Fanelli G, Benedetti F, Wang SM, Lee SJ, Jun TY, Masand PS, et al. Reduced
53 **192** CXCL1/GRO chemokine plasma levels are a possible biomarker of elderly depression. *J*
54 **193** *Affect Disord*. 2019;249:410-7.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 194 14. Gaarden TL, Engedal K, Benth J, Larsen M, Lorentzen B, Mollnes TE, et al.
195 Exploration of 27 plasma immune markers: a cross-sectional comparison of 64 old
196 psychiatric inpatients having unipolar major depression and 18 non-depressed old
197 persons. *BMC Geriatr*. 2018;18(1):149.
- 198 15. Miyata S, Yamagata H, Matsuo K, Uchida S, Harada K, Fujihara K, et al.
199 Characterization of the signature of peripheral innate immunity in women with later-life
200 major depressive disorder. *Brain Behav Immun*. 2020;87:831-9.
- 201 16. Wu EL, LeRoy AS, Heijnen CJ, Fagundes CP. Inflammation and future
202 depressive symptoms among recently bereaved spouses. *Psychoneuroendocrinology*.
2021;128:105206.
- 203 17. Carlier A, Berkhof JG, Rozing M, Bouckaert F, Sienaert P, Eikelenboom P, et al.
204 Inflammation and remission in older patients with depression treated with
205 electroconvulsive therapy: findings from the MODECT study. *J Affect Disord*.
206 2019;256:509-16.
- 207 18. Sartorius N. Depression and diabetes. *Dialogues Clin Neurosci*. 2018;20(1):47-
208 52.
- 209 19. Kraus C, Kadriu B, Lanzenberger R, Zarate CA, Kasper S. Prognosis and
210 improved outcomes in major depression: a review. *Transl Psychiatry*. 2019;9(1):127.
- 211 20. Moulton CD, Pickup JC, Ismail K. The link between depression and diabetes: the
212 search for shared mechanisms. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015;3(6):461-71.
- 213 21. Halaris A. Inflammation-Associated Co-morbidity Between Depression and
214 Cardiovascular Disease. *Curr Top Behav Neurosci*. 2017;31:45-70.
- 215 22. Livingston G, Huntley J, Sommerlad A, Ames D, Ballard C, Banerjee S, et al.
216 Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission.
217 *Lancet*. 2020;396(10248):413-46.
- 218 23. Dias NS, Barbosa IG, Kuang W, Teixeira AL. Depressive disorders in the elderly
219 and dementia: An update. *Dement Neuropsychol*. 2020;14(1):1-6.
- 220 24. Sheehan DV, Lecrubier Y, Sheehan KH, Amorim P, Janavs J, Weiller E, et al.
221 The Mini-International Neuropsychiatric Interview (MINI): the development and
222 validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J*
223 *Clin Psychiatry*. 1998;59 Suppl 20:22-33;quiz 4-57.
- 224 25. Hamilton M. Development of a rating scale for primary depressive illness. *Br J*
225 *Soc Clin Psychol*. 1967;6(4):278-96.
- 226 26. Porto CS, Fichman HC, Caramelli P, Bahia VS, Nitrini R. Brazilian version of the
227 Mattis dementia rating scale: diagnosis of mild dementia in Alzheimer's disease. *Arq*
228 *Neuropsiquiatr*. 2003;61(2B):339-45.
- 229 27. Kessels RP, van den Berg E, Ruis C, Brands AM. The backward span of the Corsi
230 Block-Tapping Task and its association with the WAIS-III Digit Span. *Assessment*.
231 2008;15(4):426-34.
- 232 28. LF M-D, JJ DP. FDT - Teste dos Cinco Dígitos. First edition ed. São Paulo -
233 Brazil: Editora HOGREFE/CETEPP; 2015.
- 234 29. Malloy-Diniz LF, Lasmar VA, Gazinelli LeS, Fuentes D, Salgado JV. The Rey
235 Auditory-Verbal Learning Test: applicability for the Brazilian elderly population. *Braz J*
236 *Psychiatry*. 2007;29(4):324-9.
- 237 30. Machado TH, Fichman HC, Santos EL, Carvalho VA, Fialho PP, Koenig AM, et
238 al. Normative data for healthy elderly on the phonemic verbal fluency task - FAS. *Dement*
239 *Neuropsychol*. 2009;3(1):55-60.
- 240 31. Dubois B, Slachevsky A, Litvan I, Pillon B. The FAB: a Frontal Assessment
241 Battery at bedside. *Neurology*. 2000;55(11):1621-6.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 243 32. de Paula JJ, Costa MV, de Andrade GF, Ávila RT, Malloy-Diniz LF. Validity and
244 reliability of a "simplified" version of the Taylor Complex Figure Test for the assessment
245 of older adults with low formal education. *Dement Neuropsychol*. 2016;10(1):52-7.
- 246 33. de Paula JJ, Bertola L, Ávila RT, Moreira L, Coutinho G, de Moraes EN, et al.
247 Clinical applicability and cutoff values for an unstructured neuropsychological
248 assessment protocol for older adults with low formal education. *PLoS One*.
249 2013;8(9):e73167.
- 250 34. Shulman KI. Clock-drawing: is it the ideal cognitive screening test? *Int J Geriatr*
251 *Psychiatry*. 2000;15(6):548-61.
- 252 35. Baiyewu O, Unverzagt FW, Lane KA, Gureje O, Ogunniyi A, Musick B, et al.
253 The Stick Design test: a new measure of visuoconstructional ability. *J Int Neuropsychol*
254 *Soc*. 2005;11(5):598-605.
- 255 36. Malloy-Diniz LF, Bentes RC, Figueiredo PM, Brandao-Bretas D, da Costa-
256 Abrantes S, Parizzi AM, et al. [Standardisation of a battery of tests to evaluate language
257 comprehension, verbal fluency and naming skills in Brazilian children between 7 and 10
258 years of age: preliminary findings]. *Rev Neurol*. 2007;44(5):275-80.
- 259 37. Pfeffer RI, Kurosaki TT, Harrah CH, Chance JM, Filos S. Measurement of
260 functional activities in older adults in the community. *J Gerontol*. 1982;37(3):323-9.
- 261 38. Ting EY, Yang AC, Tsai SJ. Role of Interleukin-6 in Depressive Disorder. *Int J*
262 *Mol Sci*. 2020;21(6).
- 263 39. Maes M, Carvalho AF. The Compensatory Immune-Regulatory Reflex System
264 (CIRS) in Depression and Bipolar Disorder. *Mol Neurobiol*. 2018;55(12):8885-903.
- 265 40. Zhuang QS, Shen L, Ji HF. Quantitative assessment of the bidirectional
266 relationships between diabetes and depression. *Oncotarget*. 2017;8(14):23389-400.
- 267 41. Diniz BS, Fisher-Hoch S, McCormick J. The association between insulin
268 resistance, metabolic variables, and depressive symptoms in Mexican-American elderly:
269 A population-based study. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2018;33(2):e294-e9.
- 270 42. Meng R, Liu N, Yu C, Pan X, Lv J, Guo Y, et al. Association between major
271 depressive episode and risk of type 2 diabetes: A large prospective cohort study in
272 Chinese adults. *J Affect Disord*. 2018;234:59-66.
- 273 43. Laake JP, Stahl D, Amiel SA, Petrak F, Sherwood RA, Pickup JC, et al. The
274 association between depressive symptoms and systemic inflammation in people with type
275 2 diabetes: findings from the South London Diabetes Study. *Diabetes Care*.
276 2014;37(8):2186-92.
- 277 44. Al-Hakeim HK, Al-Kufi SN, Al-Dujaili AH, Maes M. Serum Interleukin Levels
278 and Insulin Resistance in Major Depressive Disorder. *CNS Neurol Disord Drug Targets*.
279 2018;17(8):618-25.
- 280 45. Furman D, Campisi J, Verdin E, Carrera-Bastos P, Targ S, Franceschi C, et al.
281 Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat Med*.
282 2019;25(12):1822-32.
- 283 46. Endrighi R, Hamer M, Steptoe A. Post-menopausal Women Exhibit Greater
284 Interleukin-6 Responses to Mental Stress Than Older Men. *Ann Behav Med*.
285 2016;50(4):564-71.
- 286 47. Majd M, Graham-Engeland JE, Smyth JM, Sliwinski MJ, Lipton RB, Katz MJ, et
287 al. Distinct inflammatory response patterns are evident among men and women with
288 higher depressive symptoms. *Physiol Behav*. 2018;184:108-15.
- 289 48. Qu N, Zhang SF, Xia B, Xie JZ, Wang XM, Liu J, et al. Sex difference in IL-6
290 modulation of cognition among Chinese individuals with major depressive disorder. *J*
291 *Clin Neurosci*. 2019;70:14-9.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 292 49. Charlton RA, Lamar M, Zhang A, Ren X, Ajilore O, Pandey GN, et al.
293 Associations between pro-inflammatory cytokines, learning, and memory in late-life
294 depression and healthy aging. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2018;33(1):104-12.
- 295 50. Bugge E, Wynn R, Molines TE, Reitan SK, Gronli OK. Cytokine profiles and
296 diagnoses in elderly, hospitalized psychiatric patients. *BMC Psychiatry*. 2018;18(1):315.
- 297 51. van Smeden M, Moons KG, de Groot JA, Collins GS, Altman DG, Eijkemans MJ,
298 et al. Sample size for binary logistic prediction models: Beyond events per variable
299 criteria. *Stat Methods Med Res*. 2019;28(8):2455-74.
- 300 52. Wohleb ES, Franklin T, Iwata M, Duman RS. Integrating neuroimmune systems
301 in the neurobiology of depression. *Nat Rev Neurosci*. 2016;17(8):497-511.
- 302 53. Erickson MA, Liang WS, Fernandez EG, Bullock KM, Thysell JA, Banks WA.
303 Genetics and sex influence peripheral and central innate immune responses and blood-
304 brain barrier integrity. *PLoS One*. 2018;13(10):e0205769.
- 305 54. Zhao X, Cao F, Liu Q, Li X, Xu G, Liu G, et al. Behavioral, inflammatory and
306 neurochemical disturbances in LPS and UCMS-induced mouse models of depression.
307 *Behav Brain Res*. 2019;364:494-502.
- 308 55. Rozing MP, Veerhuis R, Westendorp RGJ, Eikelenboom P, Stek M, Marijnissen
309 RM, et al. Inflammation in older subjects with early- and late-onset depression in the
310 NESDO study: a cross-sectional and longitudinal case-only design.
311 *Psychoneuroendocrinology*. 2019;99:20-7.
- 312 56. Islam MR, Shalahuddin Qusar MMA, Islam MS, Kabir MH, Mustafizur Rahman
313 GKM, Hasnat A. Alterations of serum macro-minerals and trace elements are associated
314 with major depressive disorder: a case-control study. *BMC Psychiatry*. 2018;18(1):94.
- 315 57. Islam MR, Ali S, Karmoker JR, Kadir MF, Ahmed MU, Nahar Z, et al. Evaluation
316 of serum amino acids and non-enzymatic antioxidants in drug-naïve first-episode major
317 depressive disorder. *BMC Psychiatry*. 2020;20(1):333.

318

Table 1. Demographic, clinical features and cytokine plasma levels of female elderly with MDD and controls:

	Controls (n = 19)	MDD (n = 25)	p Value
Age - Median (P25-P75)	65 (62 - 76)	71 (65 - 78)	0.122 †
HAM-D - Median (P25-P75)	1 (0 - 2)	20 (14 - 23)	< 0.001 †
Medical comorbidities: (frequency)			
Type 2 diabetes mellitus	2/19 (10.5%)	10/25 (40%)	0.037 ††
Cardiovascular diseases	12/19 (63.2%)	19/25 (76%)	0.180 ††
Hypothyroidism	3/19 (15.8%)	5/25 (20%)	1.00††
Cytokines: (pg/mL)			
IL-6 Median (P25-P75)	1.52 (1.12 - 3.12)	3.04 (1.35 - 6.94)	0.019†
TNF- α Median (P25-P75)	9.30 (5.34 - 12.24)	10.30 (7.05 - 25.55)	0.188†
IL-4 Median (P25-P75)	0.34 (0.20 - 0.65)	0.68 (0.34 - 1.05)	0.014†
IL-10 Median (P25-P75)	1.99 (1.31 - 4.00)	2.86 (1.48 - 8.18)	0.180†
IFN- γ Median (P25-P75)	4.27 (2.11 - 6.29)	6.10 (3.36 - 13.35)	0.090†
Ratios - Median:			
TNF- α /IL-10	3.95	3.58	0.776†
IFN- γ /IL-4	9.40	11.65	0.705†

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

	IL-6	IL-4	IL-10	IFN- γ	TNF- α
Patient 1	1,32	0,59	1,48	3,62	10,01
Patient 2	20,27	48,51	31,01	146,42	47,47
Patient 3	2	0,34	2,7	2,56	13,3
Patient 4	2,28	3,62	3,29	5,79	11,08
Patient 5	1,25	0,22	1,66	9,17	5,95
Patient 6	5,79	0,31	1,57	7,05	8,77
Patient 7	1,56	0,59	1,48	3,11	8,39
Patient 8	3,04	5,2	4,48	5,48	6,75
Patient 9	3,52	0,72	8,49	22,41	20,78
Patient 10	1,35	0,68	1,48	5,2	5,48
Patient 11	6,22	0,88	7,87	73,2	21,86
Patient 12	5,94	0,37	10	13,04	30,63
Patient 13	3	0,68	5,4	13,04	23,28
Patient 14	34,92	34,11	25,43	248,93	37,38
Patient 15	21,1	0,78	1,44	56,26	15,01
Patient 16	1,22	0,26	1,99	2,35	7,36
Patient 17	3,3	1,01	14,2	6,1	39,92
Patient 18	7,67	1,1	12,06	7,73	31,01
Patient 19	1,12	0,31	1,31	1,5	4,94
Patient 20	12,94	2,08	4,59	12,24	10,3
Patient 21	1,63	0,29	1,18	1,73	5,95
Patient 22	9,72	0,34	1,33	5,34	7,69
Patient 23	3,08	0,55	2,87	4,27	7,47
Patient 24	1,35	0,72	2,87	13,67	4,88
Patient 25	1,25	0,37	1,66	1,95	27,82
Control 1	3,52	0,65	16,28	4,94	26,41
Control 2	4,36	0,47	19,77	24,18	32,54
Control 3	0,96	0,22	0,95	2,03	3,76
Control 4	4,49	0,52	10,26	14,84	30,26
Control 5	2,28	0,83	1,99	3,92	11,9
Control 6	2,65	0,24	2,49	5,2	10,61
Control 7	3,12	5,79	4,82	5,95	10,92
Control 8	4,18	0,47	1,31	17,25	7,26
Control 9	1,05	0,29	1,44	1,58	9,3
Control 10	2,13	2,08	4	4,27	11,24
Control 11	1,12	0,08	0,83	1,65	5,34
Control 12	1,02	0,2	1,44	2,35	8,39
Control 13	1,18	0,59	1,61	6,29	12,24
Control 14	1,12	0,68	1,18	2,68	6,12
Control 15	1,52	0,22	1,94	6,12	4,37
Control 16	2	0,34	2,7	2,56	13,3
Control 17	1,45	0,18	2,14	8,15	4,48

Trends in Psychiatry and Psychotherapy

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Control 18	1,28	0,2	2,34	2,11	6,29
Control 19	0,8	0,15	0,83	1,36	1,79

For Review Only

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Estudo comparativo de biomarcadores no transtorno depressivo maior e na doença de Alzheimer

Você está sendo convidado a participar da pesquisa intitulada “Estudo comparativo de biomarcadores no transtorno depressivo maior e na doença de Alzheimer”. Antes de aceitar participar desta pesquisa clínica, é importante que você leia e compreenda a explicação sobre os procedimentos propostos. Esta declaração descreve o objetivo, os procedimentos, os benefícios e riscos do estudo, e o seu direito de sair do estudo a qualquer momento. Nenhuma garantia ou promessa pode ser feita sobre o resultado do estudo. Estas informações estão sendo dadas para esclarecer quaisquer dúvidas sobre a pesquisa proposta, antes de você aceitar o convite para participar.

O objetivo deste estudo é avaliar parâmetros clínicos, neuropsicológicos, exames de neuroimagem e imunológicos e sua associação com aspectos clínicos no transtorno depressivo maior ou doença de Alzheimer. Essa avaliação é importante tanto para se compreender o transtorno bipolar e para tentar auxiliar no desenvolvimento de novos tratamentos.

Este estudo consiste de entrevistas, avaliações cognitivas, informações de seu histórico médico, que terão garantia de sigilo restrita aos pesquisadores do projeto. A seguir faremos uma coleta de sangue, urina, liquor e exames de imagem. O trabalho estuda pessoas com transtorno bipolar e outras que não têm transtorno bipolar, pois precisamos saber se as alterações imunológicas de pessoas com transtorno bipolar sejam exclusivas desse grupo.

Os registros de sua participação neste estudo serão mantidos confidencialmente até onde é permitido por lei e todas as informações estarão restritas à equipe responsável pelo projeto. No entanto, o pesquisador e sob certas circunstâncias, o Comitê de Ética em Pesquisa/UFMG, poderão verificar e ter acesso aos dados confidenciais que o identificam pelo nome. É importante informar que qualquer publicação dos dados não o identificará. As informações obtidas serão analisadas pela equipe em conjunto com as de outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente. Você tem o direito à privacidade e os profissionais irão tomar as devidas precauções para proteger a confidencialidade de seus registros. Seu nome e quaisquer outras informações que possam lhe identificar não aparecerão em nenhuma apresentação ou publicação resultantes desse estudo. Não há para o senhor (a) nenhum benefício direto na participação desse estudo, e não é prevista qualquer compensação financeira.

Os riscos que essa pesquisa pode causar aos participantes são apenas relacionados à retirada do sangue e liquor incluem dor e equimoses no local da picada de agulha e em raras ocasiões, tonturas e desmaios. Faremos o máximo para evitar que isso ocorra, uma vez que apenas pesquisadores devidamente treinados serão coletarão seu sangue e liquor.

O senhor (a) não está abrindo mão de seus direitos legais ao assinar esse termo. A recusa em participar desse estudo não implicará em prejuízo de relacionamento profissional ou pessoal.

Durante o estudo, se você tiver qualquer dúvida ou apresentar qualquer problema médico, contate a Dra. Izabela Guimarães Barbosa pelo telefone 3409-8073, ou a Comissão de Ética da Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II – 2º andar, Campus Pampulha, Belo Horizonte, MG – Brasil, Cep: 31270-901, pelo telefone 3409-4592.

Consentimento: Declaro que li e entendi as informações precedentes. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas as minhas dúvidas foram respondidas a contento. Este formulário está sendo assinado voluntariamente por mim, indicando o meu consentimento para participarmos do estudo, até que eu decida o contrário.

Belo Horizonte, ____ de _____ de _____.

Assinatura do participante _____ RG: _____

Assinatura do pesquisador _____ RG/CRM: _____