

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA



ANA CAROLINA RODRIGUES DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE VITAMINA D E POLIMORFISMOS NO
GENE DO SEU RECEPTOR EM PACIENTES COM DISTÚRBIOS COGNITIVOS**

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Karina Braga Gomes Borges

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria das Graças Carvalho

BELO HORIZONTE - MG

2017

ANA CAROLINA RODRIGUES DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE VITAMINA D E POLIMORFISMOS NO
GENE DO SEU RECEPTOR EM PACIENTES COM DISTÚRBIOS COGNITIVOS**

Dissertação, como requisito parcial, para obter o grau de mestre em Genética, submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética do Departamento de Biologia Geral do Instituto Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Karina Braga Gomes Borges - UFMG

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria das Graças Carvalho - UFMG

BELO HORIZONTE - MG

2017

043 Oliveira, Ana Carolina Rodrigues de.

Avaliação dos níveis plasmáticos de vitamina D e polimorfismos no gene do seu receptor em pacientes com distúrbios cognitivos [manuscrito] / Ana Carolina Rodrigues de Oliveira. – 2017.

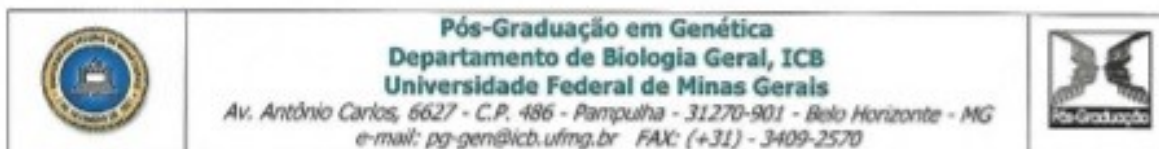
112 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Karina Braga Gomes Borges. Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria das Graças Carvalho.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas.

1. Genética. 2. Alzheimer, Doença de. 3. Comprometimento cognitivo leve. 4. Vitamina D. 5. Polimorfismo (Genética). I. Borges, Karina Braga Gomes. II. Carvalho, Maria das Graças. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 575



"Avaliação dos níveis plasmáticos de vitamina D e polimorfismos no gene do seu receptor em pacientes com distúrbios cognitivos"

Ana Carolina Rodrigues de Oliveira

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:


Prof. Karina Braga Gomes Borges - Orientadora
UFMG


Profa Maria Das Graças Carvalho - Coorientadora
UFMG


Dra Gisele Santos Gonçalves
Centro Universitário Newton Paiva


Dr Luis Felipe José Ravic de Miranda
UFMG

A todos os professores, por além de transmitir seus conhecimentos com tanto carinho e dedicação, repartir suas vivências, nos preparar para vida e nos fazer acreditar que somos capazes de transformar nossos sonhos em realidade.

*“Por vezes sentimos que aquilo
que fazemos não é senão uma gota de
água no mar. Mas o mar seria menor se
lhe faltasse uma gota”*

Madre Teresa de Calcutá

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por sua proteção, bênçãos, e por sempre guiar meus passos, sem Ele nada seria possível.

À Nossa Senhora, por sua intercessão junto ao nosso Pai.

À UFMG, por proporcionar uma formação profissional de qualidade.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Karina Braga, pela oportunidade concedida, inestimável ajuda, paciência, confiança, compreensão, apoio e amizade. Obrigada por sua dedicação e seus ensinamentos, que foram fundamentais para minha formação e execução deste trabalho. A você minha eterna gratidão, todo meu carinho, admiração e respeito.

À Prof.^a Dr.^a Maria das Graças Carvalho, por sua disponibilidade em me co-orientar, pela atenção e sugestões que permitiram o enriquecimento deste trabalho.

Às Professoras Ieda de Fátima Oliveira e Josianne Nicácio, pela ajuda nos experimentos realizados no Laboratório Toxicologia. Obrigada pelas sugestões e orientações.

Aos médicos Prof. Dr. Paulo Caramelli e Prof.^a Dr.^a Maria Aparecida Bicalho, pelo auxílio nas coletas dos pacientes no Hospital das Clínicas/MG. Agradeço a grande colaboração e parceria durante todo o projeto.

À Dr.^a Gisele Santos Gonçalves, pela contribuição de dados de sua pesquisa utilizados nesse trabalho.

Às parceiras da linha de pesquisa “Alzheimer”, Carolina, Cristina, Amanda, e, em especial, à Vanêssa pela amizade, incentivo e colaboração. Obrigada pela troca de experiências, conhecimentos e apoio durante essa caminhada.

Às colegas do laboratório de Bioquímica, Luana, Laura, Letícia, Natália, Michelle, Kathryn e Suellen, obrigada pelo carinho e ajuda na execução desse projeto.

À Laila Nahum que, com sua paz e determinação, me fez acreditar que esse sonho era possível. Obrigada por transmitir sua sabedoria e abrir portas para essa jornada.

Aos meus pais, Maria José e Denilson, exemplos de humildade e fé, essenciais na minha vida. Obrigada pelos ensinamentos, amor incondicional, força, carinho e dedicação.

À minha irmã, Ana Paula, pela ajuda e incentivo.

Ao meu irmão, Mateus, que faz meus dias melhores com todo seu afeto.

Ao Rômulo, pela presença nos momentos felizes e difíceis. Obrigada pelo incentivo, compreensão, amor, companheirismo, ajuda em cada passo dessa caminhada e apoio diante dos obstáculos.

Aos demais amigos e familiares, especialmente, a Tia Efigênia, exemplo de generosidade, que me acolheu de braços abertos. Obrigada pelas orações, carinho e torcida.

À CAPES pela bolsa de estudos, ao CNPq e à FAPEMIG pelo apoio financeiro em várias oportunidades.

Por fim, àqueles que contribuíram para o desenvolvimento deste projeto e meu aprendizado, a todos meu sincero e carinhoso MUITO OBRIGADA!

SUMÁRIO

Lista de figuras	XI
Lista de tabelas.....	XII
Lista de quadros	XIII
Lista de abreviaturas de siglas.....	XIV
Resumo	XVI
Abstract	XVII
1. INTRODUÇÃO.....	18
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	20
2.1 Envelhecimento.....	20
2.2 Demência	20
2.2.1 Testes para avaliação cognitiva	22
2.3 Comprometimento cognitivo leve	23
2.4 Doença de Alzheimer	25
2.4.1 Fatores de risco e fisiopatologia da Doença de Alzheimer.....	27
2.4.2 Biomarcadores da Doença de Alzheimer no líquido cefalorraquidiano	28
2.5 Vitamina D.....	29
2.5.1 Dosagem do nível sérico de vitamina D	31
2.6 Receptor da vitamina D	33
2.6.1 Polimorfismos do gene <i>VDR</i>	34
2.7 Vitamina D e cognição.....	35
3. JUSTIFICATIVA.....	39
4. OBJETIVOS.....	40
4.1. Objetivo geral	40

4.2. Objetivos específicos.....	40
5. CAPÍTULO 1.....	41
6. CONCLUSÃO.....	77
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78
8. ANEXOS.....	83
8.1 Ficha clínica.....	83
8.2 Termo de consentimento livre e esclarecido.....	100
8.3 Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa.....	105
8.4 Certificados.....	107

LISTA DE FIGURAS

1. Metabolismo da vitamina D e ações mediadas pela forma ativa da vitamina D.....	30
2. Estrutura do gene <i>VDR</i>	35
3. Potenciais papéis da vitamina D no sistema nervoso central (SNC)	38

CAPÍTULO 1

1. Média do desempenho dos pacientes com CCL dos testes cognitivos nos tempos 0 e 1	75
2. Diferença de média das concentrações de vitamina D e os testes cognitivos	76

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

1. Comparação das variáveis clínicas e demográficas entre os grupos DA, CCL e controle	60
2. Comparação dos dados bioquímicos entre os grupos DA, CCL e controle	62
3. Níveis de vitamina D categorizados entre os grupos DA, CCL e controle	63
4. Comparação dos níveis de vitamina D e sexo nos três grupos estudados (DA+CCL+controle)	64
5. Frequências alélica e genotípica dos polimorfismos do gene <i>VDR</i> entre os grupos DA, CCL e controle.....	65
6. Frequência haplotípica dos polimorfismos do gene <i>VDR</i> entre os grupos DA, CCL e controle.....	67
7. Frequências do polimorfismo BsmI, entre os grupos com níveis não suficientes e suficientes de vitamina D, considerando o grupo demência.....	68
8. Frequências das variáveis etilismo e dislipidemia entre os grupos com níveis não suficientes e suficientes de vitamina D, considerando o grupo demência.....	69
9. Correlações de vitamina D, marcadores liquoricos, MEEM, IMC e circunferência abdominal, para o grupo demência.....	70
10. Descrição das variáveis clínicas e demográficas do grupo CCL	71
11. Correlação entre os níveis de vitamina D e o Z-score dos testes cognitivos no grupo CCL	72

MATERIAL SUPLEMENTAR

1. Condições da PCR-RFLP para análise dos polimorfismos BsmI, Apal, FokI e TaqI no gene <i>VDR</i>	73
2. Programas de ciclagem da PCR dos polimorfismos do receptor da vitamina D	74

LISTA DE QUADROS

1. Valores de referência para os níveis séricos de 25(OH)D.....	32
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1,25(OH) ₂ D	1,25-dihidroxitamina D
25(OH)D	25-hidroxitamina D
A	Adenina
<i>ApoE</i>	Gene da apolipoproteína E
ApoE	Proteína apolipoproteína E
<i>APP</i>	Gene da proteína precursora amilóide
APP	Proteína precursora amilóide
A β	Peptídeo beta-amilóide
A β ₁₋₄₂	Proteína beta-amilóide com 42 aminoácidos
BBRC	Bateria Breve de Rastreo Cognitivo
C	Citosina
CA	Circunferência abdominal
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CCL	Comprometimento Cognitivo Leve
CIRS-G	<i>Manual of Guidelines for Scoring Cumulative Illness Rating Scale for Geriatrics</i>
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DA	Doença de Alzheimer
DNA	Ácido desoxirribonucléico
EDTA	Ácido etilendiamino tetra-acético
EHW	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
FAPEMIG	Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais
G	Guanina
HDLc	Lipoproteína de alta densidade
IATI	<i>Innotest Amiloide Tau Index</i>
IC	Intervalo de confiança
IMC	Índice de massa corporal
iNOS	Síntese do óxido nítrico induzível
LCR	Líquido cefalorraquidiano
LDLc	Lipoproteína de baixa densidade
MEEM	Mini-Exame do Estado Mental
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
NGF	Fator de crescimento neuronal

ONU	Organização das Nações Unidas
OR	<i>Odds ratio</i> (Razão de chances)
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> (Reação em cadeia da polimerase)
<i>PS1</i>	Gene da presenilina 1
<i>PS2</i>	Gene da presenilina 2
RFLP	<i>Restriction fragment length polymorphism</i> (Polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição)
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism</i> (Polimorfismo de nucleotídeo único)
T	Timina
T0	1ª avaliação
T1	2ª avaliação
Tau-P	Tau hiperfosforilada
Tau-T	Tau total
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UVB	Raios ultravioletas
VITD	Vitamina D
VDR	Receptor da vitamina D
<i>VDR</i>	Gene do receptor da vitamina D
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
WHO	<i>World Health Organization</i>
$\epsilon 2$	Épsilon 2
$\epsilon 3$	Épsilon 3
$\epsilon 4$	Épsilon 4

RESUMO

A vitamina D exerce um papel fundamental na regulação do metabolismo ósseo. Recentemente, evidências sugerem sua participação como imunomodulador em várias funções do organismo, tendo sido descrito que a sinalização de vitamina D está envolvida também no desenvolvimento e funções cerebrais. Com a mudança de estilo de vida, com pouca exposição à luz solar e dieta pobre em vitamina D, observa-se uma hipovitaminose D global, sendo que os idosos apresentam um maior risco de desenvolver esta deficiência devido à diminuição da síntese cutânea e da ingestão da mesma. A maioria das ações biológicas da vitamina D é mediada pelo receptor da vitamina D (VDR), sendo presente em neurônios e células gliais do hipocampo, no córtex e zona sub-cortical, regiões estas essenciais para a cognição. Os polimorfismos do gene *VDR* podem diminuir a afinidade do VDR pela vitamina D. Estudos epidemiológicos demonstraram consistentemente uma associação entre concentrações menores de vitamina D no organismo e polimorfismos do gene *VDR*, com distúrbios cognitivos, incluindo maior risco para Doença de Alzheimer (DA), um distúrbio neurodegenerativo poligênico/multifatorial. O presente estudo objetivou identificar a influência da vitamina D no declínio cognitivo em pacientes com DA e comprometimento cognitivo leve (CCL) comparando com idosos cognitivamente saudáveis. Quatro polimorfismos do gene *VDR* foram estudados: BsmI, ApaI, FokI, TaqI por meio da técnica PCR-RFLP. Foi realizada a dosagem dos níveis séricos de vitamina D dos indivíduos por CLAE. As frequências genotípicas foram comparadas entre os grupos e relacionadas com as concentrações de vitamina D. Os resultados da dosagem foram comparados entre os grupos em um estudo transversal e longitudinal (após um ano de *follow-up*). As análises estatísticas não mostraram diferença significativa dos níveis de vitamina D, nem das frequências genotípicas e alélicas entre os grupos DA, CCL e controle. Porém, foi observada associação de haplótipos do gene *VDR* com a DA. O alelo A do polimorfismo BsmI foi associado a níveis suficientes de vitamina D, enquanto o genótipo GG deste mesmo polimorfismo a níveis insuficientes, nos indivíduos com DA e CCL. Não houve relação entre o declínio cognitivo de pacientes com CCL e os níveis de vitamina D no estudo longitudinal. Os dados obtidos até o momento não permitiram confirmar a relação entre redução dos níveis de vitamina D e polimorfismos do gene *VDR*, e alteração da função cognitiva em uma pequena amostra da população brasileira, nas condições experimentais do presente estudo, mas que o polimorfismo BsmI no gene do receptor VDR pode estar relacionado aos níveis de vitamina D nesta população.

Palavras chaves: Doença de Alzheimer, Comprometimento Cognitivo Leve, vitamina D, receptor da vitamina D, polimorfismos.

ABSTRACT

Vitamin D plays a role in the regulation of bone metabolism. Recently evidences suggest that it participates as an immunomodulator in various functions, and that vitamin D signaling is implicated in brain development and function. There was a change in lifestyle, with little exposure to sunlight and a low vitamin D diet, with a global hypovitaminosis D observed. The elderly are at a higher risk of developing this deficiency due to decreased cutaneous synthesis and vitamin D intake. Most of the biological actions of vitamin D are mediated by the vitamin D receptor (VDR), which is present in neurons and glial cells of the hippocampus, in the cortex and subcortical area, essential areas for cognition. VDR gene polymorphisms may decrease VDR affinity for vitamin D. Epidemiological studies have consistently demonstrated an association between lower concentrations of vitamin D and VDR gene polymorphisms with cognitive disorders, including increased risk for Alzheimer's disease (AD), a polygenic / multifactorial neurodegenerative disorder. The present study aimed to identify the influence of vitamin D on cognitive decline in patients with AD and mild cognitive impairment (MCI) compared to cognitively healthy elderly. Four polymorphisms of the *VDR* gene were studied: BsmI, ApaI, FokI, TaqI by PCR-RFLP technique. The serum levels of vitamin D were determined by HPLC. Genotype frequencies were compared between the groups and related to vitamin D concentrations. These results were compared between groups in a cross-sectional and longitudinal study (one year follow-up). Statistical analysis showed no significant difference in vitamin D levels or genotypic and allelic frequencies between AD, MCI and control groups. However, an association of *VDR gene* haplotypes with AD was observed. The allele A of the BsmI polymorphism was associated with sufficient vitamin D levels, while the GG genotype of this same polymorphism was associated to insufficient levels in individuals with AD and MCI. There was no relationship between the cognitive decline of patients with MCI and vitamin D levels in the longitudinal study. The data obtained so far did not confirm the relationship between reduction of VITD levels and polymorphisms in the *VDR* gene, and altered cognitive function in a small sample of the Brazilian population, under the experimental conditions of the present study, but that the BsmI polymorphism in the *VDR* receptor gene may be related to vitamin D levels in this population.

Key words: Alzheimer's disease, mild cognitive impairment, vitamin D, vitamin D receptor, polymorphisms.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, uma transformação demográfica mundial tendo por base o envelhecimento populacional, conduz a uma transição epidemiológica com o aumento de doenças crônico-neurodegenerativas, dentre as quais destaca-se a demência. Dados epidemiológicos recentes revelam que o número de idosos em todo mundo tende a um aumento contínuo. A expectativa é que o número de pessoas no mundo com 60 anos ou mais cresça 56% entre 2015 e 2030 (WHO, 2015).

Distúrbios neurodegenerativos, como o comprometimento cognitivo leve (CCL), condição que representa uma fase intermediária ou de transição entre o envelhecimento saudável e a demência propriamente dita, surgem em decorrência da idade. Entre as diversas causas de demência, a Doença de Alzheimer (DA) é a principal entre os idosos, caracterizando-se por progressivo e irreversível declínio cognitivo, com impacto negativo em certas funções intelectuais e funcionais. A Associação Brasileira de Alzheimer (2015) estima que no Brasil exista cerca de 1,2 milhão de pessoas com DA.

A DA é um problema de saúde pública devido à sua alta prevalência, sendo identificada como uma doença poligênica, com evolução insidiosa, cujos principais aspectos influenciadores são a interação de fatores genéticos e ambientais. Muitos estudos são realizados na tentativa de elucidar a fisiopatologia da DA, contudo nenhuma das abordagens utilizadas foi definitiva. Os medicamentos atualmente utilizados limitam-se a minimizar os sintomas, retardando a evolução natural da doença e as alterações de comportamento, objetivando uma melhora na qualidade de vida do paciente. Assim, para melhor compreensão da doença, é de extrema importância a investigação de outros fatores de risco, como genéticos, estilo de vida e dieta, os quais podem influenciar no processo de declínio cognitivo em idosos.

A vitamina D (VITD) é um hormônio sintetizado pela pele por meio da exposição solar (UVB), sendo que parte dela é proveniente de fontes alimentares. Com a mudanças no estilo de vida, com pouca exposição à luz solar e dieta pobre em VITD, observa-se uma hipovitaminose D global, sendo que os idosos estão em um maior risco de desenvolver esta deficiência devido à desnutrição e diminuição da síntese cutânea pelo afinamento da pele ou baixa exposição à luz natural (Schlögl & Holick, 2014; Annweiler *et al.*, 2015).

A VITD está relacionada à regulação de mais de 200 genes. A maioria das ações biológicas da VITD é mediada pelo receptor da vitamina D (VDR), o qual está presente em neurônios e células gliais do hipocampo, córtex e zona sub-cortical, regiões estas essenciais para a cognição. É descrito que os polimorfismos do gene *VDR* podem diminuir a afinidade do VDR pela VITD (Alves *et al.*, 2013; Yesil *et al.*, 2015) e que a sinalização da VITD está

diretamente relacionada ao desenvolvimento e função cerebral (Schlögl & Holick, 2014). Meta-análises recentes confirmam que baixas concentrações de VITD no organismo estão associadas com a ocorrência da DA, outras demências e comprometimento cognitivo (Balion *et al.*, 2012; Littlejohns *et al.*, 2014). Entretanto, o mecanismo pelo qual os níveis plasmáticos de VITD afetam efetivamente o desempenho cognitivo permanece ainda não totalmente elucidado (Schlögl & Holick, 2014; Assmann *et al.*, 2015). Assim, os dados disponíveis sugerem que mais pesquisas são necessárias para promover uma melhor compreensão do papel da VITD na DA.

A associação da VITD com a DA é interesse de saúde pública, porque tratamentos eficazes para a doença ainda não estão disponíveis, havendo uma contínua incerteza sobre as causas da DA e outras formas de demência. Ademais, o declínio cognitivo é um processo que ocorre a longo prazo, especialmente no caso da DA, em que o diagnóstico é precedido por uma longa fase pré-sintomática. Assim, faz-se importante a investigação de causas que podem influenciar o desenvolvimento desta doença, já que a elucidação dos mecanismos fisiopatológicos da DA poderá possibilitar adoção de medidas intervencionais com o intuito de prevenir ou retardar a evolução da doença (Assmann *et al.*, 2015).

Dessa forma, faz-se necessário elucidar e compreender os mecanismos envolvidos e fatores que predisõem aos distúrbios neurodegenerativos, como também estudar as variáveis genéticas envolvidas e seu impacto na ocorrência e caracterização cognitiva. Apesar disso, até o momento inexistente pesquisa sobre a relação entre VITD e cognição na população idosa do Brasil. Nesse contexto, o presente estudo objetiva contribuir para esclarecer a relação entre VITD e polimorfismos no gene do *VDR*, com o desenvolvimento de CCL e DA, em uma amostra de indivíduos idosos brasileiros portadores de tais distúrbios de cognição.

Diante do exposto e, em outras palavras, busca-se avaliar a relação entre níveis de VITD e polimorfismos no gene de *VDR*, e alteração da função cognitiva. A hipótese deste estudo é que a função cognitiva deteriora à medida da redução dos níveis plasmáticos de VITD e/ou presença de polimorfismos no gene da VITD. Se tal hipótese for confirmada, novos *insights* serão agregados aos existentes no que se refere às causas e fatores envolvidos no desenvolvimento do declínio cognitivo.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Envelhecimento

De acordo com relatório da Organização Mundial das Nações Unidas/ONU (2015), o envelhecimento populacional hoje é considerado um fenômeno de proporções mundiais, ocasionado pela queda nas taxas de fertilidade e mortalidade, aumento da expectativa de vida, e avanços da medicina e melhorias na qualidade de vida das populações (WHO, 2015; Vancea & Solé-Casals, 2016).

Países em desenvolvimento, como o Brasil, apresentam atualmente maiores taxas de envelhecimento (Caixeta, 2006). Aliada à transição demográfica, na qual há um aumento de idosos, verifica-se também uma transição epidemiológica, que tem lançado grandes desafios para sociedade, já que como consequência do envelhecimento populacional, constata-se um aumento de doenças crônicas, como doença cardiovascular, osteoporose e demência, acarretando impacto socioeconômico, político e na saúde pública (WHO, 2015). É esperado que entre 2010 a 2050 o número de idosos em países menos desenvolvidos cresça em níveis acima de 250%, enquanto nos países desenvolvidos essa expectativa seja de 71% (WHO, 2011).

A Organização Mundial da Saúde (2015) considera o idoso, sob o ponto de vista cronológico, como aquele indivíduo que possui 65 anos ou mais de idade em países desenvolvidos, enquanto que, em países em desenvolvimento, prevalece a idade de 60 anos ou mais. Estima-se que a população acima dos 65 anos passará dos 524 milhões de indivíduos, estimados em 2010, para 1,4 bilhões em 2030 e 2,1 bilhões em 2050, podendo chegar a 3,2 bilhões de idosos em 2100, principalmente nos países em desenvolvimento (WHO, 2015).

2.2 Demência

“Demência” é um termo geral que representa um declínio em relação aos níveis anteriores de funcionamento e desempenho cognitivo do indivíduo, que não é devido ao delírio ou por transtorno psiquiátrico maior, associado a um declínio da memória, funções executivas, habilidades visuoespaciais, linguagem, comportamento, intelecto ou outras habilidades de pensamento, mudanças graves o suficiente para interferir com a capacidade de uma pessoa de realizar atividades cotidianas, suscitando limitações na autonomia funcional e na qualidade de vida (McKhann *et al.*, 2011). Essa síndrome é uma das principais causas de incapacidade e dependência entre os idosos no mundo, mas não é uma consequência normal do envelhecimento. Estima-se que entre 5% e 8% da população geral

com 60 anos ou mais sofram de demência em um determinado momento (WHO, 2015; Alzheimer's Association, 2016).

A demência é um desafio socioeconômico crescente devido ao aumento de sua prevalência e incidência. Estima-se que o número de pessoas com algum tipo de demência no mundo deve praticamente dobrar em 20 anos (Moon, 2014). Atualmente, há em torno de 47,5 milhões de indivíduos com a síndrome no mundo e a cada ano, 7,7 milhões de novos casos são registrados. Grande parte deste quadro pode ser atribuído ao aumento da expectativa de vida, principalmente em países em desenvolvimento (WHO, 2015; Alzheimer's Association, 2016).

A demência geralmente está associada a um envelhecimento patológico causado por danos nas células do cérebro e suas conexões, ocasionando prejuízos em regiões com funções distintas do cérebro, podendo levar a alterações, tais como: na memória, movimento, desorientação em relação ao tempo e ao espaço, raciocínio, concentração, aprendizado, percepção visual, realização de tarefas complexas, julgamento, comunicação e linguagem. Essas alterações podem ser acompanhadas por mudanças no comportamento ou na personalidade (sintomas neuropsiquiátricos). Esse declínio progressivo e global das funções cognitivas interfere na habilidade das atividades usuais, no controle emocional e no convívio social, representando uma diminuição da capacidade funcional e de desempenho (Alzheimer's Association, 2016; ABRAZ, 2016).

O diagnóstico de demência é realizado quando há sintomas cognitivos ou comportamentais (neuropsiquiátricos) que interferem com a habilidade em atividades cotidianas; que representam um declínio no desempenho cognitivo em relação à execução precedente; e que não são explicáveis por *delirium* (estado confusional agudo) ou doença psiquiátrica maior. Esse comprometimento cognitivo é detectado e diagnosticado mediante a combinação da anamnese com paciente e cuidador que tenha conhecimento da história, e da avaliação cognitiva objetiva, mediante testes para verificar o estado cognitivo ou avaliação neuropsicológica (Brucki, 2016).

Entre as principais causas da degeneração das células nervosas do cérebro, estão os processos inflamatórios, doenças que afetam o sistema vascular, o uso de substâncias tóxicas como o álcool ou drogas, deficiências nutricionais, infecções e traumas cerebrais. O principal fator de risco para a demência é a idade avançada, normalmente acima dos 65 anos, embora a demência possa ocorrer em indivíduos mais jovens, possuindo também como fator de risco importante a herança genética (Alzheimer's Association, 2016).

Existem condições clínicas que podem causar os sintomas semelhantes à demência, dentre essas as disfunções metabólicas, depressão, efeitos colaterais de medicamentos, uso excessivo de álcool, problemas de tireoide e deficiência de vitaminas, como a B12. Estas condições podem ser revertidas com tratamento, ao contrário da demência propriamente dita. Cerca de 5-9% das pessoas com sintomas de demência apresentam condições clínicas reversíveis (Clarfield, 2003; Muangpainsan *et al.*, 2012).

A despeito de outras causas, as doenças demenciais, como a DA, parecem ter o seu início relacionado a um aumento no estresse oxidativo no Sistema Nervoso Central (SNC). Os danos causados por esse estresse parecem concentrar-se em regiões do cérebro responsáveis pela cognição, assim é sugerido que pessoas que já apresentaram algum declínio cognitivo leve possam evoluir para a DA, responsável por 60% a 70% dos casos de demência. Outras formas incluem a demência vascular, demência mista (DA + demência vascular), demência frontotemporal, demência com corpos de Lewy, demência devido a Doença de Parkinson, CADASIL e doença de Creutzfeldt-Jakob (WHO, 2015).

2.2.1 Testes para avaliação cognitiva

Diversas ferramentas clínicas estão disponíveis hoje para a avaliação do desempenho cognitivo e funcional dos pacientes. Para o diagnóstico de demência, vários dos domínios cognitivos devem ser testados tais como memória, linguagem, praxia, funções executivas, gnosia, funções visuoespaciais e visuoespaciais, além de distúrbios de comportamento. É recomendado que seja feita a verificação do declínio cognitivo por meio de uma bateria de exames neuropsicológicos. Entre os instrumentos mais utilizados nessa avaliação cognitiva, estão o Mini-Exame do Estado Mental (MEEM) e a Bateria Breve de Rastreamento Cognitivo (BBRC) (Anexo 8.1) (Nitrini *et al.*, 2005; Brucki, 2016).

O MEEM é um exame padrão utilizado em todo o mundo, sendo um teste clínico rápido e prático, utilizado para triagem de demência e comprometimento cognitivo, aplicável a estudos epidemiológicos, e que pode fornecer informações importantes através da avaliação simultânea de diferentes parâmetros cognitivos, como linguagem, atenção, memória, orientação temporal e espacial, habilidades construtivas e de cálculo. Seu escore varia de 0 a 30 pontos, no qual, quanto maior a pontuação atingida, melhor a capacidade cognitiva do idoso (Brucki *et al.*, 2003; Chaves, 2011). Existe uma grande influência da escolaridade sobre os escores, devendo-se utilizar valores de corte diferentes, de acordo com os anos de educação do indivíduo. Além de possibilitar o rastreamento de perdas cognitivas na clínica, com uma sensibilidade de 76,9% e especificidade

de 89,9%, o MEEM também permite o seguimento evolutivo de doenças e o monitoramento de resposta terapêutica (Brucki, 2016).

A BBRC é composta pelo teste de memória de figuras, fluência verbal semântica e desenho do relógio, testes que podem avaliar diferentes habilidades cognitivas, como memória, linguagem e funções executivas (Nitrini *et al.*, 1994).

O teste de memória de figuras consiste em 10 figuras simples que são apresentadas ao paciente, com fases de nomeação e percepção, memória incidental, memória imediata, aprendizado, evocação tardia e reconhecimento. Depois são feitos os dois outros testes, fluência verbal, em que é solicitado ao paciente dizer o maior número de animais em 60 segundos, e a seguir faz-se o teste do desenho do relógio, no qual o paciente deve desenhar um relógio colocando os ponteiros marcando 2h45. O teste do relógio não é sugerido em indivíduos com baixa escolaridade, pois o desempenho é comprometido (Brucki, 2016).

A associação dos dados obtidos pelo MEEM e dos testes da BBRC possui alta acurácia diagnóstica e pode ser utilizada para o cálculo de um escore cognitivo global. A fim de eliminar um viés importante que é a escolaridade sobre o desempenho cognitivo, é necessário proceder a uma normalização dos dados de acordo com quatro níveis de escolaridade formal, sendo: analfabetos, 1-3, 4-7, e acima de 7 anos de escolaridade. Essa normalização é embasada em valores médios e desvios-padrão calculados para um grupo controle em cada teste para cada nível de escolaridade (Nitrini *et al.*, 1994).

2.3 Comprometimento cognitivo leve

Além do quadro demencial propriamente dito, existem outros distúrbios neurodegenerativos que surgem em consequências da idade como o comprometimento cognitivo leve (CCL). O CCL trata-se de um conceito em evolução, sendo uma condição que representa uma fase intermediária ou de transição da função cognitiva entre o envelhecimento saudável e a demência. Pode ser também caracterizado como uma síndrome cujo declínio cognitivo é maior que o esperado para a idade e para o nível educacional do indivíduo com alterações perceptíveis da memória episódica, mas que não interfere de forma significativa nas atividades diárias, não sendo incapacitante e não preenchendo os critérios clínicos para o diagnóstico de demência (Gauthier *et al.*, 2006; Petersen, 2011).

CCL é uma condição comum na velhice, pois estima-se que entre 10% e 20% das pessoas a partir de 65 anos sofram de CCL. A identificação do estado de CCL é algo

relevante, na medida em que sujeitos com essa condição têm maior conversão para a demência em comparação aos indivíduos sem CCL (Petersen, 2011; Schlögl & Holick, 2014). Hansson *et al.* (2006) demonstraram que os indivíduos com CCL que tinham baixos níveis do peptídeo β -amilóide e níveis elevados da proteína Tau no líquido cefalorraquidiano foram significativamente mais propensos a sofrer progressão para DA do que indivíduos sem este perfil. O risco de indivíduos com CCL desenvolverem DA é de 5%-15% ao ano (Moon, 2014).

O CCL pode ser considerado como um subconjunto de doenças das mais diversas de comprometimento cognitivo que não-demência, incluindo prejuízos resultantes de traumatismo craniano, abuso de drogas ou distúrbios metabólicos. A diferenciação de demência do CCL baseia-se na determinação da existência ou não de uma interferência significativa na capacidade funcional no trabalho ou nas atividades diárias habituais. Dessa forma, devido às especificidades desta síndrome clínica e cognitiva, as definições precisas entre a cognição normal e CCL e entre CCL e demência são difíceis, sendo que o julgamento clínico deve ser realizado por um médico especialista com base nas circunstâncias individuais do paciente para fazer essas distinções (Albert *et al.*, 2011; McKhann *et al.*, 2011). O CCL pode seguir várias trajetórias: uma condição transitória na qual o sujeito retorna à sua condição de normalidade cognitiva; a alteração cognitiva pode se manter estável, sem retorno à normalidade e sem piora das funções cognitivas; ou o CCL pode progredir para um padrão de declínio cognitivo que se caracteriza pela evolução para a demência, sendo considerada uma fase precoce da DA (Ward *et al.*, 2012). Estudos demonstraram que o CCL é um grupo heterogêneo no seu seguimento clínico. Os subtipos de CCL são caracterizados como: CCL amnésico e não amnésico. O indivíduo com CCL amnésico apresenta somente déficit de memória episódica, sendo que outras capacidades cognitivas, como a função executiva, o uso da linguagem e as habilidades visuoespaciais, são relativamente preservadas, e as atividades funcionais estão intactas, exceto talvez para algumas ineficiências suaves. Em ensaios clínicos com pacientes com CCL amnésico, mais de 90% dos indivíduos com progressão para demência apresentavam sinais clínicos de DA. No CCL não-amnésico verifica-se um déficit em outra habilidade cognitiva diferente da memória, afetando, por exemplo, a atenção, o uso da linguagem, ou as habilidades visuoespaciais. Esse tipo de CCL é menos comum do que o tipo amnésico e pode ser o precursor de demências que não estão relacionadas com a DA, como a degeneração lobar frontotemporal ou a demência com corpos de Lewy (Petersen, 2011).

2.4 Doença de Alzheimer

A DA foi descrita pela primeira vez em 1906 pelo médico psiquiatra e neurofisiologista alemão, Alois Alzheimer, quando descreveu a patologia da doença por meio de um estudo de caso de uma paciente com 51 anos, chamada Auguste Deter, na qual Alois observava alterações comportamentais e cognitivas incomuns para sua idade. Após seu falecimento constatou-se, por meio de necrópsia, que seu cérebro apresentava uma atrofia generalizada, com grande perda neuronal, principalmente em regiões relacionadas à memória e habilidades intelectuais. Este trabalho pioneiro abriu o caminho para inúmeros outros estudos (Instituto Alzheimer Brasil, 2016).

A DA cresce a cada ano devido ao aumento da expectativa de vida, havendo uma prevalência estimada de 10-30% na população maior de 65 anos de idade, com uma incidência de 1-3% ao ano. A maioria dos pacientes com DA (>95%) têm a forma esporádica, que é caracterizada por um aparecimento tardio da doença (80-90 anos de idade) (Colin *et al.*, 2015). A DA é uma doença poligênica, ou seja, há interação de fatores genéticos e ambientais e possui evolução insidiosa (Schlögl & Holick, 2014; Annweiler *et al.*, 2015).

A DA é um distúrbio neurodegenerativo crônico caracterizado por um progressivo e irreversível declínio cognitivo, com impacto deletério em certas funções intelectuais, como na memória, na orientação no tempo e no espaço, no pensamento abstrato, no aprendizado, na incapacidade de realizar cálculos simples, nos distúrbios da linguagem, na comunicação e na capacidade de realizar as tarefas cotidianas (Annweiler *et al.*, 2010).

Entre os sintomas comuns da DA estão a perda de memória; dificuldades para planejar e resolver problemas, executar tarefas domésticas, do trabalho ou lazer, confusão com locais e horários, problemas de linguagem oral e escrita, perda da capacidade de julgamento, mudança de humor e personalidade, apatia e depressão (Alzheimer's Association, 2015).

Para se estabelecer o diagnóstico da DA, necessita-se de uma avaliação clínico-neuropatológica, podendo ser auxiliada para maior confiabilidade diagnóstica, por exames de neuroimagem estrutural, molecular e funcional, e investigação de biomarcadores no líquido cefalorraquidiano (LCR) (Brucki, 2016).

Atualmente, não existe cura para a DA e nem um tratamento capaz de reverter os danos cerebrais, entretanto, tratamentos para minimizar os sintomas estão disponíveis, os quais podem diminuir temporariamente o agravamento das manifestações de demência,

retardar a evolução natural da doença, aliviar os déficits cognitivos e alterações comportamentais, a fim de melhorar a qualidade de vida dos pacientes e de seus familiares. Há uma contínua investigação com um esforço mundial em curso para encontrar melhores formas de se tratar a doença, atrasar o seu aparecimento, ou até mesmo impedir o seu desenvolvimento (Bottino *et al.*, 2002; Forlenza, 2005).

A DA pode apresentar-se sob duas formas, a de início precoce, que é rara, na qual os primeiros sintomas aparecem antes dos 65 anos, associada à forma familiar da doença; a outra, de início tardio, sendo a mais comum, onde normalmente os sintomas se desenvolvem após esta idade, estando associada à forma esporádica da doença. Esses dois tipos da DA têm, geralmente, diferentes padrões de herança genética.

Os casos de DA familiar (<1%) apresentam fatores de risco genéticos com padrão de transmissão autossômica dominante, incidindo em indivíduos mais jovens (habitualmente antes dos 65 anos de idade), determinados por mutações em um dos três genes: gene da proteína precursora de amiloide (APP), situado no cromossomo 21, e os genes da presenilina, *PSEN-1* (cromossomo 14) e *PSEN-2* (cromossomo 1), que codificam proteínas envolvidas no metabolismo da APP. Em indivíduos com trissomia do cromossomo 21 (Síndrome de Down), observa-se um aparecimento precoce dessa patologia provavelmente por possuírem uma terceira cópia do gene *APP* (Avramopoulos, 2009; Khorramet *al.*, 2013).

A DA de início tardio segue um padrão de herança complexo, possuindo um número pequeno, mas crescente, de genes já identificados que afetam, em diferentes graus, as chances de desenvolvê-la. O gene que exerce maior influência para a ocorrência da doença é o que codifica a apolipoproteína E (*ApoE*). Este gene é encontrado no cromossomo 19 e apresenta diferentes variações polimórficas que resultam nos alelos épsilon 2 ($\epsilon 2$), épsilon 3 ($\epsilon 3$) e épsilon 4 ($\epsilon 4$), para o qual é relatado que a presença de um ou dois alelos $\epsilon 4$ está associada com uma maior predisposição à doença, entretanto o alelo $\epsilon 2$ está relacionado com uma menor probabilidade de desenvolver a DA (Wilson *et al.*, 2002; Keeney & Butterfield, 2015).

O gene *ApoE* codifica uma glicoproteína envolvida no metabolismo e transporte de lipídios no organismo e reparação de lesões no cérebro. Ademais, a *ApoE* desempenha importante papel no metabolismo da glicose, na função mitocondrial, na neuroinflamação, na sinalização neuronal, no processamento da proteína beta-amiloide ($A\beta$) e na hiperfosforilação da proteína tau (Bu *et al.* 2009; Keeney & Butterfield, 2015).

Até o momento, apenas o gene da *ApoE* tem uma associação confirmada com a DA de início tardio. No entanto, variantes dos genes *CLU*, *PICALM*, *CR1*, *BIN1*, *ABCA7*, *MS4A*, *CD33*, *EPHA1* e *CD2AP* estão ligadas ao risco de desenvolvimento da DA, mas os seus efeitos são muito menores quando comparados ao gene *ApoE* (Alzheimer's Society, 2015). Por conseguinte, torna-se extremamente importante o estudo de outros genes a fim de conhecer melhor aspectos genéticos que estejam associados à DA.

2.4.1 Fatores de risco e fisiopatologia da Doença de Alzheimer

Os fatores de risco associados à DA podem ser divididos em modificáveis e não modificáveis. O envelhecimento é o principal fator de risco não modificável, mas também são importantes o polimorfismo da *ApoE* ($\epsilon 4$), mutações genéticas relacionadas à DA familiar e a ocorrência de CCL. Dentre os fatores de risco modificáveis estão o nível educacional, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, processo inflamatório, obesidade, tabagismo, sedentarismo, depressão, trauma com lesão cerebral, engajamento social e cognitivo. Muitos deles não podem ser alterados, entretanto, medidas podem ser realizadas para reduzir os riscos, uma vez identificados (Keeney & Butterfield, 2015; Brucki, 2016).

As principais características conhecidas da patologia da DA são o acúmulo de placas de proteína β -amiloide ($A\beta$), emaranhados neurofibrilares (causados pela hiperfosforilação da proteína tau), déficit colinérgico, extensa perda neuronal, alterações sinápticas no córtex cerebral, e redução progressiva do volume cerebral, especialmente nas áreas associadas à memória e maior função executiva, como o hipocampo (Keeney & Butterfield, 2015; ABRAZ, 2016).

O peptídeo $A\beta$, que inicialmente se agrega em oligômeros, exerce uma ação deletéria na ação sináptica colinérgica, alterando o mecanismo envolvido na formação de memória a longo prazo. O acúmulo de $A\beta$ no cérebro causa efeitos neurotóxicos diretos, como dano oxidativo por ação na peroxidação lipídica; oxidação de proteínas e formação de oxigênio e nitrogênio reativos; interferência no transporte e na síntese de glutamato, com aumento de radicais livres pela excitotoxicidade; e dano inflamatório aos neurônios por ação da micróglia reativa quando ocorre o depósito amiloide extracelular (Brucki, 2016).

É descrito também a hipótese de que a neuroinflamação esteja relacionada com a origem da neurodegeneração na DA, uma vez que as citocinas liberadas durante este processo podem prejudicar o funcionamento de diversos processos celulares. Observa-se no processo de inflamação crônica no cérebro danos aos neurônios e às células da glia, os quais provocam danos nas áreas do cérebro essenciais para a cognição (Marchesi *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2015).

2.4.2 Biomarcadores da Doença de Alzheimer no líquido cefalorraquidiano

Uma das causas da neurodegeneração na DA é a clivagem proteolítica anormal da APP, determinada pela ação de α -, β - e γ -secretases, que favorecem a produção de um fragmento de 42 aminoácidos ($A\beta_{1-42}$), ao invés da clivagem normal, na qual é produzida a forma mais comum da proteína $A\beta$, com 40 aminoácidos. O fragmento com $A\beta_{(1-42)}$ apresenta maior capacidade de agregação e deposição na parte extracelular dos neurônios, levando conseqüentemente à formação de fibras amiloides ou placas senis, que prejudicam o funcionamento das sinapses (Lucatelli *et al.*, 2009; Bekris *et al.*, 2010).

Também ocorre na patologia da DA a formação de emaranhados neurofibrilares, que consistem em filamentos helicoidais da proteína Tau hiperfosforilada (Tau-P), que se acumulam no citoplasma neuronal (Munoz & Feldman, 2000), e que têm como função estabilizar os microtúbulos neuronais, o que estaria prejudicado na DA, além de comprometer o transporte de nutrientes e moléculas essenciais para os neurônios (Parihar & Taruna, 2004; Rudy *et al.*, 2010).

Embora a maioria das pessoas desenvolva algumas placas e emaranhados à medida que envelhecem, indivíduos com DA tendem a desenvolver em proporções muito maiores com um padrão previsível, começando em áreas importantes para a memória antes de se espalhar para outras regiões. A maioria dos especialistas acreditam que as modificações causadas por essas proteínas no cérebro desempenhem um papel crítico no bloqueio da comunicação entre as células nervosas e perturbam os processos que as células necessitam para sobreviver (Alzheimer's Association, 2016).

O diagnóstico da DA é realizado de forma clínica, mas há uma constante investigação em busca de outros marcadores clínicos ou biológicos que possam auxiliar na obtenção de uma melhor acurácia diagnóstica. Assim, nos últimos dez anos, diversas pesquisas têm sido conduzidas no intuito de obter a validação de biomarcadores no LCR que possam ajudar e facilitar o diagnóstico dessa síndrome demencial, tornando-o mais precoce e preciso (ABRAZ, 2016).

A análise de biomarcadores no LCR pode ser muito útil na identificação de causas específicas de demência, especialmente infecções do SNC, e doenças neoplásicas e inflamatórias, evitando diagnósticos equivocados (Nitrini *et al.*, 2005). Podem ser usados também na identificação de indivíduos assintomáticos em risco de desenvolvimento e em estágios pré-clínicos da DA, no acompanhamento da progressão da doença e na avaliação de resposta ao tratamento (Babic *et al.*, 2014). As análises no LCR consistem principalmente na dosagem da $A\beta$ ($A\beta_{1-42}$), Tau-T e Tau-P (Caramelli *et al.*, 2011; Dubois *et*

al., 2014). Normalmente, a A β é eliminada pelo LCR, mas nos pacientes com DA, sua concentração no LCR cai em virtude de sua acumulação no cérebro. Simultaneamente, com a morte neuronal, a Tau-T e Tau-P que também são normalmente eliminadas pelo LCR, estão aumentadas. Desse modo, na DA ocorre diminuição da concentração de A β e aumento da concentração de Tau-T e Tau-P no LCR. Estudos sugerem que os níveis desses marcadores no LCR refletem a intensidade de degeneração e dano neuronal no cérebro, os quais são capazes de diferenciar os pacientes com DA de idosos saudáveis com 80-90% de sensibilidade e especificidade (Blennow *et al.*, 2010).

A interpretação destes biomarcadores no LCR deve ser sempre criteriosa e confrontada com o quadro clínico, sendo que os resultados dos biomarcadores devem sempre ser avaliados em conjunto para a caracterização da assinatura patológica da DA, conferindo uma força diagnóstica no achado laboratorial (Caramelli *et al.*, 2011; Dubois *et al.*, 2014). Por conseguinte, o IATI - Innotest Amiloide Tau Index - obtido pela relação entre os valores de A β e Tau: $(A\beta_{1-42}/(240 + 1.18 \times \text{Tau}))$, assim com a relação Tau Total/A β , parecem apresentar melhor interpretação diagnóstica para a DA do que o resultado isolado de cada biomarcador (Mattsson *et al.*, 2013; Magalhães *et al.*, 2015).

2.5 Vitamina D

A vitamina D (VITD) funciona como um hormônio esteroide, pois pode ser produzida de forma endógena através da pele a partir da exposição à luz solar (raios UVB). É sintetizada a partir da conversão de um precursor, o 7-deidrocolesterol, sendo que parte dela é proveniente de poucas fontes alimentares, tais como óleo de fígado de bacalhau, salmão, gema do ovo, sardinha e leite (Alves *et al.*, 2013).

O termo VITD engloba um grupo de moléculas secosteroides, sendo que entre suas várias formas, a vitamina D2 (ergocalciferol) e vitamina D3 (colecalciferol) são as principais. A vitamina D2 é encontrada essencialmente a partir de fontes vegetais como cogumelos, cereais e óleos vegetais, enquanto que a vitamina D3 é sintetizada pela pele (cerca de 80% da VITD usada no organismo) ou proveniente de fontes de animais. Ambas as formas, uma vez ingeridas, são metabolizadas da mesma maneira (Landel *et al.*, 2016)

Os fatores que influenciam a síntese de VITD pela pele são bastante variáveis, dependendo da exposição à luz solar, pigmentação, envelhecimento, sexo, etnia, obesidade, perfil lipídico, latitude, estação do ano, vestuário, uso de protetor solar, condições meteorológicas locais e fatores genéticos. Os níveis de VITD são consideravelmente mais baixos na etnia negra do que na etnia branca, devido à maior pigmentação da pele necessitando, assim, maior exposição ao sol ou ingestão de VITD para

obter nível sérico adequado. Normalmente, para indivíduos brancos estima-se que 30 minutos de exposição corporal ao sol diariamente durante o verão originam níveis de VITD clinicamente suficientes (Alves *et al.*, 2013; Schlögl & Holick, 2014; Gangwar *et al.*, 2015).

A VITD proveniente da pele ou da dieta é biologicamente inerte e requer uma primeira hidroxilação no fígado, pela 25-hidroxilase, formando a 25-hidroxivitamina D (25(OH)D), forma parcialmente hidrossolúvel que circula ligada às proteínas plasmáticas. Esta requer mais uma hidroxilação a nível renal, pela 1 α -hidroxilase, para formar a 1,25-dihidroxivitamina D (1,25(OH)₂D), a forma biologicamente ativa da VITD. Esta forma, que é responsável pela regulação de mais de 200 genes, circula em concentrações inferiores àquelas da 25(OH)D, mas tem uma afinidade muito maior com os receptores da VITD (VDR) presentes em vários tecidos e é biologicamente mais potente (Alves *et al.*, 2013; Schlögl & Holick, 2014; Landel *et al.*, 2016). A Figura 1 apresenta o metabolismo da VITD e ações mediadas pela sua forma ativa.

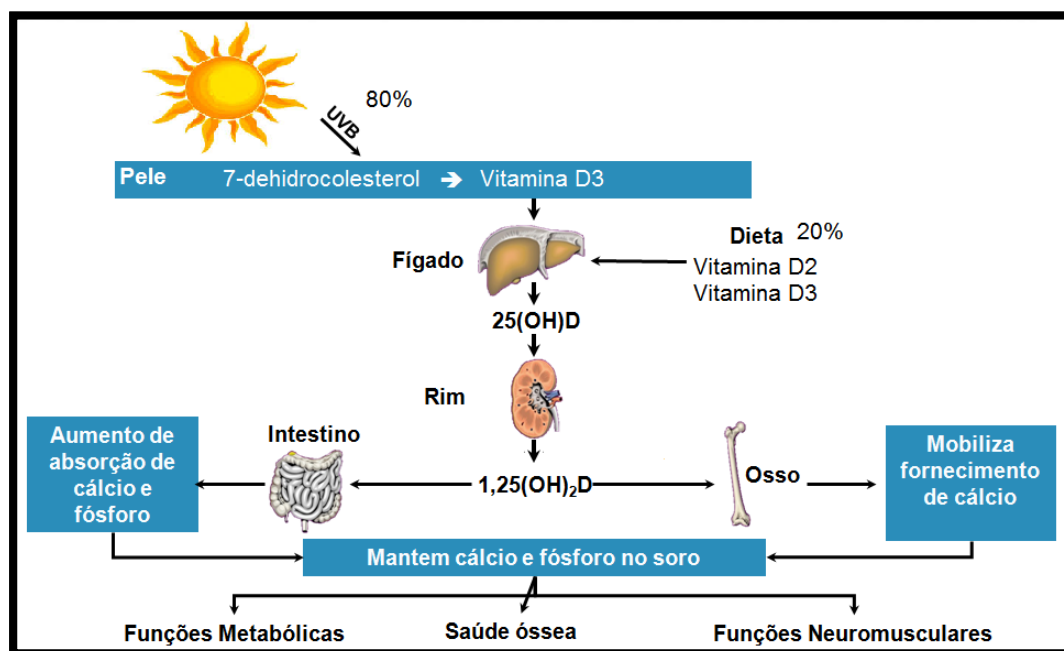


Figura 1: Metabolismo da vitamina D e ações mediadas pela forma ativa da vitamina D. A vitamina D da pele ou da dieta é biologicamente inerte e é transportada até o fígado onde sofre sua primeira hidroxilação transformando-se em 25(OH)D. A 25(OH)D é então levada até o rim transformando-se em 1,25(OH)₂D. A vitamina D ajuda a manter os níveis de cálcio e fósforo séricos por atuar sobre os tecidos ósseos e na absorção intestinal desses íons, os quais atuam nas funções metabólicas, neuromusculares e óssea. (Adaptada Holick, 1998).

O envelhecimento populacional, dieta que fornece pouca VITD e mudança no estilo de vida do ser humano, com uma drástica redução da exposição à luz solar, está causando

uma hipovitaminose D generalizada. Diversos estudos recentes mostram que a deficiência de VITD está presente em proporções epidêmicas em várias partes do mundo, acompanhada de diversos agravos à saúde, sendo aproximadamente 14% da população mundial com níveis insuficientes de VITD (Galvão *et al.*, 2013; Chei *et al.*, 2014; Gangwar *et al.*, 2015).

Sabe-se que a VITD é muito importante para a regulação do metabolismo ósseo, e que sem ela, apenas 10-15% da dieta do cálcio é absorvido. Entretanto, evidências recentes sugerem um papel imunomodulador da VITD em várias funções do organismo, correlacionando níveis insuficientes de VITD com um risco aumentado de desenvolvimento de várias patologias não ósseas. Estudos destacam o impacto da deficiência de VITD como fator que favorece o desenvolvimento de diversas doenças, entre elas as cardiovasculares, neurológicas, auto-imunes, diabetes mellitus e doenças malignas (Mpandzou *et al.*, 2015; Moon, 2014). Desse modo, a concentração suficiente de VITD no organismo é essencial para a manutenção da boa saúde em geral, sendo que muitos países desenvolvidos já reconhecem seus benefícios para o organismo, e fortificam alimentos com VITD (Alves *et al.*, 2013; Galvão *et al.*, 2013).

Apesar do reconhecimento da importância da VITD para a saúde, com expressivo número de estudos pela comunidade científica sobre aspectos moleculares da fisiologia e epidemiologia da VITD, algumas questões ainda são controversas. Essas incluem as razões para uma parcela tão extensa da população mundial apresentar baixos níveis de VITD, qual seria o melhor ensaio laboratorial para a dosagem e quais parâmetros devem ser utilizados para definir adequadamente os pontos de corte para expressar suficiência, insuficiência ou deficiência de VITD (Castro, 2011).

2.5.1 Dosagem do nível sérico da vitamina D

O *status* da VITD é determinado pelo nível sérico de 25(OH)D, que corresponde à soma de 25(OH)D₂ e 25(OH)D₃. O nível sérico de 25(OH)D é o melhor indicador do conteúdo corporal de VITD ao refletir a vitamina obtida a partir da ingestão alimentar e da exposição à luz solar, bem como a conversão de VITD a partir dos depósitos adiposos no fígado (Alves *et al.*, 2013).

Normalmente, a dosagem da 1,25(OH)₂D não é realizada, a não ser por investigações de insuficiência por motivo renal, por ser instável, ter meia-vida curta e concentrações séricas em média 1.000 vezes inferiores às da 25(OH)D.

Até o momento, não há consonância na comunidade acadêmica sobre a melhor classificação em relação aos níveis séricos de 25(OH)D, mas atualmente a mais utilizada considera-se um valor sérico de 25(OH)D inferior a 30ng/mL como nível não suficiente de VITD. Sendo assim, é importante que a determinação desses valores seja gerada com base em estudos clínicos e epidemiológicos e conforme o método utilizado para dosagem (Mpandzou *et al.*, 2015; Littlejohns *et al.*, 2015).

Os valores de 25(OH)D podem ser expressos em nmol/L ou ng/mL (1 ng/mL corresponde a 2,496 nmol/L). Na maioria dos estudos aqui relatados, os valores são classificados de acordo com o Quadro 1, a seguir:

Quadro 1: Valores de referência para os níveis séricos de 25(OH)D.

Nível de 25(OH)D (ng/mL)	Nível de 25(OH)D (nmol/L)	Classificação quanto aos níveis
< 20	<50	Deficiência
20 - 30	50 - 80	Insuficiência
31- 100	80 - 250	Suficiente
>100	>250	Excesso
>150	>325	Intoxicação

Fonte: (Grant & Holick, 2005)

Apesar da melhoria dos ensaios para dosagem da 25(OH)D, há variabilidade dos resultados laboratoriais, sendo que essa imprecisão analítica resulta em dificuldade na aplicação de limites diagnósticos rígidos. Embora existam vários métodos de dosar a 25(OH)D [por radioimunoensaio, quimioluminescência, ensaios enzimáticos, cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), espectrometria de massa (MS) ou por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LC/MS)], a precisão e exatidão destes testes ainda não são satisfatórias (Alves *et al.*, 2013).

Em alguns imunoensaios há medição de 25(OH)D₂ e 25(OH)D₃, porém a detecção de 25(OH)D₂ é variável e possui poucas informações disponíveis para a padronização. Dessa maneira, alguns imunoensaios podem levar a erros de interpretação e classificação clínica, no entanto, os imunoensaios têm a vantagem da automação na dosagem e uma boa sensibilidade (<25nmol/L) (De La Hunty *et al.*, 2010).

Para resolver os problemas decorrentes dos métodos de imunoenensaio, técnicas de medição da 25(OH)D baseadas em CLAE e MS têm sido utilizadas como métodos analíticos de referência, possuindo detecção de 25(OH)D₂ e 25(OH)D₃ com boa sensibilidade, precisão e correção de amostras com padrão interno. Entretanto, sua utilização é limitada pelos custos operacionais, trabalho intenso para procedimento de tratamento prévio de extração da amostra e ausência de consistência na padronização (De La Hunty *et al.*, 2010; Alves *et al.*, 2013).

À medida que procuramos compreender os recentes papéis da VITD para a saúde, a importância da sua medição exata torna-se essencial. É necessária melhor concordância entre os métodos, tanto para permitir a comparação mais significativa entre os estudos de investigação, como também para facilitar um acordo sobre a dosagem adequada para a uma terapia de suplementação com VITD (Alves *et al.*, 2013).

2.6 Receptor da vitamina D

É proposto que a VITD esteja associada a diversas funções no organismo, possuindo, portanto, ação pleiotrópica complexa. Porém, permanece sem comprovação se a concentração sérica de 25(OH)D reflete verdadeiramente o resultado funcional da ação de VITD em outras áreas, além da sua ação clássica no metabolismo ósseo, e até que ponto sua atuação é afetada pelos diversos fatores como alterações ambientais, enzimas metabólicas, proteínas de ligação, ou polimorfismos genéticos do seu receptor (Landel *et al.*, 2016).

A sinalização da 1,25(OH)₂D é mediada pelo receptor da vitamina D (VDR), pertencente à família dos receptores nucleares dos hormônios. A forma livre do receptor está presente no citoplasma, e quando ligado à forma ativa da VITD, transloca-se para o núcleo, onde irá associar-se a promotores de diversos genes, modulando a expressão dos mesmos e produzindo múltiplos efeitos biológicos (Thomaz, 2013).

O VDR é encontrado em diversos tecidos e conhecido por modular a proliferação, diferenciação celular, e a absorção de cálcio pelo intestino (Kamel *et al.*, 2014). Entre as poucas células que não apresentam receptores para VITD estão as hemácias, células musculares estriadas maduras e algumas células altamente diferenciadas SNC, como as células de Purkinje e os neurônios do setor CH4 do prosencéfalo basal (Castro, 2011).

O gene *VDR* está localizado no cromossoma 12q13, composto por 14 éxons, sendo 6 deles não codificantes, e abrange 75 kb do DNA genômico. O *VDR* codifica um receptor

nuclear com efeitos pluripotentes, que é capaz de se ligar especificamente ao DNA quando ativado (Khorram *et al.*, 2013; Keeney & Butterfield, 2015; Annweiler *et al.*, 2015).

2.6.1 Polimorfismos do gene *VDR*

Polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) do gene *VDR* humano podem modificar a via da VITD, tornando a interação entre *VDR* e VITD alterada, correlacionando, assim, o *VDR* a fatores de risco independentemente da concentração de VITD no organismo (Gezen-AK *et al.*, 2012; Gangwar *et al.*, 2015).

Polimorfismos do gene *VDR* são associados com alteração na estrutura da proteína ou expressão genética alterada. Mais de 30 SNPs no gene *VDR* foram descritos, mas há quatro variantes, denominadas de acordo com as enzimas de restrição utilizadas na sua identificação, que têm sido mais extensamente estudadas: FokI (rs10735810), BsmI (rs1544410), Apal (rs7975232) e TaqI (rs731236) (Kamel *et al.*, 2014; Agnello *et al.*, 2016).

Os polimorfismos BsmI, Apal e TaqI estão localizados na extremidade 3'-UTR do gene. BsmI e Apal estão localizados dentro de íntrons, portanto, não resultam em alterações estruturais da proteína *VDR*, mas regulam a estabilidade do mRNA, sendo que a substituição do alelo A (adenina) por G (guanina) e do alelo A por C (citosina), respectivamente, podem influenciar na expressão da proteína *VDR*. TaqI está localizado no éxon 9 e sua transição do alelo T (timina) para o alelo C resulta em uma mutação silenciosa (ambos codificam a isoleucina) no gene *VDR*, sendo ainda necessário investigar como esta alteração silenciosa modifica a estrutura da proteína (Kamel *et al.*, 2014; Agnello *et al.*, 2016).

Outra variante localizada próximo à região 5'-UTR no sítio de iniciação da tradução do *VDR*, o polimorfismo FokI, modifica o códon de iniciação da tradução, influenciando a atividade transcricional do gene. A substituição do alelo C para T gera variação no comprimento da proteína *VDR*. A proteína *VDR* mais curta, com 424 aminoácidos, parece apresentar maior ativação das células-alvo do que a variante com 427 aminoácidos, resultando numa diferença na modulação dos fatores de transcrição sobre os quais a VITD atua (Mathieu & Badenhop, 2005; Agnello *et al.*, 2016; Landel *et al.*, 2016). A Figura 2 apresenta a estrutura do gene *VDR*.

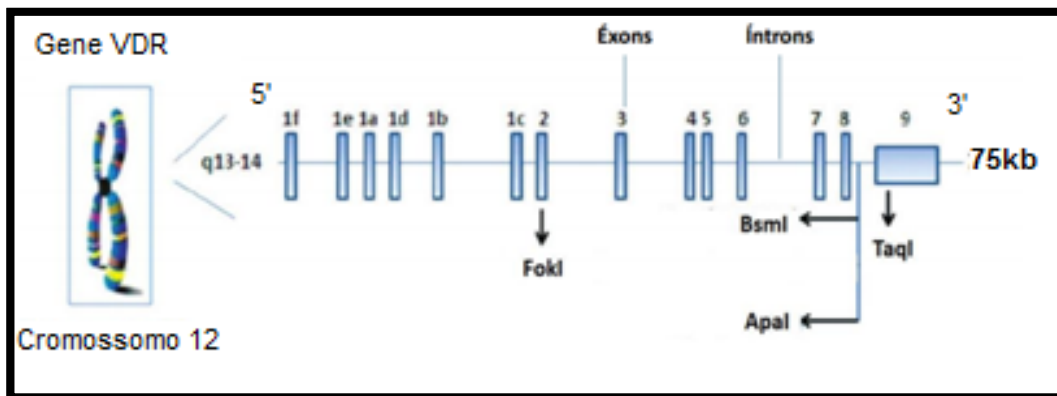


Figura 2: Estrutura do gene *VDR*. Estende-se por uma região genômica de 75kb e contém 14 éxons (indicados com caixas). As posições aproximadas dos quatro polimorfismos (FokI, BsmI, Apal e TaqI) são indicadas com setas (Fonte: adaptada de Manchanda *et al.*, 2012).

2.7 Vitamina D e cognição

Nas últimas décadas, houve um aumento significativo de estudos sugerindo que a dieta é uma das mais importantes variáveis para a boa saúde, demonstrando que a ingestão adequada de alimentos, como as vitaminas, influencia diretamente a prevenção de diversas doenças incluindo a demência (Ulstein & Böhmer, 2016).

A VITD é reconhecida pelos seus benefícios na absorção e metabolismo do cálcio, mas muitas investigações têm mostrado que a VITD também regula uma grande quantidade de genes, os quais exercem ações específicas sobre alvos biológicos, tais como o sistema nervoso. Estes efeitos não clássicos de VITD não são, entretanto, surpreendentes, haja vista que o VDR é encontrado em diversos tipos de células no SNC, incluindo neurônios e células gliais do hipocampo, córtex e zona sub-cortical, regiões estas essenciais para a cognição (Hooshmand *et al.*, 2014; Tucker, 2016). Além disso, a $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ é encontrada no LCR, e genes que codificam elementos para a sua biossíntese são expressos no cérebro (Gangwar *et al.*, 2015).

Milhares de pessoas são deficientes em VITD em todo o mundo, mas os idosos são, especialmente, os mais afetados. Neste grupo, aos 70 anos, a capacidade da pele para sintetizar a VITD é reduzida em mais de 50% quando comparados com pessoas de 20 anos de idade. Os principais fatores que contribuem para esta deficiência são o afinamento da pele, a comum desnutrição e o confinamento de idosos. No entanto, o envelhecimento não afeta a absorção intestinal da VITD, sendo possível a reversão desse quadro de hipovitaminose D através de suplementação (Schlögl & Holick, 2014; Annweiler *et al.*, 2015).

Vários estudos correlacionam a VITD com funções neurológicas, podendo ter um papel imunomodulador, com um efeito anti-inflamatório e anti-auto-imune, e impacto na neuroplasticidade (Gangwar *et al.*, 2015). Evidências acumuladas indicam a associação entre as concentrações mais elevadas de VITD e a melhoria da saúde cognitiva, sugerindo um aumento significativo no risco de desenvolver transtorno cognitivo em pessoas com baixos níveis de 25(OH)D em comparação com aqueles com níveis normais (Balion *et al.*, 2012; Schlögl & Holick, 2014; Annweiler *et al.*, 2015).

Vários estudos descrevem possíveis funções da VITD no SNC, como ação neuroesteroide, modulação da produção de fator de crescimento neuronal (NGF), síntese do óxido nítrico induzível (iNOS) e maior sobrevivência dos neurônios após exposição a estímulos citotóxicos. Também relacionam que a ligação da VITD ao VDR desencadeia uma proteção neuronal contra processos degenerativos presentes na DA, incluindo a ação anti-inflamatória; o efeito anti-oxidante; o controle da homeostase do cálcio, através da regulação da concentração de cálcio intracelular em neurônios do hipocampo; a indução da expressão genética de diversos neurotransmissores; a regulação de agentes neurotróficos; o controle da diferenciação neuronal e na maturação, e aumento da atividade de colina-acetiltransferase no cérebro (Balion *et al.*, 2012; Mpandzou *et al.*, 2015; Annweiler *et al.*, 2011- 2015 - 2016).

Banerjee *et al.* (2015) relataram uma diminuição do mRNA do VDR na região do hipocampo por meio de análise *post-mortem* no cérebro de pacientes com DA. Em outros experimentos com animais e com culturas de células, verificaram-se ações neuroprotetoras da VITD, como a estimulação dos macrófagos, o que aumenta a degradação das placas β -amiloides, redução da citotoxicidade e da apoptose em neurônios (Annweiler *et al.*, 2015; Assmann *et al.*, 2015).

Efeitos neuroprotetores foram relatados por testes comparativos clínicos que mostraram promoção da neurotransmissão, neurogênese, fagocitose e depuração da A β e a prevenção da morte neuronal após a suplementação de VITD, sejam na população idosa geral ou em pacientes com sintomas de DA, sugerindo que a suplementação com VITD pode contribuir para a prevenção contra esses distúrbios neurológicos (Annweiler *et al.*, 2014; Littlejohns *et al.*, 2014; Schlögl & Holick, 2014; Assmann *et al.*, 2015).

Bartali e colaboradores (2014) realizaram um estudo durante 9 anos, onde investigaram, em cada ano, os níveis de VITD em relação ao estado cognitivo de mulheres idosas. Como resultado, foi observada uma associação entre maiores concentrações de VITD com uma melhor função cognitiva, após 6 anos de *follow-up*.

Por meio de estudos experimentais, vários autores também sugeriram que níveis adequados de VITD e VDR em idosos podem estar associados a um melhor estado cognitivo. Em experimentos com cultura de células, observou-se que as concentrações mais elevadas de 25(OH)D e expressão de *VDR* foram associadas com menor acúmulo de $A\beta_{(1-42)}$, maior volume de substância branca, e maiores medidas volumétricas de várias estruturas cerebrais, incluindo estruturas do lobo temporal medial, como amígdala e hipocampo (Grimm *et al.*, 2013; Durk *et al.*, 2014; Hooshmand *et al.*, 2014).

Em uma revisão de 37 estudos realizada por Balion *et al.* (2012), concluiu-se que pacientes com MEEM mais elevados foram associados com concentrações de 25(OH)D maiores que 50nmol/L. Em outro estudo experimental, com suplementação de VITD, também observou-se um aumento na pontuação no MEEM, concluindo que os níveis mais baixos de VITD aumenta o risco para a DA (Gangwar *et al.*, 2015).

O VDR é encontrado em várias regiões do cérebro, como no lobo temporal, córtex orbitofrontal, giro cingulado do tálamo e amígdala (Landel *et al.*, 2016). Estudos recentes sugerem que o *VDR* pode ser um novo fator de susceptibilidade genética para a DA, considerando que uma redução significativa no número de mRNA do *VDR* está associada à DA (Annweiler *et al.*, 2014 - 2016).

Diversos estudos têm objetivado verificar se polimorfismos do gene *VDR* podem aumentar o risco de desenvolvimento de DA, sugerindo que suas variações podem diminuir a afinidade do VDR pela VITD. Assim, os achados encontrados, até o momento, propõem uma investigação mais aprofundada sobre as associações entre os polimorfismos do *VDR* e a DA (Gezen-AK *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2014; Banerjee *et al.*, 2015; Łaczmański *et al.*, 2015; Annweiler, 2016). A Figura 3 apresenta os potenciais papéis da VITD no SNC.

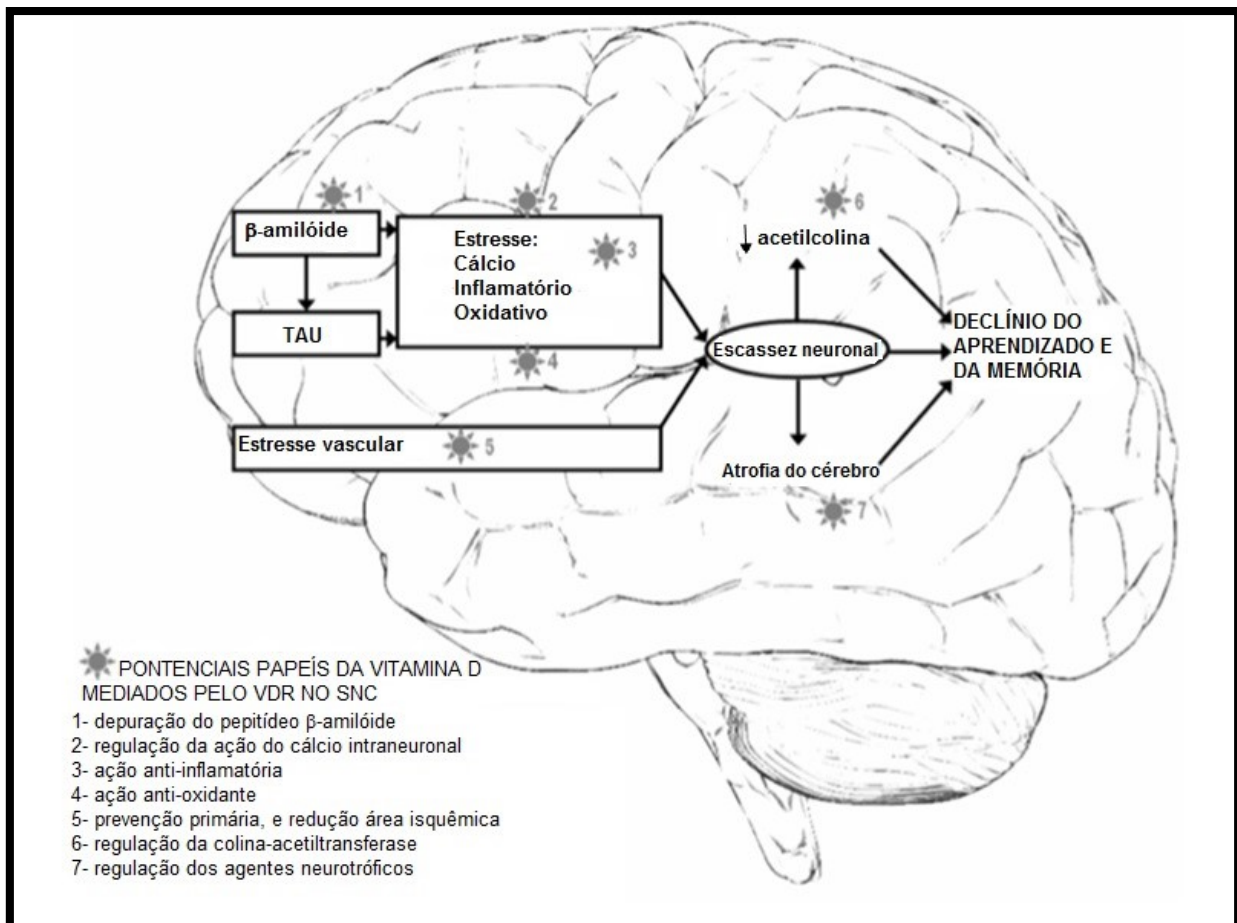


Figura 3: Potenciais papéis da vitamina D no sistema nervoso central (SNC). (Adaptado de Annweiler *et al.*, 2014).

Como os tratamentos farmacológicos para DA são limitados, é de grande interesse compreender como a dieta, inclusive de VITD, pode reduzir o risco DA e sua progressão. O baixo *status* da VITD e polimorfismos do gene *VDR* podem ser potenciais fatores de risco metabólico para demência. Enquanto os dados não confirmam esta relação causal entre a deficiência de VITD e incidência de demência, levanta-se a possibilidade de que os dois possam estar etiológicamente ligados aos mesmos fatores de risco (Moon, 2014; Hooshmand *et al.*, 2014; Yesil *et al.*, 2015; Berti *et al.*, 2015). Há, inclusive, explicações voltadas para um cenário de causalidade inversa, onde a baixa ingestão de VITD ou a falta de exposição à luz solar, seriam consequências da própria deficiência cognitiva (Annweiler *et al.*, 2011).

3. JUSTIFICATIVA

A associação da VITD com a DA é de interesse em saúde pública porque tratamentos eficazes para a doença ainda não estão disponíveis. Além disso, o declínio cognitivo é um processo que ocorre a longo prazo, especialmente no caso da DA, em que o diagnóstico é precedido por uma longa fase pré-sintomática (podrômica). Assim, uma vez estabelecida a associação da VITD com a DA, seria possível intervir de forma preventiva ou no sentido de retardar a evolução da doença (Assmann *et al.*, 2015).

Estudos sugerem que a sinalização de VITD está envolvida no desenvolvimento e função cerebral e que baixas concentrações de VITD no organismo estão associadas com a prevalência da DA, outras demências e comprometimento cognitivo (Balion *et al.*, 2012; Littlejohns *et al.*, 2014). Isso é motivo de preocupação, dadas as altas taxas de envelhecimento e deficiência de VITD em idosos.

A evidência epidemiológica indica uma associação entre a VITD e cognição, contudo, como os níveis plasmáticos adequados de VITD afetam o desempenho cognitivo permanece inconsistente (Schlögl & Holick, 2014; Assmann *et al.*, 2015). Assim, os dados disponíveis sugerem que mais pesquisas são necessárias para promover uma melhor compreensão do papel da VITD na DA. Até o momento, a pesquisa sobre VITD e cognição em população idosa brasileira é inexistente.

Assim, o presente estudo justifica-se por tentar elucidar os mecanismos envolvidos na ação da VITD e os polimorfismos do gene *VDR* que podem predispor aos distúrbios demenciais. A análise dos dados que foram obtidos poderão contribuir para a definição de novas hipóteses de estudo ou mesmo para auxiliar no estabelecimento de medidas terapêuticas que ajudarão na prevenção destas doenças ou no retardo da sua evolução.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Investigar se existe associação entre os níveis séricos da VITD e polimorfismos no gene *VDR* com as variáveis laboratoriais e desempenho cognitivo em uma população idosa com CCL e DA.

4.2. Objetivos específicos

- Comparar os níveis de VITD entre pacientes (DA e CCL) e controles e correlacionar com o estado cognitivo em cada grupo.
- Comparar os parâmetros bioquímicos entre os grupos.
- Investigar a associação dos polimorfismos TaqI, BsmI, ApaI, e FokI do gene *VDR* com a DA e CCL.
- Investigar a associação dos polimorfismos do gene *VDR* com os níveis de VITD.
- Comparar os níveis de VITD e a frequência dos polimorfismos de *VDR* com resultados laboratoriais constantes nos prontuários, bem como com polimorfismos do gene da ApoE.
- Avaliar os níveis de VITD em idosos com CCL e associar com o declínio cognitivo medido durante acompanhamento clínico (*follow-up*) por cerca de um ano.

5. CAPÍTULO 1

Avaliação dos níveis plasmáticos de vitamina D e polimorfismos no gene do seu receptor em pacientes com distúrbios cognitivos

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, há um crescimento expressivo do número de idosos no mundo e, concomitantemente a este envelhecimento populacional, observa-se um aumento na prevalência das doenças que têm como principal fator de risco a idade, como a demência (WHO, 2011).

Demência é um termo geral caracterizado por uma diminuição da capacidade mental, associada a outras alterações nas habilidades, as quais podem causar limitações na autonomia funcional e na qualidade de vida dos indivíduos. Já o comprometimento cognitivo leve (CCL) é um termo utilizado para o grupo de indivíduos que está em um estágio intermediário entre o envelhecimento saudável e o declínio cognitivo, que possui uma alta incidência de conversão para demência (Gauthier *et al.*, 2006). O diagnóstico de ambas as formas clínicas é realizado com auxílio de testes neuropsicológicos que avaliam o desempenho cognitivo em vários domínios, sendo os exames mais utilizados o Mini-Exame do Estado Mental (MEEM) e a Bateria Breve de Rastreamento Cognitivo (BBRC), corrigidos pela escolaridade, os quais apresentam boa especificidade e sensibilidade (Nitrini *et al.*, 2005; Brucki, 2016).

A principal causa de demência é a Doença de Alzheimer (DA), um distúrbio neurodegenerativo crônico caracterizado por um progressivo e irreversível declínio cognitivo, identificado como uma doença poligênica/multifatorial complexa com evolução insidiosa. A etiologia está associada ao acúmulo de placas de proteína β -amilóide (A β) e emaranhados neurofibrilares causados pela hiperfosforilação da proteína Tau (ABRAZ, 2016), as quais têm sido utilizadas como biomarcadores no Líquor para auxiliar no diagnóstico mais preciso e precoce (Caramelli *et al.*, 2011).

A DA pode apresentar-se sob duas formas: de início precoce, que é rara, onde os primeiros sintomas aparecem antes dos 65 anos, sendo os principais genes envolvidos relacionados com o metabolismo da proteína precursora amilóide; e de início tardio, que segue um padrão de herança complexo, no qual o gene da Apolipoproteína E (ApoE) é conhecidamente aquele que exerce maior influência para ocorrência da doença, sendo relatado que a presença de um ou dois alelos $\epsilon 4$ está associada com maior risco genético para o desenvolvimento da DA (Wilson *et al.*, 2002; Keeney & Butterfield, 2015).

A vitamina D (VITD) é sintetizada pela pele por meio da exposição à luz solar (UVB), sendo parte dela proveniente de fontes alimentares. A sinalização da VITD é mediada pelo receptor da vitamina D (VDR), que associa-se aos promotores de diversos genes, modulando a expressão dos mesmos e promovendo múltiplos efeitos biológicos (Thomaz,

2013). O gene *VDR* está localizado no cromossomo 12q13, composto por 14 éxons e abrange 75 kb do DNA genômico. Polimorfismos de base única (SNPs) no gene *VDR* foram associados com alterações na função gênica, sendo quatro variantes mais extensamente estudadas, determinadas de acordo com as enzimas de restrição utilizadas para sua detecção: FokI (rs10735810), BsmI (rs1544410), ApaI (rs7975232) e TaqI (rs731236). FokI e TaqI estão localizadas em regiões exônicas, enquanto BsmI e ApaI estão em regiões intrônicas do gene *VDR*. Estes SNPs estão associados com alteração do local de iniciação da tradução (FokI), alteração na função da proteína (TaqI) ou em sua expressão (BsmI e ApaI) (Mathieu *et al.*, 2005; Kamel *et al.*, 2014; Landel *et al.*, 2016; Agnello *et al.*, 2016).

O VDR é encontrado em muitos tipos celulares, incluindo neurônios e células gliais do hipocampo, córtex e zona sub-cortical, regiões estas essenciais para a cognição (Hooshmand *et al.*, 2014; Tucker *et al.*, 2016). Alguns estudos têm relacionado níveis adequados da VITD à ação anti-inflamatória e antioxidante, à indução de genes neurotransmissores, à regulação de agentes neurotróficos e depuração de A β (Balion *et al.*, 2012; Schlögl & Holick, 2014; Annweiler *et al.*, 2015). Outros estudos têm também objetivado verificar se os polimorfismos do gene *VDR* seriam fatores de risco para o desenvolvimento da DA, sugerindo que as variantes podem diminuir a afinidade do VDR pela VITD, podendo ocasionar neurodegeneração, conferindo um risco aumentado de declínio cognitivo (Moon, 2014; Hooshmand *et al.*, 2014; Yesil *et al.*, 2015; Berti *et al.*, 2015).

Desta forma, o presente estudo objetiva investigar se existe associação entre os níveis séricos da VITD e polimorfismos no gene *VDR* em uma amostra de pacientes brasileiros com CCL e DA. Como oportuna complementação, investigar-se-á também a possível associação entre os níveis desta vitamina com o declínio cognitivo em uma pequena amostra de pacientes com CCL avaliados prospectivamente por cerca de um ano.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Amostragem

Estudo transversal

Foram incluídos neste estudo, 32 pacientes com DA, 15 com CCL, e 24 indivíduos idosos sem declínio cognitivo (grupo controle), pareados por idade e sexo, selecionados nos ambulatórios de Neurologia e Geriatria do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, coordenados pelos Professores Paulo Caramelli e pela Maria Aparecida Bicalho, respectivamente. Os participantes foram submetidos a exames clínicos e neurológicos, incluindo avaliação cognitiva com aplicação do MEEM e BBRC, normalizados

segundo a escolaridade (Nitrini *et al.*, 2005). A normalização do teste MEEM foi realizada com os seguintes parâmetros: indivíduos analfabetos com pontuação menor que 20 foram considerados com o teste alterado; com escolaridade de 1 a 4 anos, com pontuação < 25; de 5 a 8 anos, com pontuação < 26,5; de 9 a 11 anos, com pontuação < 28; e > 11 anos de escolaridade, com pontuação < 29. Os pacientes com suspeita clínica de DA ou CCL tiverem uma amostra de líquido coletada e a classificação em um dos dois grupos foi confirmada pelo IATI - Innotest Amiloide Tau Index - obtido pela relação entre os valores de A β e Tau: $(A\beta_{1-42}/(240 + 1.18 \times \text{Tau}))$, no qual os indivíduos com IATI < 1 foram classificados como DA (Magalhães *et al.*, 2015).

As coletas de sangue e líquido foram realizadas no período de 2015 e 2016, nos respectivos ambulatórios. Foram coletados de cada participante, amostras de sangue periférico em tubos contendo anticoagulante do tipo EDTA e tubos sem anticoagulantes, e 10,0 mL de líquido. As amostras foram processadas e analisadas na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais.

Estudo longitudinal

Para o estudo de *follow-up*, foram incluídos 18 pacientes com CCL, não incluídos no estudo transversal, atendidos no ambulatório de Geriatria do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais. O diagnóstico clínico foi complementado com a bateria de testes cognitivos, conforme indicado acima.

As coletas de sangue foram realizadas entre os anos de 2010 e 2014. Foram coletados de cada participante, amostras de sangue periférico em tubos contendo EDTA. As amostras foram processadas e analisadas na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais.

Para ambos os estudos, não foram incluídos indivíduos com menos de 50 anos ou mais de 90 anos; portadores de insuficiência renal crônica; doenças autoimunes; doenças hepáticas; câncer; processo infeccioso atual ou recente (nas últimas 4 semanas); histórico de infarto agudo do miocárdio (últimos 6 meses); uso atual de anti-inflamatórios (exceto AAS); uso de anticoagulantes, a fim de excluir demências por outras causas (demência mista ou infecciosa); outras demências que não a DA. A ficha clínica preenchida durante a entrevista/coleta (Anexo 1) e o prontuário médico, constando os resultados dos exames laboratoriais, bem como as comorbidades apresentadas pelos pacientes, foram avaliados para seleção dos mesmos, os quais foram incluídos nos estudos após a leitura, compreensão e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 2) pelo participante ou seu responsável.

Foram classificados como dislipidêmicos os indivíduos com níveis plasmáticos elevados de triglicerídeos, colesterol total e lipoproteínas aterogênicas, como o colesterol presente na lipoproteína de baixa densidade (LDLc), além de níveis reduzidos do colesterol presente na lipoproteína de alta densidade (HDLc) e que faziam uso de hipolipemiantes, segundo os valores preconizados por Santos et al. (2011).

Foi considerado como etilista o indivíduo que se autodeclarou usuário de bebida alcoólica ou ex-consumista de bebida alcoólica.

O status de depressão foi avaliado segundo estado emocional (ver ficha clínica, anexo 8.1), por meio da aplicação de 2 questionários, a Escala de Depressão Geriátrica (*Geriatric Depression Scale - GDS 15*) (Marc et al., 2008) e a Escala de Cornell de Depressão na Demência (The Cornell Scale for Depression in Dementia - CSDD) (Carthey-Goulart et al., 2007).

O nível de comorbidades foi calculado segundo o *Manual of Guidelines for Scoring Cumulative Illness Rating Scale for Geriatrics* (CIRS-G) descrito por Miller & Towers (1991), com classificação dos pacientes de zero a 4, conforme gravidade da doença.

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP-UFMG – Anexo 3).

2.2. Análises laboratoriais

Após padronização e validação das análises, estas foram realizadas nos Laboratórios de Bioquímica Clínica e Toxicologia da Faculdade de Farmácia da UFMG.

Análise molecular

O DNA genômico foi extraído a partir de amostras de sangue total colhido em EDTA utilizando o kit *BioPur® Mini Spin (Biometrix®)*. A pesquisa dos polimorfismos (rs10735810, rs1544410, rs7975232, rs731236) do gene *VDR* foi realizada por PCR, seguida de digestão com as enzimas de restrição *FokI*, *BsmI*, *Apal* e *TaqI*, e posteriormente, eletroforese em gel de poliacrilamida 6% e coloração com nitrato de prata (Ver material suplementar, Tabelas 1 e 2) (Ranjzad et al., 2011).

A genotipagem do gene *APOE* (rs429358 e rs7412) foi também realizada por PCR, seguida por digestão enzimática com *HhaI* e eletroforese em gel de poliacrilamida 12% e coloração com nitrato de prata, como previamente descrito por Hixson & Vernier (1990).

Análises bioquímicas

A punção lombar para a coleta do líquido, bem como a coleta de sangue, foram realizadas após jejum de 12 horas. As amostras de líquido foram centrifugadas a 3.000 rpm por 10 minutos, a 4°C, no máximo 4 horas após a coleta. Em seguida, as amostras foram congeladas em tubos de polipropileno a -80°C até a análise. As amostras de sangue foram centrifugadas a 3.000 rpm por 15 minutos, sem refrigeração, num prazo máximo de duas horas pós-coleta. Após a realização dos testes, o soro e o plasma foram transferidos e aliquoteados em tubos *ependorf* devidamente identificados e estocados a -80°C.

Os biomarcadores do líquido foram dosados utilizando-se os kits INNOTEST hTAU Ag, INNOTEST PHOSPHO-TAU (181P), INNOTEST β -Amyloid (1-42) (Innogenetics, Bélgica), pela técnica de ELISA, seguindo-se rigorosamente as instruções do fabricante. As amostras foram simultaneamente analisadas para os três biomarcadores em duplicata, e a variação intra-ensaio foi < 5%. Em todos os ensaios foi utilizado um controle interno de qualidade.

A quantificação de 25-hidroxivitamina D (25(OH)D) no plasma colhido com EDTA foi realizada segundo a metodologia descrita por Hymoller e Jensen (2011). A metodologia consiste na extração líquido-líquido da 25(OH)D plasmática, em meio alcalino, após o processo de saponificação e adição do padrão interno, 1 α -hidroxivitamina D₃. A fase orgânica é levada à extrato em atmosfera de nitrogênio e aquecimento. O extrato é retomado com fase móvel e analisado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com detector UV. Para a quantificação de 25(OH)D, foi construída curva de calibração por meio da área relativa (área padrão/área PI) dos picos cromatográficos obtidos em função das concentrações.

As dosagens de glicose plasmática, colesterol total, colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDLc) e triglicérides foram realizadas utilizando-se reagentes da BIOCLIN®, pelo método colorimétrico enzimático com base na reação de Trinder, seguindo as instruções fornecidas pelo fabricante. A leitura das absorvâncias foi realizada em Espectrofotômetro BIOTRON BTR 811. Os valores de colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDLc) e lipoproteína de muito baixa densidade (VLDLc) foram calculados pela fórmula de Friedewald (Friedewald, 1972), uma vez que todos os valores de triglicérides foram inferiores a 400 mg/dL.

2.3. Avaliação do desempenho cognitivo no estudo longitudinal

Os pacientes diagnosticados com CCL, incluídos no estudo longitudinal, tiveram os níveis de VITD dosados pelo método acima descrito, em amostra única coletada no início do estudo. Neste momento, foi avaliado o desempenho cognitivo destes pacientes na bateria de testes acima indicada (T0). Aproximadamente um ano depois, os mesmos testes foram aplicados novamente (T1).

Para eliminar a interferência do nível de escolaridade no desempenho obtido nos testes, a pontuação de cada teste foi submetida a uma normalização (*Z-score*), onde comparou-se cada resultado com o desempenho médio \pm desvio padrão de indivíduos controles anteriormente estudados por Caramelli *et al.* (2011) Este cálculo foi normalizado de acordo com quatro níveis de instrução formal (analfabetos, 1-3, 4-7, > 7 anos), utilizando-se a fórmula [*Z-score* = pontuação do indivíduo – desempenho médio da população controle com a mesma escolaridade / desvio padrão] (Wilson *et al.*, 2002).

Foram incluídos apenas os testes aplicados em T0 e T1 para todos os pacientes, cujos resultados estavam disponíveis nos prontuários médicos: MEEM e BBRC (evocação tardia, reconhecimento de figuras e fluência verbal). A variação dos scores obtidos entre T1-T0 foi comparada com os níveis de VITD. Além disso, para cada teste, os pacientes foram classificados em: 0 – houve declínio na pontuação do teste entre T1-T0, 1 – não houve declínio entre T1-T0 (indivíduos obtiveram a mesma pontuação ou maior).

Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SPSS v.13.0.

Os dados foram testados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. As variáveis paramétricas foram apresentadas como média \pm desvio padrão, variáveis não paramétricas como mediana (intervalo interquartil - IQR) e porcentagem do total para as variáveis categóricas. As variáveis paramétricas foram avaliadas pelo teste T-Student para comparar dois grupos ou teste ANOVA - post hoc / LSD para comparar três grupos. Já as variáveis não-paramétricas foram comparadas pelo teste de Mann-Whitney para comparar dois grupos ou Kruskal-Wallis para comparar três grupos, seguido de correção de Bonferroni. As variáveis categóricas foram comparadas pelo teste de qui-quadrado seguido pelo teste de resíduos. O equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) foi avaliado pelo teste exato em programa GENEPOP (disponível em: http://genepop.curtin.edu.au/genepop_op1.html). As diferenças nas frequências alélicas e genotípicas entre os grupos foram verificadas pelo teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher. A análise de haplótipos dos polimorfismos

do gene *VDR* foi realizada em programa Phase 2.1, sendo considerados apenas os haplótipos cuja frequência foi maior que 10% nos três grupos. Em todas as análises, foram consideradas diferenças significativas quando $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1. Estudo transversal

As características clínicas e demográficas de cada grupo são mostradas na Tabela 1. Dos 71 indivíduos que participaram do estudo, as mulheres constituíam 57,75% dos indivíduos, considerando os três grupos, e não houve diferença significativa quando se procedeu à análise de gênero entre os grupos ($p = 0,554$). Também não foi observada diferenças entre os grupos com relação à idade ($p = 0,102$), relação cintura/quadril ($p = 0,158$), quantidade de comorbidades relacionadas ($p = 0,118$) e ao estado depressivo ($p = 0,297$).

No entanto, foi encontrada diferença significativa entre os grupos em relação ao IMC ($p = 0,002$), sendo maior no grupo controle quando comparado ao grupo DA ($p = 0,001$). A média da circunferência abdominal foi menor no grupo DA quando comparado ao grupo CCL e controle ($p = 0,044$ e $p = 0,002$, respectivamente), assim como a circunferência do quadril que foi menor nos indivíduos com DA quando comparados aos controles ($p = 0,018$). Indivíduos com mais baixa escolaridade (<4 anos) foram mais frequentes no grupo controle, enquanto aqueles com maior escolaridade (>9 anos) foram mais frequentes no grupo DA ($p = 0,007$). Como esperado, houve diferença significativa no *score* cognitivo, sendo observado um maior número de indivíduos com alteração no teste MEEM categorizado (não alterado e alterado, de acordo com a escolaridade do indivíduo) no grupo DA em comparação com os outros grupos ($p < 0,001$). Foi ainda encontrada maior frequência de indivíduos carreadores do alelo $\epsilon 4$ do gene *ApoE* no grupo DA ($p = 0,012$) quando comparado aos grupos CCL e controle.

Não foi observada diferença significativa em relação aos níveis de VITD ($p = 0,757$), glicemia de jejum ($p = 0,065$), colesterol total ($p = 0,112$), HDLc ($p = 0,754$), triglicérides ($p = 0,069$) e VLDLc ($p = 0,083$) quando comparados os três grupos (Tabela 2). No entanto, os níveis de LDLc no grupo DA foram maiores quando comparados aos demais grupos (Tabela 2), embora esta diferença tenha sido independente da frequência de carreadores do alelo $\epsilon 4$ entre os grupos ($p = 0,315$). Mesmo quando dos valores de VITD foram classificados como deficientes (<20 ng/mL), insuficientes (entre 20 e 30 ng/mL) e suficientes (>30 ng/mL), não foi observada diferença nas frequências quando comparados os três grupos ($p > 0,05$, Tabela 3).

No presente estudo investigou-se também se os níveis de VITD estariam associados ao sexo. A análise por grupo não mostrou diferença significativa ($p > 0,05$), no entanto, quando agrupados os indivíduos DA+CCL+controle, observou-se que mais indivíduos do sexo feminino apresentavam níveis deficientes de VITD (Tabela 4). Foi ainda investigada a correlação da VITD com as variáveis contínuas IMC, circunferência abdominal e do quadril, glicemia de jejum, colesterol total, HDLc, triglicérides, VLDLc e LDLc, mas não foi observada correlação significativa entre estas variáveis em nenhum dos grupos estudados ($p > 0,05$). Do mesmo modo, ao se analisar a relação entre os níveis da VITD com as variáveis categóricas, ou seja, desempenho no MEEM, presença do alelo $\epsilon 4$, presença de diabetes/dislipidemia e/ou hipertensão, não foi observada correlação ($p > 0,05$).

Todos os polimorfismos no gene *VDR* estavam sob o EHW nos três grupos estudados ($p < 0,025$). Quando comparadas as frequências alélica e genotípica, não se observou diferença significativa entre os grupos DA, CCL e controle (todos $p > 0,05$) (Tabela 5). No entanto, a análise haplotípica mostrou maior frequência do haplótipo GACT e menor frequência de GACC e AACC nos indivíduos com DA quando comparados ao grupo CCL ($p = 0,008$ e $0,003$, respectivamente). Contrariamente, o haplótipo GACC mostrou-se mais frequente no grupo DA quando comparado ao grupo controle ($p = 0,023$).

Quando se compararam os níveis de VITD, como variável contínua ou categorizada, com os genótipos dos quatro polimorfismos do gene *VDR*, nenhuma diferença foi observada entre os níveis de VITD com qualquer genótipo. Não foi observada também associação entre esses SNPs e os níveis dos biomarcadores liquorícos relacionados com a DA (A β , Tau e Tau-P) nos grupos CCL e DA.

As mesmas análises foram realizadas considerando-se uma nova classificação, denominado DEMÊNCIA, em que os pacientes com DA e CCL foram agrupados. Os níveis de VITD não foram diferentes quando comparado o grupo demência com o grupo controle ($p = 0,803$), nem mesmo os valores absolutos de VITD foram associados com os polimorfismos do gene *VDR*.

No entanto, quando os níveis de VITD, classificados como não suficientes (≤ 30 ng/mL) e suficientes (> 30 ng/mL), foram relacionados com os polimorfismos apenas no grupo demência (Tabela 7), observou-se maior frequência de indivíduos com níveis não suficientes e genótipo GG, além de níveis suficientes e genótipo AG ($p = 0,023$) para o polimorfismo BsmI. Subsequentemente, foi feito o agrupamento dos genótipos AA com AG em comparação com o genótipo GG, observando-se maior frequência do homocigoto GG

em indivíduos com níveis não suficientes de VITD, e genótipos AA e AG mais frequentes em indivíduos com VITD suficiente ($p = 0,016$), corroborando com o dado anterior.

Do mesmo modo, investigou-se a relação das categorias da VITD com as outras variáveis no grupo demência, tendo sido observada diferença significativa para as variáveis etilismo e dislipidemia (Tabela 8). Segundo esta análise, indivíduos não-etilistas apresentaram maior frequência de suficiência da VITD ($p = 0,016$), enquanto indivíduos não dislipidêmicos também mostraram maior frequência de níveis suficientes da VITD ($p = 0,043$).

Foram calculadas ainda as correlações entre VITD, biomarcadores liquóricos, MEEM, IMC, e circunferência abdominal, somente no grupo demência (Tabela 9). Não foi encontrada correlação entre os níveis de VITD com as variáveis citadas ($p > 0,05$). Porém, foram observadas correlações, além daquelas já esperadas para os marcadores liquóricos, entre as seguintes variáveis: MEEM com Tau-T ($p = 0,007$) e correlação negativa com índice IATI ($p = 0,007$); correlação negativa entre IMC e razão Tau/A β ($p = 0,021$), positiva com índice IATI ($p = 0,043$), A β ($p < 0,001$) e com circunferência abdominal ($p < 0,001$). Foi também observada correlação negativa de circunferência abdominal com relação Tau/A β ($p = 0,035$).

Da mesma forma, foram analisadas as correlações, ainda dentro do grupo demência, das concentrações de VITD com a presença do alelo $\epsilon 4$, MEEM, e polimorfismos agrupados (homozigotos + heterozigotos, seguindo um padrão de herança dominante e recessivo) e não observou-se qualquer correlação entre estes ($p > 0,05$).

Cumprido ressaltar que 18 indivíduos deste estudo faziam uso de suplementos contendo VITD. Por questões éticas, a suplementação não foi suspensa em função do desenvolvimento deste estudo. Desta forma, para se investigar o impacto disto nos dados obtidos, os indivíduos em uso de VITD foram excluídos e todas as análises foram repetidas, cujos resultados mantiveram-se inalterados. Além disso, não foi observada diferença na média dos níveis de VITD entre os indivíduos que faziam uso de suplementação e os que não suplementavam ($p = 0,621$).

3.2. Estudo longitudinal

Como apresentado na Tabela 10, o estudo longitudinal foi composto por 18 indivíduos com diagnóstico de CCL, dentre os quais 10 pacientes eram do sexo feminino (55,56%). A idade média dos participantes foi de $75,17 \pm 6,3$, a média do IMC $25,35 \pm 2,52$ e a média dos níveis de VITD $37,66 \pm 10,69$ (ng/ml), todos sem modificação da terapêutica

quando comparados T0 e T1. A faixa de escolaridade mais frequente no grupo foi de 4 a 7 anos (70,6%), enquanto a média do tempo entre as análises dos prontuários em T1-T0 foi de $10,40 \pm 3,81$ meses. Dentre os participantes, 50% eram carreadores em heterozigose do alelo $\epsilon 4$ do gene *ApoE*, mas nenhum era homozigoto para este alelo.

Os testes para avaliação do desempenho cognitivo - MEEM e BBRC (evocação tardia, reconhecimento de figuras e fluência verbal) foram normalizados de acordo com a escolaridade, e a média de *Z-score* obtida nos tempos T0 e T1 estão representados na Figura 1. Observou-se um declínio no teste de evocação tardia, uma melhora nos testes de fluência verbal e MEEM, e uma estabilidade no *score* do teste de reconhecimento de figuras.

Posteriormente, foi comparada a média dos níveis de VITD entre aqueles indivíduos que se enquadravam no grupo 0 (que obtiveram menor pontuação quando comparados os T1-T0) e grupo 1 (que obtiveram a mesma pontuação ou maior no teste quando comparado dois tempos). Conforme visto na Figura 2, não foi encontrada diferença significativa dos níveis de VITD entre os grupos em nenhum dos testes: MEEM ($p = 0,379$), evocação tardia ($p = 0,323$), reconhecimento de figuras ($p = 0,185$) e fluência verbal ($p = 0,549$).

Foi realizada também a análise de correlação entre os níveis de VITD e o *Z-score* para cada teste cognitivo, considerando a avaliação inicial (T0), a avaliação final (T1) e a diferença entre os dois tempos, não sendo observada correlação em nenhuma dessas variáveis com os níveis de VITD (Tabela 11). Cumpre ressaltar que nenhum paciente com CCL apresentou conversão para DA no período de tempo avaliado.

4. DISCUSSÃO

4.1. Estudo transversal

Este é o primeiro estudo que objetivou responder se os níveis de VITD estão associados ao declínio cognitivo em indivíduos com CCL, bem como se polimorfismos no gene *VDR* estão associados com o desenvolvimento de DA e CCL na população brasileira.

O presente estudo avaliou uma coorte de idosos com DA, CCL e idosos cognitivamente saudáveis. A distribuição de gênero não se alterou entre os grupos, embora alguns estudos tenham demonstrado uma maior frequência de indivíduos do sexo feminino em grupos com demência (Camarano, 2002). Observou-se maior frequência de indivíduos com maior escolaridade no grupo DA em comparação com os outros grupos (CCL e controle). Sabe-se que a baixa escolaridade é um fator de risco importante para demência, porém nosso achado contraditório está provavelmente relacionado com a forma de seleção dos pacientes, onde os pacientes com DA apresentaram classe social mais alta, por terem

sido encaminhados de outro ambulatório que atendia predominantemente indivíduos com maior escolaridade e classe social alta para o Hospital das Clínicas da UFMG, enquanto os indivíduos com CCL e controles foram provenientes de um ambulatório que atende indivíduos de classe média a baixa, em sua maioria. Assim, pelo possível viés devido ao nível educacional, os testes neuropsicológicos aplicados tiveram um nível de corte diferenciado (Brucki *et al.*, 2013), buscando-se minimizar a ocorrência de possível desvio relacionado ao grau de instrução.

Como previsto, os indivíduos com teste alterado foram mais frequentes no grupo DA e menos frequentes no grupo controle e CCL. Por ser o MEEM uma ferramenta no diagnóstico da demência e um dos critérios para classificação dos grupos, já era esperado o encontro de 90,6% dos indivíduos com DA apresentando alteração neste teste. Encontrou-se ainda diferença significativa quanto ao IMC, circunferência abdominal e do quadril, nas quais os pacientes com DA tiveram menores valores em comparação aos demais grupos, sugerindo que limitações inerentes à alimentação nos indivíduos com DA podem justificar estes achados. Foi observada maior frequência de indivíduos carreadores do alelo $\epsilon 4$ do gene *ApoE* no grupo com DA (63,6%), na qual 20% destes eram homozigotos, sendo essa frequência cerca de 2 a 3 vezes maior que nos outros grupos, confirmando a influência da ApoE na patogênese da DA, por meio de mecanismos ainda incertos (Wilson *et al.*, 2002).

Estudos epidemiológicos examinando a associação entre os lipídeos e a demência têm reportado resultados conflitantes. Em nossa avaliação do perfil lipídico, encontramos diferença significativa entre os grupos apenas para LDLc, no qual indivíduos com DA apresentaram maiores níveis em comparação com os outros grupos. Este resultado corrobora com hipóteses de que elevados níveis de LDLc podem promover dano vascular cerebral, iniciando assim as respostas neuroinflamatórias, perturbando a função neuronal, e contribuindo para a patogênese da DA (Chen *et al.*, 2014).

Em nosso estudo, os níveis médios de VITD estavam dentro dos limites desejáveis tanto no grupo controle quanto no grupo caso (DA e CCL). As concentrações da VITD não diferiram significativamente entre os três grupos. Assim, os nossos resultados contrariam outros estudos que fundamentaram a hipótese de que o declínio cognitivo na DA e a hipovitaminose D têm um caminho fisiopatológico parcialmente comum. Segundo estes estudos, a VITD apresenta ações neuroprotetoras, incluindo a depuração da A β , efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios, age contra a excitotoxicidade do cálcio, e apresenta possível proteção contra os mecanismos neurodegenerativos associados com a DA (Schlögl & Holick, 2014; Assmann *et al.*, 2015; Annweiler *et al.*, 2015). Nossos resultados são apoiados por estudos anteriores, que não observaram efeitos benéficos quanto à prevenção

ou melhora da cognição na DA, bem como não observaram associação de níveis mais baixos de VITD e um pior desempenho cognitivo (Graf *et al.*, 2014; Ulstein *et al.*, 2016). Esses resultados contraditórios, sobre o papel da insuficiência de VITD na patogênese da DA, tem sido uma fonte de debate, sendo que os resultados discrepantes sobre essa associação podem ser decorrentes de vários fatores, incluindo tamanhos amostrais limitados, uso de suplementação vitamínica, desenho de estudo transversal, dificuldade na análise retrospectiva dos níveis de VITD e função cognitiva, e falta de ajuste para as variáveis clínicas de confusão. Além disso, onde as associações entre os baixos níveis de VITD e demência têm sido relatados, há possibilidade de causalidade reversa, ou seja, a deficiência de VITD é uma consequência e não uma causa de demência, visto que os indivíduos com déficit cognitivo podem ter uma alimentação deficitária e/ou reduzida exposição à luz solar, o que pode levar à redução dos níveis de VITD, dificultando uma interpretação definitiva (DeLuca *et al.*, 2013).

Como já descrito em outras investigações, nosso estudo também encontrou deficiência de VITD mais comum em indivíduos do sexo feminino (Yesil *et al.*, 2015; Keeney & Butterfield, 2015), fato ainda não bem compreendido. Interessante destacar que uma meta-análise mostra que estudos com coorte de mulheres associam o pior desempenho cognitivo a níveis insuficientes de VITD, enquanto que estudos com coorte de homens não mostram esta correlação, ou seja, estudos com ambos os sexos possuem resultados contrastantes (Landel *et al.*, 2016). Uma hipótese para justificar parcialmente este achado poderia ser o fato da gordura corporal no sexo feminino ser maior. Dessa forma, a VITD circulante poderia ficar armazenada no tecido adiposo e, dado a sua característica lipofílica, ficaria menos disponível no plasma.

A forma ativa da VITD, 1,25 dihidroxivitamina D [1,25(OH)₂D], exerce os seus efeitos biológicos mediados pelo VDR. Visto que o VDR desempenha um papel principal no metabolismo da VITD, é sugerido que variantes no seu gene poderiam modular as funções da VITD, aumentando assim o risco de desenvolvimento de diferentes doenças. No presente estudo, investigou-se a distribuição dos polimorfismos BsmI, Apal, FokI e TaqI do gene *VDR* em pacientes com DA e CCL, comparados com controles saudáveis. As frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos não diferiram entre os três grupos. Nossos resultados estão de acordo com os estudos de Khorram *et al.* (2013) e Luedecking-Zimmer *et al.* (2003), os quais não observaram a associação destes polimorfismos com a DA nas populações iraniana e caucasiana, respectivamente. No entanto, alguns estudos reportaram a associação dos polimorfismos TaqI e Apal com um risco potencial para DA (Lehmann *et al.*, 2011; Gezen-Ak *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2014). Kuningas *et al.* (2009) associaram alterações nos SNPs TaqI e BsmI com o declínio cognitivo e Łaczmański *et al.* (2015)

relacionaram o alelo A em Apal com a menor susceptibilidade à DA. A heterogeneidade destes resultados pode ser devida a diferentes origens étnicas e ao grau de miscigenação nas populações investigadas, diferentes critérios de diagnóstico da demência, bem como outros fatores genéticos ou ambientais que atuam em sinergismos com os SNPs de *VDR* na patogênese da DA.

Embora não tenha sido encontrada associação da DA ou CCL para um polimorfismo separadamente, quando realizada a análise dos haplótipos, observou-se que o haplótipo GACT (BsmI, ApaI, FokI e TaqI, respectivamente) foi mais frequente no grupo DA quando comparado ao CCL, e o haplótipo GACC foi mais frequente no DA quando comparado ao controle. Embora o tamanho amostral tenha sido limitado para uma análise haplotípica que permitisse maiores conclusões, em função da grande variedade de possíveis haplótipos formados, os dados sugerem que esses haplótipos possam ter ligação com a patologia na DA. Os resultados de outros estudos também apontaram essa possível associação entre indivíduos com certos haplótipos do gene *VDR* e vulnerabilidade para DA (Kuningas *et al.*, 2009; Gezen-Ak *et al.*, 2012).

Fatores ambientais que influenciam os níveis de VITD em humanos são complexos, existindo uma relação, ainda não elucidada, da concentração da VITD no organismo e os polimorfismos do gene *VDR* (Agnello *et al.*, 2016), como demonstrado no estudo de Martineau *et al.* (2011), em que indivíduos com o genótipo TT para o SNP TaqI apresentaram uma resposta diferente à suplementação com VITD quando comparados aos portadores dos outros genótipos (TC e CC). O estudo de Ponsonby *et al.* (2008) relacionou diferenças regionais dos raios ultravioletas à variação no funcionamento do gene *VDR* dependendo dos genótipos de alguns SNPs, com base na medida dos níveis de VITD. A partir destes estudos, investigamos a possível influência dos níveis séricos de 25(OH)D nos polimorfismos do gene *VDR* em pacientes com DA e CCL, e encontramos uma associação significativa entre níveis não suficientes de VITD e o genótipo GG do polimorfismo BsmI. Quando comparada a frequência do genótipo GG *versus* AA e AG, a associação com concentrações não suficientes de VITD foi mantida, sugerindo que o alelo A pode propiciar maior estabilidade do mRNA que codificará o receptor e, conseqüentemente, interfira na manutenção dos níveis suficientes de 25(OH)D no plasma.

Etilismo e dislipidemia são fatores de risco para DA, e dessa forma, foi analisada a relação destes com os níveis de VITD nos pacientes com DA e CCL. Foi observada no grupo com níveis suficientes de VITD maior frequência de indivíduos que nunca beberam e no grupo com níveis não suficientes maior presença daqueles ex- ou atuais etilistas. Essa associação já foi descrita pela comum disfunção hepática observada em indivíduos que

consomem álcool, alterando a atividade da 25-hidroxilase, conseqüentemente modificando o metabolismo hepático da VITD (Quintero-Platt *et al.*, 2015; González-Reimers *et al.*, 2015). Foi observada ainda maior frequência de indivíduos dislipidêmicos no grupo com níveis não suficientes de VITD. Nossos resultados confirmam dados anteriores que sugerem que o aumento dos níveis de VITD possa favorecer a redução do risco de dislipidemias (Sriram *et al.*, 2016), porém as informações de como a VITD influencia o perfil lipídico ainda são inconsistentes. Wang *et al.* (2016) sugerem que a VITD poderia afetar a regulação de lipídios diretamente, alterando a ação do cálcio, que influencia na absorção, síntese e secreção de lipídios no organismo. Cumpre ressaltar que estes mecanismos propostos não são específicos de indivíduos com demência, mas justifica o controle do etilismo e dislipidemia como forma de manter níveis adequados de VITD, além de serem fatores de risco para doenças neurodegenerativas.

Foi investigada ainda a correlação entre os níveis de VITD e os biomarcadores líquóricos relacionados com a fisiopatologia e gravidade da DA. Porém, não foi observada correlação entre estas variáveis. No entanto, observou-se uma correlação entre maior pontuação do MEEM com maiores valores de Tau-T e com menores valores do índice IATI. Essa correlação já era prevista, pois menor pontuação no teste MEEM prediz um pior desempenho cognitivo, e este último está associado com menor índice IATI, e maior concentração de Tau-T. Observou-se ainda correlações positivas do IMC ou circunferência abdominal com índice IATI, A β e negativa com relação Tau/A β . Como essas análises foram realizadas apenas para o grupo demência (DA e CCL), os resultados sugerem que no grupo com declínio cognitivo, maior IMC e circunferência abdominal estão associados com melhor perfil nos marcadores líquóricos. Ainda que a obesidade seja um fator de risco para a demência, associada principalmente ao estado de inflamação subcrônica, o desenho transversal do nosso estudo permite apenas concluir que pacientes com maior IMC estão, provavelmente, em um estágio mais precoce da demência, uma vez que pacientes em estágios mais avançados da DA estão submetidos a dietas nutricionais restritivas.

4.2. Estudo longitudinal

Para maior validação dos resultados encontrados, nosso projeto foi desmembrado em um estudo longitudinal para avaliar se indivíduos diagnosticados com CCL, e possuindo mais baixa concentração de VITD, teriam um pior desempenho cognitivo após aproximadamente um ano de *follow-up*, com conversão para DA.

Os níveis de VITD não foram associados à variação de *scores* nos testes cognitivos em pacientes com CCL, quando esperava-se um declínio cognitivo nos pacientes com níveis mais baixos de VITD. Estes resultados estão de acordo com o estudo de Graf *et al.* (2014)

que relatam, por meio da pesquisa com 315 indivíduos com 2 anos de seguimento, que o nível de VITD não estava associado com a redução do domínio cognitivo e também não previa a conversão para demência. No entanto, Bartali *et al.* (2014) associaram maior concentração de VITD com uma melhor função cognitiva em idosas durante 9 anos de acompanhamento, porém essa relação foi observada somente após 6 anos de seguimento. Desta forma, o tempo aplicado no presente estudo pode ter sido insuficiente para a verificação do efeito da VITD no desempenho cognitivo de pacientes com CCL.

Nosso trabalho tem como ponto forte a inclusão de pacientes que foram claramente discriminados pela avaliação clínica e laboratorial, incluindo os testes cognitivos e análise de biomarcadores liquóricos. O acompanhamento longitudinal corroborou com os achados no estudo transversal, que é limitado pelo não conhecimento da relação temporal existente entre os dados, mostrando que não houve evidência de associação dos níveis de VITD com a ocorrência da DA ou CCL.

Admite-se como limitações a pequena dimensão amostral das populações, o que pode ter limitado o poder estatístico, bem como o uso de suplementação por alguns indivíduos. Além disso, a idade média dos pacientes com DA foi inferior ao observado na população com DA em geral. Assim, não podemos generalizar todos os achados à população global de pacientes com DA.

Conforme já discutido anteriormente, a aparente discrepância entre os estudos que investigaram os polimorfismos do gene *VDR* e a demência resultam de diferenças étnicas, bem como de interações com outros fatores genéticos ou ambientais envolvidos na patogênese da DA. Além disso, polimorfismos selecionados em nosso estudo não fornecem uma cobertura completa dos SNPs presentes no gene *VDR*, portanto, não podemos excluir que outras variantes genéticas do *VDR* possam estar associadas à maior susceptibilidade de DA. De toda forma, nossos resultados sugerem haver um haplótipo de predisposição à DA, bem como que o polimorfismo BsmI está relacionado aos níveis plasmáticos de VITD.

Nossos resultados enfatizam a necessidade de mais estudos envolvendo grandes coortes, com a inclusão de pacientes que não complementam sua dieta com VITD, estudos longitudinais de longa duração e com sequenciamento do gene *VDR* para investigação de todas as possíveis variantes genéticas.

Embora nosso trabalho apresente limitações, os resultados gerados são importantes para abrir novas perspectivas de melhor compreensão dos mecanismos envolvidos entre a VITD na cognição, podendo no futuro auxiliar na busca de terapias modificadoras do curso das demências pela identificação de novos alvos terapêuticos.

Diante do exposto, não foi possível confirmar a relação entre redução dos níveis de VITD e polimorfismos no gene *VDR*, e alteração da função cognitiva, nas condições experimentais do presente estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGNELLO L.; SCAZZONE C.; RAGONESE P.; *et al.* Vitamin D receptor polymorphisms and 25-hydroxyvitamin D in a group of Sicilian multiple sclerosis patients. *Neurol Sci*, 2016; 37(2):261-7.
- ANNWEILER C.; DURSUN E.; FÉRON F.; *et al.* Vitamin D and cognition in older adults: updated international recommendations. *J Intern Med*, 2015; 277(1):45-57.
- ANNWEILER C. Vitamin D in dementia prevention. *Ann N Y Acad Sci*, 2016; 1367(1):57-63.
- ASSMANN K. E.; TOUVIER M.; ANDREEVA V. A.; *et al.* Midlife plasma vitamin D concentrations and performance in different cognitive domains assessed 13 years later. *Br J Nutr*, 2015; 113(10):1628-37.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ALZHEIMER (ABRAZ). Disponível em: <<http://www.abraz.org.br/>> Acesso em: 13 out. 2016.
- BALION C.; GRIFFITH L. E.; STRIFLER L.; *et al.* Vitamin D, cognition, and dementia: A systematic review and meta-analysis. *Neurology*, 2012; 79(13):1397-405.
- BANERJEE A.; KHEMKA V. K.; GANGULY A.; *et al.* Vitamin D and Alzheimer's Disease: Neurocognition to Therapeutics. *Int J Alzheimer Dis*, 2015; 2015:192747.
- BARTALI B.; DEVORE E.; GRODSTEIN F.; *et al.* Plasma vitamin D levels and cognitive function in aging women: the Nurses' Health Study. *J Nutr Health Aging*. 2014;18(4):400-6.
- BERTI V.; MURRAY J.; DAVIES M.; *et al.* Nutrient patterns and brain biomarkers of alzheimer's disease in cognitively normal individuals. *J Nutr Health Aging*. 2015; 19(4):413-23.
- BRUCKI S. M.; NITRINI R.; CARAMELLI P.; *et al.* Sugestões para o Uso do Mini Exame do Estado Mental no Brasil. *Arq Neuro-Psiquiatr*, 2003; 61(3b):777-81.
- BRUCKI, S. M. D. Doença de Alzheimer: recomendações para o diagnóstico e manejo. *Dementia & Neuropsychologia*, 2016. São Paulo – Ominifarma.
- CAMARANO A A. Envelhecimento da população brasileira: uma contribuição demográfica. In: Freitas E V, *et al.* Tratado de Geriatria e Gerontologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002; 6:58-71.
- CARAMELLI P.; TEIXEIRA A. L.; BUCHPIGUEL C. A.; *et al.* Diagnóstico de doença de Alzheimer no Brasil: exames complementares. *Dement Neuropsychol*, 2011; 5(Suppl1):11-20.
- CARAMELLI, P.; BARBOSA M. T.; SAKURAI E. The Pietà study Epidemiological investigation on successful brain aging in Caeté (MG), Brazil Methods and baseline cohort characteristics. *Arq Neuropsiquiatr*, 2011; 69(4):579-84.
- CARTHERY-GOULART M. T.; AREZA-FEGYVERES R.; SCHULTZ R. R.; *et al.* Brazilian version of the Cornell depression scale in dementia. *Arq Neuropsiquiatr*, 2007; 65(3B):912-5.
- CASTRO L. C. G. O sistema endocrinológico vitamina D. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 2011; 55(8):1677-9487.
- CHEN X.; HUI L.; GEIGER J. D. Role of LDL cholesterol and endolysosomes in amyloidogenesis and Alzheimer's disease. *J Neurol Neurophysiol*, 2014; 5(5):236.

- DELUCA G. C.; KIMBALL S. M.; KOLASINSKI J.; *et al.* Review: The role of vitamin D in nervous system health and disease. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2013; 39(5):458–84.
- FRIEDEWALD W.T.; LEVI R.I.; FREDRICKSON D.S. Estimation of the concentration of low density lipoproteins cholesterol in plasma without use of the ultracentrifuge. *Clin Chem*, 1972; 18:499-502.
- GAUTHIERS.; REISBERG B.;ZAUDIG M.; *et al.* Mild cognitive impairment. *Lancet*, 2006;367(9518):1262-70.
- GEZEN-AK D.; DURSUN E.; BILGIÇ B.; *et al.* Vitamin D receptor gene haplotype is associated with late-onset Alzheimer's disease. *Tohoku J Exp Med*, 2012; 228(3):189-96.
- GONZÁLEZ-REIMERS E.; QUINTERO-PLATT G.; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ E.; *et al.* Bone changes in alcoholic liver disease. *World J Hepatol*, 2015; 7(9):1258-64.
- GRAF C. E.; ROSSI C.; GIANNELLI SV.;*et al.* Vitamin D is not associated with cognitive status in a cohort of very old hospitalized patients. *J Alzheimers Dis*, 2014; 42(Suppl 3):S53-61.
- HIXSON J. ; VERNIER D. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res*,1990; 31(3):545-48.
- HOOSHMAND B.; LÖKK J.; SOLOMON A.; *et al.* Vitamin D in relation to cognitive impairment, cerebrospinal fluid biomarkers, and brain volumes. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2014; 69(9):1132-8.
- HYMØLLER L.; JENSEN S. K. Vitamin D analysis in plasma by high performance liquid chromatography (HPLC) with C30 reversed phase column and UV detection – Easy and acetonitrile-free. *J Chromatogr A*, 2011; 1218(14):1835–41.
- KAMEL M. M.; FOUAD S. A.; SALAHELDIN O.; *et al.* Impact of vitamin D receptor gene polymorphisms in pathogenesis of Type-1 diabetes mellitus. *Int J Clin Exp Med*, 2014; 7(12):5505-10.
- KEENEY J. T.; BUTTERFIELD D. A. Vitamin D deficiency and Alzheimer disease: Common links. *Neurobiol Dis*, 2015;84:84-98.
- KHORRAM H. R. K.; GOZALPOUR E.; SALIMINEJAD K.; *et al.*Vitamin D Receptor (VDR) Polymorphisms and Late-Onset Alzheimer's Disease: An Association Study. *Iran J Public Health*, 2013; 42(11):1253-1258.
- KUNINGAS M.; MOOIJART S. P.; JOLLES J.; *et al.* VDR gene variants associate with cognitive function and depressive symptoms in old age. *Neurobiol Aging*, 2009; 30(3):466-73.
- ŁACZMAŃSKI Ł.; JAKUBIK M.; BEDNAREK-TUPIKOWSKA G.; *et al.*Vitamin D receptor gene polymorphisms in Alzheimer's disease patients.*Exp Gerontol*, 2015; 69:142-7.
- LANDEL V.; ANNWEILER C.; MILLET P.; *et al.* Vitamin D, Cognition and Alzheimer's Disease: The Therapeutic Benefit is in the D-Tails. *Alzheimers Dis*, 2016; 53(2):419-44.
- LEE Y. H.; KIM J. H.; SONG G. G. Vitamin D receptor polymorphisms and susceptibility to Parkinson's disease and Alzheimer's disease: a meta-analysis. *Neurol Sci*, 2014; 35(12):1947–53.
- LEHMANN D. J.; REFSUM H.; WARDEN D. R.; *et al.* The vitamin D receptor gene is associated with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*, 2011; 504(2):79-82.
- LUEDECKING-ZIMMER E.; DEKOSKY S. T.; NEBES R.; *et al.* Association of the 3' UTR transcription factor LBP-1c/CP2/LSF polymorphism with late-onset Alzheimer's disease. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2003; 117B(1):114-7
- MAGALHÃES C. A.; FIGUEIRO M.; FRAGA, V. G.; *et al.* Cerebrospinal fluid biomarkers for the differential diagnosis of Alzheimer's disease. *J Bras Patol Med Lab*, 2015; 51:376-82.
- MARC L. G.; RAUE P. J.; BRUCE M. L. Screening performanceof the 15-item geriatric dedpression scale in a diverse elderly home care population. *Am J Geriatr Psychiatry*, 2008; 16(11):914-21.

- MARTINEAU A. R.; TIMMS P. M.; BOTHAMLEY G. H.; *et al.* High-dose vitamin D₃ during intensive phase treatment of pulmonary tuberculosis: a double-blind randomised controlled trial. *Lancet*, 2011; 377(9761):242-50.
- MATHIEU C.; BADENHOOP K. Vitamin D and type 1 diabetes mellitus: state of the art. *Trends Endocrinol Metab*, 2005; 16(6):261-6.
- MOON J. H. Endocrine Risk Factors for Cognitive Impairment. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 2016; 31(2):185-92.
- MILLER, M. D.; TOWERS A. "A manual of guidelines for scoring the Cumulative Illness Rating Scale for Geriatrics (CIRS-G)." *Pittsburgh, PA: University of Pittsburgh*, 1991.
- NITRINI R.; CARAMELLI P.; BOTTINO C. M.; *et al.* Diagnosis of Alzheimer's disease in Brazil: cognitive and functional evaluation. Recommendations of the Scientific Department of Cognitive Neurology and Aging of the Brazilian Academy of Neurology. *Arq Neuro-psiquiatr*, 2005; 63(3A):720-7.
- PONSONBY A. L.; PEZIC A.; ELLIS J.; *et al.* Variation in associations between allelic variants of the vitamin D receptor gene and onset of type 1 diabetes mellitus by ambient winter ultraviolet radiation levels: a meta-regression analysis. *Am J Epidemiol*, 2008; 168(4):358-65.
- QUINTERO-PLATT G.; GONZÁLEZ-REIMERS E.; MARTÍN-GONZÁLEZ M. C.; *et al.* Vitamin D, vascular calcification and mortality among alcoholics. *Alcohol Alcohol*, 2015; 50(1):18-23.
- SANTOS D.R. III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras Cardiol*, 2001; 77:1-48. SCHLÖGL M.; HOLICK M. F. Vitamin D and neurocognitive function. *Clin Interv Aging*, 2014; 9:559-68.
- RANJZAD F.; MAHBAN A.; IRANI SHEMIRANI A.; *et al.* Influence of gene variants related to calcium homeostasis on biochemical parameters of women with polycystic ovary syndrome. *J Assist Reprod Genet*, 2011; 28(3):225-32.
- SRIRAM S.; CROGHAN I.; LTEIF A.; *et al.* Relationship between 25(OH)D levels and circulating lipids in African American adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2016; 29(10):1165-1172.
- THOMAZ A. M. Expressão Do Receptor De Vitamina D Recombinante: Um Importante Alvo Biológico. Universidade Estadual de Feira de Santana/ BA, 2013.
- TUCKER K. L. Nutrient intake, nutritional status, and cognitive function with aging. *Ann N Y Acad Sci*, 2016; 1367(1):38-49.
- ULSTEIN I.; BØHMER T. Normal Vitamin Levels and Nutritional Indices in Alzheimer's Disease Patients with Mild Cognitive Impairment or Dementia with Normal Body Mass Indexes. *J Alzheimers Dis*, 2016; 55(2):717-725.
- WANG Y.; SI S.; LIU J.; *et al.* The Associations of Serum Lipids with Vitamin D Status. *PLoS One*, 2016; 11(10):e0165157.
- WILSON R. S.; SCHNEIDER J. Á.; BARNES L. L.; *et al.* The apolipoprotein E epsilon 4 allele and decline in different cognitive systems during a 6-year period. *Arch Neurol*, 2002; 59(7):1154-60.
- YEŞİL Y.; KUYUMCU M. E.; KARA Ö.; *et al.* Vitamin D status and its association with gradual decline in cognitive function. *Turk J Med Sci*, 2015; 45(5):1051-7.

ANEXOS

Tabela 1: Comparação das variáveis clínicas e demográficas entre os grupos DA, CCL e controle.

Variáveis	DA (n=32)	CCL (n=15)	Controle (n=24)	p
Idade ^a	69,84 ± 9,32	74,60 ± 4,94	74,09 ± 7,17	0,102
Sexo ^b				
Masculino	15 (46,9%)	7 (46,7%)	8 (33,3%)	0,554
Feminino	17 (53,1%)	8 (53,3%)	16 (66,7%)	
IMC (kg/m²) ^a	24,30 ± 3,90	26,56 ± 3,30	28,87 ± 4,98	0,002* p1 = 0,120 ¹ p2 = 0,001 ² p3 = 0,115 ³
Circunferência Abdominal (cm) ^a	90,29 ± 12,38	98,07 ± 9,92	100,05 ± 13,09	0,005* p1 = 0,044 ¹ p2 = 0,002 ² p3 = 0,468 ³
Circunferência quadril (cm) ^c	97,00 (12,00)	102,00 (16,00)	100,00 (11,00)	0,035* p1 = 0,061 ¹ p2 = 0,018 ² p3 = 0,966 ³
Relação cintura/quadril ^c	0,941 (0,13)	0,943 (0,12)	0,973 (0,13)	0,158
Escolaridade ^b				
até 4 anos	11 (21,7%) ⁺	10 (66,7%)	17 (70,8%) ⁺⁺	0,007*
5 a 8 anos	8 (30,4%)	5 (33,3%)	4 (16,7%)	
> 9 anos	13 (47,8%) ⁺⁺	0 (0%) ⁺	3 (12,5%)	
MEEM^b				
Não alterado	3 (9,4%) ⁺	8 (53,3%)	14 (60,9%) ⁺⁺	<0,001*
Alterado	29 (90,6%) ⁺⁺	7 (46,7%)	9 (39,1%) ⁺	

Comorbidades ^b				
Até 1	27 (87,1%)	15 (100,0%)	16 (100,0%)	0,118
+ 1	4 (12,9%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Depressão ^b				
Não	18 (58,1%)	12 (80,0%)	17 (70,8%)	0,297
Sim	13 (41,9%)	3 (20,0%)	7 (29,2%)	
Σ4 ^b				
Não Carreador	11 (36,7%) ⁺	12(80,0%) ⁺⁺	12 (66,7%)	0,012*
Carreador	19(63,3%) ⁺⁺	3 (20,0%) ⁺	6 (33,3%)	

*p<0,05. ^aVariáveis expressas em média ± desvio-padrão (ANOVA com correção de Bonferroni) ^b Variáveis expressas em n (%) (teste χ^2 com análise de resíduos). ^cVariável expressa em mediana (intervalo interquartil) (Kruskal Wallis).

¹DA x CCL ²DA x controle ³CCL x Controle

⁺⁺mais frequente ⁺menos frequente

IMC = índice de massa corporal; MEEM = Mini-Exame do Estado Mental

Tabela 2: Comparação dos dados bioquímicos entre os grupos DA, CCL e controle.

Variáveis	DA	CCL	Controle	p
Vitamina D (ng/mL) ^a	38,71 ± 17,76	36,33 ± 19,05	34,84 ± 20,46	0,757
Glicemia (mg/dL) ^b	82,00 (28,72)	92,00 (19,00)	85,00 (8,00)	0,065
Colesterol Total (mg/dL) ^a	157,98 ± 33,12	137,11 ± 36,90	134,29 ± 53,02	0,112
Triglicerídeos (mg/dL) ^a	107,46 ± 45,68	114,71 ± 55,76	152,57 ± 78,30	0,069
HDLc (mg/dL) ^a	61,04 ± 18,20	58,61 ± 24,96	61,21 ± 15,55	0,754
LDLc (mg/dL) ^a	75,44 ± 22,54	55,00 ± 20,04	42,56 ± 49,20	0,002*
				p1 = 0,048 ¹
				p2 = 0,001 ²
				p3 = 0,204 ³
VLDLc (mg/dL) ^a	21,49 ± 9,14	22,94 ± 11,15	30,51 ± 15,66	0,083
Aβ ^a	563,55 ± 116,37	540,24 ± 147,58	_____	0,691
Tau-T ^b	563,91 (372,70)	534,26 (274,31)	_____	0,457
Tau-P ^a	82,62 ± 38,07	78,64 ± 28,09	_____	0,663
Tau/Aβ ^b	0,85 (1,19)	0,90 (1,15)		0,877

*p<0,05. ^aVariáveis expressas em média ± desvio-padrão (ANOVA com correção de Bonferroni).

^bVariável expressa em mediana (intervalo interquartil) (Kruskal Wallis). ¹DA x CCL ²DA x controle ³CCL x Controle

Tabela 3: Níveis de vitamina D categorizados entre os grupos DA, CCL e controle.

Variáveis	DA	CCL	Controle	p
VITD Categoria				
Deficiente	3 (9,4%)	3 (20,0%)	5 (23,8%)	0,405
Insuficiente	9 (28,1%)	3 (20,0%)	2 (9,5%)	
Suficiente	20 (62,5%)	9 (60,0%)	14 (66,7%)	

Variáveis expressas em n (%) (teste Fisher com análise de resíduos). VITD = vitamina D

Tabela 4: Comparação dos níveis de vitamina D e sexo nos três grupos estudados (DA+CCL+controle).

Vitamina D		Sexo		p
		Masculino	Feminino	
Categoria	Deficiente	1 (9,1%)+	10 (90,9%)**	0,042*
	Insuficiente	6 (42,9%)	8 (57,1%)	
	Suficiente	22 (51,2%)	21 (48,8%)	

*p<0,05. Variáveis expressas em n (%) (teste de Fisher com análise de resíduos)

** mais frequente +menos frequente

Tabela 5: Frequências alélica e genotípica dos polimorfismos do gene *VDR* entre os grupos DA, CCL e controle.

Polimorfismo	DA (n = 32)		CCL (n = 15)		Controle (n = 24)		DA x CCL			DA x Controle			CCL x Controle			
	Genótipo	n	Freq. (%)	n	Freq. (%)	n	Freq. (%)	p	OR	IC	p	OR	IC	p	OR	IC
BsmI	AA	9	28,13	2	13,33	2	8,33	Ref.			Ref.			Ref.		
	AG	11	34,37	7	46,67	12	50,00	0,412	2,864	0,374-26,392	0,076	4,909	0,712-42,104	1,000	1,714	0,128-23,479
	GG	12	37,50	6	40,00	10	41,67	0,671	2,250	0,286-21,058	0,249	3,750	0,534-32,444	1,000	1,667	0,118-24,245
ApaI	AA	14	43,75	6	40,00	9	37,50	1,000	1,286	0,081-39,434	1,000	0,643	0,058-7,488	1,000	0,750	0,021-15,527
	AC	15	46,87	8	53,33	13	54,67	1,000	1,600	0,109-47,251	1,000	1,300	0,140-13,516	0,538	0,267	0,008-4,793
	CC	3	9,38	1	6,67	2	8,33	Ref.			Ref.			Ref.		
FokI	CC	15	46,88	6	40,00	12	50,00	1,000	1,200	0,076-36,636	0,612	2,400	0,176-68,479	1,000	1,833	0,040-85,174
	CT	14	43,75	8	53,33	11	45,83	1,000	1,714	0,116-50,858	0,622	2,357	0,170-67,996	1,000	1,365	0,031-61,177
	TT	3	9,37	1	6,67	1	4,17	Ref.			Ref.			Ref.		
TaqI	TT	10	31,25	7	46,67	13	54,17	0,229	3,850	0,515-35,122	0,192	2,860	0,624-13,730	1,000	0,743	0,074-6,473
	TC	11	34,37	6	40,00	6	25,00	0,407	3,000	0,392-27,722	1,000	1,200	0,224-6,516	0,663	0,400	0,034-4,131
	CC	11	34,37	2	13,33	5	20,83	Ref.			Ref.			Ref.		

Alelos	n	Freq. (%)	n	Freq. (%)	n	Freq. (%)	p	OR	IC	p	OR	IC	p	OR	IC	
BsmI	A	29	45,31	11	36,67	16	33,33	0,960	1,024	0,368-2,823	0,773	1,123	0,473-2,661	0,851	1,097	0,378-3,208
	G	35	54,69	19	63,33	32	66,67									
ApaI	A	43	67,19	20	66,67	31	64,58	0,960	1,024	0,368-2,823	0,773	1,123	0,473-2,661	0,851	1,097	0,378-3,208
	C	21	32,81	10	33,33	17	35,42									
FokI	C	44	68,75	20	66,67	35	58,34	0,840	1,110	0,394-3,049	0,632	0,817	0,329-2,019	0,556	0,743	0,247-2,241
	T	20	31,25	10	33,33	13	41,67									
TaqI	T	31	48,44	20	66,67	32	66,67	0,098	0,470	0,172-1,265	0,054	0,470	0,201-1,092	1,000	1,000	0,342-2,942
	C	33	51,56	10	33,33	16	33,33									

OR= odds ratio IC = intervalo de confiança

Tabela 6: Frequência haplotípica dos polimorfismos do gene *VDR* entre os grupos DA, CCL e controle.

Haplótipos	DA		CCL		Controle		DA x CCL			DA x Controle			CCL x Controle		
	n	Freq. (%)	n	Freq. (%)	n	Freq. (%)	p	OR	IC	p	OR	IC	p	OR	IC
GACT (n=59)	24	40,68	11	18,64	24	40,68		Ref.			Ref.			Ref.	
GACC (n=17)	4	23,53	10	58,82	3	17,65	0,008*	0,137	0,024 - 0709	0,023*	5,450	1,187 - 26,999	1,000	0,750	0,116 - 4,606
GCCT (n=35)	15	42,86	11	31,43	9	25,71	0,086	0,375	0,103 - 1,341	0,382	1,6	0,490 - 5,262	0,452	0,601	0,195 - 1,823
GCTT (n=25)	10	40,00	5	20,00	10	40,00	1,000	0,917	0,213 - 4,021	1,000	1,091	0,248 - 4,700	1,000	1,000	0,311 - 3,215
AACC (n=49)	16	32,64	19	39,78	14	28,57	0,003*	0,338	0,110 - 1,017	0,053	2,591	0,878 - 7,763	0,744	0,875	0,317 - 2,408

*p<0,05. Ordem dos polimorfismos nos haplótipos: BsmI, ApaI, FokI, TaqI.

OR= odds ratio IC = intervalo de confiança.

Tabela 7: Frequências do polimorfismo BsmI, entre os grupos com níveis não suficientes e suficientes de vitamina D, considerando o grupo demência.

	Vitamina D - Categoria		p
	Não suficiente	Suficiente	
BsmI			
AA	4 (22,2%)	7 (24,1%)	0,023*
AG	3 (16,7%)+	15 (51,7%)++	
GG	11 (61,1%)++	7 (24,1%)+	
BsmI			
AAAG	7 (38,9%)+	22 (75,9%)++	0,016*
GG	11 (61,1%)++	7 (24,1%)+	

*p<0,05. Variáveis expressas em n (%) (teste de Fisher com análise de resíduos)

++ mais frequente + menos frequente

Tabela 8: Frequências das variáveis etilismo e dislipidemia entre os grupos com níveis não suficientes e suficientes de vitamina D, considerando o grupo demência.

	Vitamina D - Categoria		p
	Não suficiente	Suficiente	
Etilismo			
Não	2 (11,1%)+	13 (44,8%)++	0,016*
Sim ou ex	16 (88,9%)++	16 (55,2%)+	
Dislipidemia			
Não	7 (38,9%)+	20 (69,0%)++	0,043*
Sim	11 (61,1%)++	9 (31,0%)+	

*p<0,05. Variáveis expressas em n (%) (teste de Fisher com análise de resíduos) ++ mais frequente +menos frequente

Tabela 9: Correlações de vitamina D, marcadores liquóricos, MEEM, IMC e circunferência abdominal, para o grupo demência.

	VITD	A β	Tau-T	Tau-P	IATI	Tau/A β	MEEM	IMC	CA
VITD	r = x	0,083	-0,105	-0,188	0,089	-0,144	0,159	0,198	0,031
	p =	0,627	0,499	0,221	0,566	0,394	0,285	0,182	0,837
Aβ	r = 0,083	x	-0,452	-0,318	0,818	-0,743	-0,297	0,565	-0,005
	p = 0,627		0,005*	0,055*	<0,001*	<0,001*	0,074	<0,001*	0,972
Tau-T	r = -0,188	-0,452	x	0,938	-0,809	0,909	0,399	-0,138	-0,194
	p = 0,221	0,005*		<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,007*	0,372	0,207
Tau-P	r = 0,089	-0,318	0,938	x	-0,724	0,829	0,254	-0,146	-0,226
	p = 0,566	0,055*	<0,001*		<0,001*	<0,001*	0,096	0,344	0,139
IATI	r = 0,089	0,818	-0,809	-0,724	x	-0,985	-0,399	0,306	0,236
	p = 0,566	<0,001*	<0,001*	<0,001*		<0,001*	0,007*	0,043*	0,124
Tau/Aβ	r = -0,144	-0,743	0,909	0,829	-0,985	x	0,310	-0,377	-0,347
	p = 0,394	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*		0,062	0,021*	0,035*
MEEM	r = 0,159	-0,297	0,399	0,254	-0,399	0,310	x	0,066	-0,075
	p = 0,285	0,096	0,007*	0,096	0,007*	0,062		0,658	0,618
IMC	r = 0,198	0,565	-0,138	-0,146	0,306	-0,377	0,066	x	0,620
	p = 0,182	<0,001*	0,372	0,244	0,043*	0,021*	0,658		<0,001*
CA	r = 0,031	0,314	-0,194	-0,226	0,236	-0,347	-0,075	0,620	x
	p = 0,837	0,058	0,207	0,124	0,124	0,035*	0,618	<0,001*	

*p <0,05. (Teste de Spearman) CA = circunferência abdominal, MEEM = Mini Exame do Estado Mental, IMC = índice de massa corporal, VITD = vitamina D.

Tabela 10: Descrição das variáveis clínicas e demográficas do grupo CCL.

Variáveis	Grupo CCL
Sexo (M/F)	8 / 10
Idade (anos) ^a	75, 17 ± 6,23
IMC (kg/m ²) ^a	25,35 ± 2,52
Escolaridade (anos)	
0	2
1-3	2
4-7	12
>7	1
NA	1
Vitamina D ^a (ng/mL)	37,66 ± 10,69
Intervalo entre consultas ^a (meses)	10,40 ± 3,81
Carreadores ε4 n(%)	8 (50,0 %)

^a Variáveis expressas em média± desvio-padrão. IMC = índice de massa corporal. NA = sem informação

Tabela 11: Correlação entre os níveis de vitamina D e o Z-score dos testes cognitivos no grupo CCL.

Variáveis	Avaliação inicial (T0)		Avaliação final (T1)		T1-T0	
	r	p	r	p	r	p
MEEM	0,284	0,286	0,019	0,947	-0,273	0,325
Evocação tardia	-0,129	0,661	-0,002	0,996	0,368	0,369
Fluência verbal	0,078	0,773	-0,354	0,235	-0,330	0,270
Reconhecimento de figuras	0,244	0,401	0,462	0,210	0,452	0,261

*p<0,05 Correlação de Spearman

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 1S: Condições da PCR-RFLP para análise dos polimorfismos BsmI, ApaI, FokI e TaqI no gene *VDR*.

Polimor.	Oligos para PCR e tamanho do produto	Alelos de acordo com os locais de restrição		Digestão enzimática
BsmI A/G	F (5'-GGCAACCTGAAGGGAGACGTA-3') R (5'-CTCTTTGGACCTCATCACCGAC-3') Produto da PCR: 461pb	A Fragmento 461pb	G Fragmentos 258pb e 203pb	37°C <i>overnight</i>
ApaI A/C	F (5'-CAGAGCATGGACAGGGAGCAAG-3') R (5'-GCAACTCCTCATGGCTGAGGTCTCA-3') Produto da PCR: 740pb	A Fragmento 740pb	C Fragmentos 530pb e 210pb	37°C <i>overnight</i>
FokI C/T	F (5'-AGCTGGCCCTGGCACTGACTCTGCTCT-3') R (5'-ATGGAAACACCTTGCTTCTTCTCCCTC-3') Produto da PCR: 265pb	C Fragmento 265pb	T Fragmentos 169pb e 96pb	37°C <i>overnight</i>
TaqI T/C	F (5'-CAGAGCATGGACAGGGAGCAAG-3') R (5'-GCAACTCCTCATGGCTGAGGTCTCA-3') Produto da PCR: 740pb	T Fragmentos 496pb e 245pb	C Fragmentos 290pb, 245pb e 205pb	65°C <i>overnight</i>

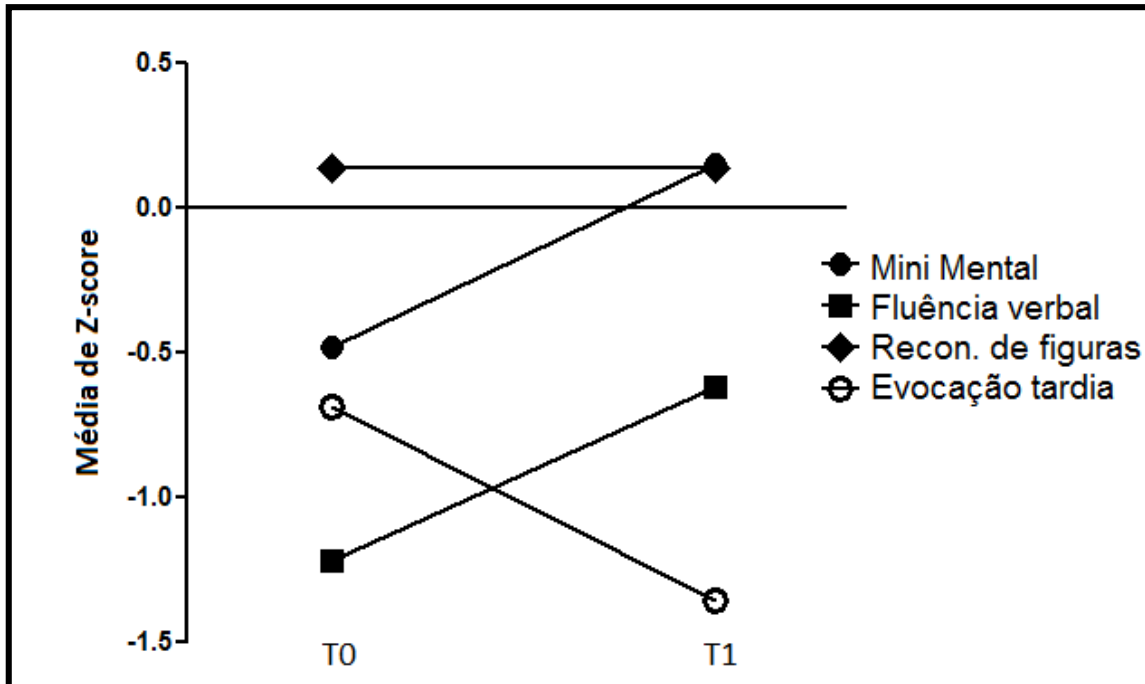
(Fonte: Ranjzadet *et al.*, 2011)

Tabela 2S: Programas de ciclagem da PCR dos polimorfismos do receptor da vitamina D.

Polimorfismos	Desnaturação inicial	Desnaturação	Anelamento	Extensão	Extensão	Inativação da enzima
BsmI	95°C 5min	95°C	68°C	72°C	72°C 7min	4°C 5min
		45seg	30seg	45seg		
		25 ciclos				
Apal	95°C 5min	95°C	67°C	72°C	72°C 7min	4°C 5min
		45seg	30seg	45seg		
		35 ciclos				
FokI	94°C 5min	94°C	61°C	72°C	72°C 5min	4°C 5min
		30seg	30seg	30seg		
		35 ciclos				
TaqI	95°C 5min	95°C	67°C	72°C	72°C 7min	4°C 5min
		45seg	30seg	45seg		
		35 ciclos				

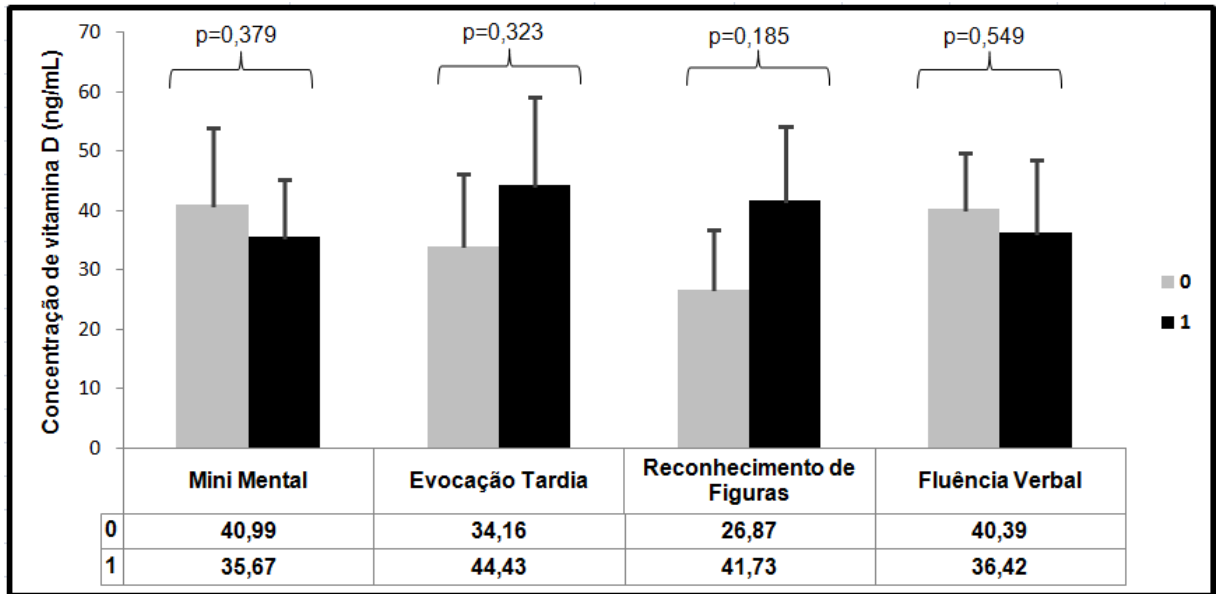
(Fonte: Ranjzadet *et al.*, 2011)

Figura 1: Média do desempenho dos pacientes com CCL dos testes cognitivos nos tempos 0 e 1.



T0 = 1ª avaliação T1 = 2ª avaliação

Figura 2: Diferença de média das concentrações de vitamina D e os testes cognitivos.



6. CONCLUSÃO

Os níveis séricos de VITD, as frequências alélicas e genóticas dos polimorfismos BsmI, ApaI, FokI e TaqI do gene *VDR* não estão associados ao desenvolvimento da DA e/ou declínio cognitivo.

Em indivíduos com declínio cognitivo, o genótipo GG do polimorfismo BsmI do gene *VDR* está relacionado com níveis insuficientes de VITD, enquanto o alelo A deste polimorfismo está associado a níveis suficientes.

Embora não tenha sido encontrada diferença entre os grupos quanto aos polimorfismos separadamente, foi observada associação do haplótipo GACT com predisposição à DA.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERT, M. S.; DEKOSKY, S. T.; DICKSON, D.; *et al.* The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2011; 7:270–9.
- AGNELLO L.; SCAZZONE C.; RAGONESE P.; *et al.* Vitamin D receptor polymorphisms and 25-hydroxyvitamin D in a group of Sicilian multiple sclerosis patients. *Neurol Sci*, 2016; 37(2):261-7.
- ALVES M.; BASTOS M.; LEITÃO F.; *et al.* Vitamina D—importância da avaliação laboratorial. *Rev Port Endocrinol Diabetes e Metab*, 2013; 08:32-9.
- ALZHEIMER'S ASSOCIATION. Disponível em: <http://www.alz.org/> Acesso em: 10 mai. 2016.
- ALZHEIMER'S SOCIETY. Genetics of dementia, 2013. Reviewed by: HOLLINGWORTH P.; GREEN R. C. Disponível em: <http://www.alzheimers.org.uk/> Acesso em: 22 out. 2015.
- ANNWEILER C.; DURSUN E.; FÉRON F.; *et al.* Vitamin D and cognition in older adults: updated international recommendations. *J Intern Med*, 2015; 277(1):45-57.
- ANNWEILER C.; KARRAS S. N.; ANAGNOSTIS P.; *et al.* Vitamin D supplements: a novel therapeutic approach for Alzheimer patients. *Front Pharmacol*. 2014; 5:6.
- ANNWEILER C.; SCHOTT A. M.; BERRUT G.; *et al.* Vitamin D and ageing: neurological issues. *Neuropsychobiology*, 2010; 62(3):139–150.
- ANNWEILER C.; BEAUCHET O. Vitamin D-mentia: randomized clinical trials should be the next step. *Neuroepidemiology*, 2011; 37(3-4):249-58.
- ANNWEILER C. Vitamin D in dementia prevention. *Ann N Y Acad Sci*, 2016;1367(1):57-63.
- ASSMANN K. E.; TOUVIER M.; ANDREEVA V. A.; *et al.* Midlife plasma vitamin D concentrations and performance in different cognitive domains assessed 13 years later. *Br J Nutr*, 2015; 113(10):1628-37.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ALZHEIMER (ABRAZ). Disponível em: <http://www.abraz.org.br/> Acesso em: 13 out. 2016.
- AVRAMOPOULOS D. Genetics of Alzheimer's disease: recent advances. *Genome Med*. 2009; 1(3):34.
- BABIC M.; *et al.* Update on the core and developing cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer disease. *Croat Med J*, 2014; 55(4):347-65.
- BALION C.; GRIFFITH L. E.; STRIFLER L.; *et al.* Vitamin D, cognition, and dementia: A systematic review and meta-analysis. *Neurology*, 2012; 79(13):1397-405.
- BANERJEE A.; KHEMKA V. K.; GANGULY A.; *et al.* Vitamin D and Alzheimer's Disease: Neurocognition to Therapeutics. *Int J Alzheimer Dis*, 2015; 2015:192747.
- BARTALI B.; DEVORE E.; GRODSTEIN F.; *et al.* Plasma vitamin D levels and cognitive function in aging women: the Nurses' Health Study. *J Nutr Health Aging*. 2014;18(4):400-6.
- BEKRIS L. M.; YU C. E.; BIRD T. D.; *et al.* Genetics of AD. *J Geriatr Psychiatry Neurol*, 2010; 23(4):213-27.
- BERTI V.; MURRAY J.; DAVIES M.; *et al.* Nutrient patterns and brain biomarkers of alzheimer's disease in cognitively normal individuals. *J Nutr Health Aging*. 2015; 19(4):413-23.

- BLENNOW K.; HAMPEL H.; WEINER M.; *et al.* Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*, 2010; 6(3):131-44.
- BOTTINO C. M. C.; CARVALHO I. A. M.; ALVAREZ A. M. M. A.; *et al.* Reabilitação cognitiva em pacientes com doença de Alzheimer. *Arq Neuropsiquiatr*, 2002; 60(1):70-9.
- BRUCKI S. M.; NITRINI R.; CARAMELLI P.; *et al.* Sugestões para o Uso do Mini Exame do Estado Mental no Brasil. *Arq Neuro-Psiquiatr*, 2003; 61(3b):777-81.
- BRUCKI, S. M. D. Doença de Alzheimer: recomendações para o diagnóstico e manejo. *Dementia & Neuropsychologia*, 2016. São Paulo – Ominifarma.
- CAIXETA, L. Demência: abordagem multidisciplinar. *São Paulo: Editora Atheneu*, 2006; p592.
- CARAMELLI P.; TEIXEIRA A. L.; BUCHPIGUEL C. A.; *et al.* Diagnóstico de doença de Alzheimer no Brasil: exames complementares. *Dement Neuropsychol*, 2011; 5(Suppl1):11-20.
- CASTRO L. C. G. O sistema endocrinológico vitamina D. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 2011; 55(8):1677-9487.
- CHAVES M. L.; GODINHO C. C.; PORTO C. S.; *et al.* Doença de Alzheimer: Avaliação cognitiva, comportamental e funcional. *Dement Neuropsychol*, 2011; 5(Suppl1): 21-33.
- CHEI C. L.; RAMAN P.; YIN Z. X.; *et al.* Vitamin D Levels and Cognition in the Elderly Population in China. *J Am Geriatr Soc*, 2014; 62(11):2125-9.
- CLARFIELD A. M. The decreasing prevalence of reversible dementias: An updated meta-analysis. *Arch Intern Med*, 2003; 163(18):2219-29.
- DE LA HUNTY A.; WALLACE A. M.; GIBSON S.; *et al.* UK Food Standards Agency Workshop Consensus Report: the choice of method for measuring 25-hydroxyvitamin D to estimate vitamin D status for the UK National Diet and Nutrition Survey. *Br J Nutr*, 2010; 104(4):612-9.
- DUBOIS B. *et al.* Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. *Lancet Neurol*, 2014; 13(6):614-29.
- DURK M. R.; HAN K.; CHOW E. C.; *et al.* 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃ reduces cerebral amyloid- β accumulation and improves cognition in mouse models of Alzheimer's disease. *J Neurosci*, 2014; 34(21):7091-101.
- FORLENZA O. V. Tratamento farmacológico da doença de Alzheimer. *Rev Psiquiatr Clin*, 2005; 32(3):137-48.
- GALVÃO L. OBA.; GALVÃO M. F.; REIS C. M. S.; *et al.* Considerações atuais sobre a vitamina D. *Associação Médica de Brasília*, 2014; 50(4):227-324.
- GANGWAR A. K.; RAWAT A.; TIWARI S.; *et al.* Role of Vitamin-D in the prevention and treatment of Alzheimer's disease. *Indian J Physiol Pharmacol*, 2015. 59(1):94-9.
- GAUTHIERS.; REISBERG B.; ZAUDIG M.; *et al.* Mild cognitive impairment. *Lancet*, 2006;367(9518):1262-70.
- GEZEN-AK D.; DURSUN E.; BILGIÇ B.; *et al.* Vitamin D receptor gene haplotype is associated with late-onset Alzheimer's disease. *Tohoku J Exp Med*, 2012; 228(3):189-96.
- GRANT W. B.; HOLICK M. F. Benefits and requirements of vitamin D for optimal health: a review. *Altern Med Rev*, 2005; 10(2):94-111

- GRIMM M. O.; LEHMANN J.; METT J.; *et al.* Impact of Vitamin D on amyloid precursor protein processing and amyloid- β peptide degradation in Alzheimer's disease. *Neurodegener Dis*, 2014; 13(2-3):75-81.
- HANSSON O.; ZETTERBERG H.; BUCHHAVE P.; *et al.* Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. *Lancet Neurol*, 2006; 5:228-34.
- HOLICK M. F. Vitamin D requirements for humans of all ages: new increased requirements for women and men 50 years and older. *Osteoporos Inter*, 1998; 8(Suppl 2):S24-9.
- HOOSHMAND B.; LÖKK J.; SOLOMON A.; *et al.* Vitamin D in relation to cognitive impairment, cerebrospinal fluid biomarkers, and brain volumes. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2014; 69(9):1132-8.
- INSTITUTO ALZHEIMER BRASIL. Disponível em: <<http://www.institutoalzheimerbrasil.org.br/>> Acesso em: 9 mai. 2016.
- KAMEL M. M.; FOUAD S. A.; SALAHELDIN O.; *et al.* Impact of vitamin D receptor gene polymorphisms in pathogenesis of Type-1 diabetes mellitus. *Int J Clin Exp Med*, 2014; 7(12):5505-10.
- KEENEY J. T.; BUTTERFIELD D. A. Vitamin D deficiency and Alzheimer disease: Common links. *Neurobiol Dis*, 2015; 84:84-98.
- KHORRAM H. R. K.; GOZALPOUR E.; SALIMINEJAD K.; *et al.* Vitamin D Receptor (VDR) Polymorphisms and Late-Onset Alzheimer's Disease: An Association Study. *Iran J Public Health*, 2013; 42(11):1253-1258.
- ŁACZMAŃSKI Ł.; JAKUBIK M.; BEDNAREK-TUPIKOWSKA G.; *et al.* Vitamin D receptor gene polymorphisms in Alzheimer's disease patients. *Exp Gerontol*, 2015; 69:142-7.
- LANDEL V.; ANNWEILER C.; MILLET P.; *et al.* Vitamin D, Cognition and Alzheimer's Disease: The Therapeutic Benefit is in the D-Tails. *Alzheimers Dis*, 2016; 53(2):419-44.
- LEE Y. H.; KIM J. H.; SONG G. G. Vitamin D receptor polymorphisms and susceptibility to Parkinson's disease and Alzheimer's disease: a meta-analysis. *Neurol Sci*, 2014; 35(12):1947-53.
- LITTLEJOHNS T. J.; HENLEY W. E.; LANG I. A.; *et al.* Vitamin D and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Neurology*, 2014; 83(10):920-8.
- LUCATELLI J. F.; BARROS A. C.; MALUF S. W.; *et al.* Influência genética sobre a doença de Alzheimer de início precoce. *Rev Psiquiatr Clín*, 2009; 36(1):25-30.
- MAGALHÃES C. A.; FIGUEIRO M.; FRAGA, V. G.; *et al.* Cerebrospinal fluid biomarkers for the differential diagnosis of Alzheimer's disease. *J Bras Patol Med Lab*, 2015; 51:376-82.
- MANCHANDA P. K.; KIBLER A. J.; ZHANG M.; *et al.* Vitamin D receptor as a therapeutic target for benign prostatic hyperplasia. *Indian J Urol*, 2012; 28(4):377-81.
- MARCHESI V. T. Alzheimer's dementia begins as a disease of small blood vessels, damaged by oxidative-induced inflammation and dysregulated amyloid metabolism: implications for early detection and therapy. *FASEB J*, 2011; 25(1):5-13.
- MATHIEU C.; BADENHOOP K. Vitamin D and type 1 diabetes mellitus: state of the art. *Trends Endocrinol Metab*, 2005; 16(6):261-6.
- MATTSSON N.; *et al.* CSF biomarker variability in the Alzheimer's Association quality control program. *Alzheimers Dement*, 2013; 9(3):251-61.
- MCKHANN G. M.; KNOPMAN D. S.; CHERTKOW H.; *et al.* The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2011; 7(3):263-9.

- MOON J. H. Endocrine Risk Factors for Cognitive Impairment. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 2016; 31(2):185-92.
- MPANDZOU G.; HADDOU E. A. B.; REGRAGUI W.; et al. Vitamin D deficiency and its role in neurological conditions: A review. *Rev Neurol (Paris)*, 2016. 172(2):109-22.
- MUANGPAIN W.; PETCHARAT C.; SRINONPRASET V. Prevalence of potentially reversible conditions in dementia and mild cognitive impairment in a geriatric clinic. *Geriatr Gerontol Int*, 2012; 12(1): 59-64.
- MUNOZ D. G.; FELDMAN H. Causes of Alzheimer's disease. *CMAJ*, 2000; 162(1):65-72.
- NITRINI R.; LEFEVRE B. H.; CAMELLI P.; et al. Testes neuropsicológicos de aplicação simples para o diagnóstico das demências. *Arq Neuro-psiquiatr*, 1994; 52:457-65.
- NITRINI R.; CAMELLI P.; BOTTINO C. M.; et al. Diagnosis of Alzheimer's disease in Brazil: cognitive and functional evaluation. Recommendations of the Scientific Department of Cognitive Neurology and Aging of the Brazilian Academy of Neurology. *Arq Neuro-psiquiatr*, 2005; 63(3a):720-7.
- NITRINI R.; CAMELLI P.; HERRERA JÚNIOR E.; et al. Performance of illiterate and literate nondemented elderly subjects in two tests of long-term memory. *J Int Neuropsychol Soc*, 2004; 10(4):634-8.
- PARIHAR M. S.; TARUNA H. Alzheimer's disease pathogenesis and therapeutic interventions. *J Clin Neurosci*, 2004; 11(5):456-67.
- PETERSEN R. C. Clinical practice. Mild cognitive impairment. *N.Engl J Med*, 2011; 364(23): 2227-34.
- RUDY J. C.; ROLSTON R. K.; SMITH M. A. Alzheimer disease. *Dis Mon*, 2010; 56(9):484-546. SCHLÖGL M.; HOLICK M. F. Vitamin D and neurocognitive function. *Clin Interv Aging*, 2014; 9:559-68.
- THOMAZ A. M. Expressão Do Receptor De Vitamina D Recombinante: Um Importante Alvo Biológico. Universidade Estadual de Feira de Santana/ BA, 2013.
- TUCKER K. L. Nutrient intake, nutritional status, and cognitive function with aging. *Ann N Y Acad Sci*, 2016; 1367(1):38-49.
- ULSTEIN I.; BØHMER T. Normal Vitamin Levels and Nutritional Indices in Alzheimer's Disease Patients with Mild Cognitive Impairment or Dementia with Normal Body Mass Indexes. *J Alzheimers Dis*, 2016; 55(2):717-725.
- UNITED NATIONS. World Population Ageing: 1950-2050. New York, 2001. Disponível em: <<http://www.un.org/esa/population/publications/worldageing19502050/>>. Acesso em: 23 set. 2015.
- VANCEA M.; SOLÉ-CASALS J. Population Aging in the European Information Societies: Towards a Comprehensive Research Agenda in eHealth Innovations for Elderly. *Aging Dis*, 2016; 7(4):526-39.
- WANG; XIUZHE; ZHU; et al. Resolution of inflammation is altered in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2015; 11(1):40-50.
- WARD A.; ARRIGHI H. M.; MICHEL S. S.; CEDARBAUM J. M.; Mild cognitive impairment: disparity of incidence and prevalence estimates. *Alzheimers Dement*, 2012; 8(1):14-21.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global Health And Aging. *National Institute on aging*, 2011.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). World health statistics, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). World Population Ageing. *Department of Economic and Social Affairs Population Division*, 2015.

YEŞİL Y.; KUYUMCU M. E.; KARA Ö.; *et al.* Vitamin D status and its association with gradual decline in cognitive function. *Turk J Med Sci*, 2015; 45(5):1051-7.

8. ANEXOS

8.1 Ficha clínica

FICHA DE AVALIAÇÃO CLÍNICA

Data: _____

Nome: _____ Sexo: _____

Idade: _____(anos) Número do Prontuário: _____

✓ **Critérios de inclusão:**

1. Pacientes com Comprometimento Cognitivo Leve e provável Doença de Alzheimer entre 50 a 90 anos – diagnóstico pelos médicos do ambulatório de acordo com critérios estabelecidos (NIA/AA (2011) para DA e IWG on MCI (2004) para CCL).
2. Indivíduos do grupo controle – indivíduos sem comprometimento cognitivo (avaliação pelos médicos do ambulatório), pareados segundo sexo e idade com o grupo caso.

✓ **Critérios de exclusão:**

1. Insuficiência renal crônica
2. Câncer ou doença autoimune
3. Doenças hepáticas
4. Processo infeccioso/inflamatório atual ou recente (nas 4 últimas semanas)
5. Histórico de infarto agudo do miocárdio (últimos 6 meses)
6. Uso atual de anti-inflamatórios (exceto AAS)
7. Uso atual de anticoagulantes
8. Outras demências que não a DA

✓ **Escolaridade:**

Anos de estudo: _____

<input type="checkbox"/> 1º grau completo <input type="checkbox"/> 2º grau incompleto <input type="checkbox"/> 2º grau completo <input type="checkbox"/> Superior Incompleto <input type="checkbox"/> Superior Completo <input type="checkbox"/> Pós-graduação/Especialização
--

✓ **Estado civil:**

<input type="checkbox"/> Casado(a) <input type="checkbox"/> Relação estável <input type="checkbox"/> Solteiro(a) <input type="checkbox"/> Divorciado(a) <input type="checkbox"/> Viúvo(a)

✓ **Renda:**

No MÊS PASSADO , qual foi aproximadamente sua renda familiar LÍQUIDA , isto é, a soma de rendimentos, já com descontos, de todas as pessoas que contribuem regularmente para as despesas de sua casa?		
<input type="checkbox"/> Menos de 724 reais (<1 salário)		
<input type="checkbox"/> Entre 724 e 1448 reais (1 <salário<2)		
<input type="checkbox"/> Entre 1448 e 2172 reais (2 <salário<3)		
<input type="checkbox"/> Entre 2172 e 2898 reais (3 <salário<4)		
<input type="checkbox"/> Entre 2898 e 3620 reais (4 <salário<5)		
<input type="checkbox"/> Entre 3620 e 4344 reais (5 <salário<6)		
<input type="checkbox"/> Entre 4344 e 5068 reais (6 <salário<7)		
<input type="checkbox"/> Entre 5068 e 5792 reais (7 <salário<8)		
<input type="checkbox"/> Entre 5792 e 6516reais (8 <salário<9)		
<input type="checkbox"/> 6516 reais ou mais (salário>9)		
<input type="checkbox"/> NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER		
Quantas pessoas (adultos e crianças), INCLUINDO O(A) SR(A) , dependem dessa renda para viver? Se for o caso, inclua dependentes que recebem pensão alimentícia, mas NÃO INCLUA empregados domésticos para os quais o(a) Sr(a) paga salário.		
_ _ pessoas		
<input type="checkbox"/> NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER		

✓ **Exame Físico:**

FC: _____	PAS: _____	PAD: _____
Peso: _____	Altura: _____	CA: _____
Cálculo do IMC: _____	Circunferência quadril: _____	

Exame Cardiovascular: _____

✓ **Exames Complementares:**

Data:

Hg/HT	Glicemia	CT	HDL	LDL	TG	Outro	Outro	Outro

Alguma vez um médico lhe informou que o (a) Sr. (a)/você teve ou tem alguma das doenças abaixo?
Quando foi informado (época do diagnóstico)?

- () Doença de Alzheimer
- () Pressão alta ou hipertensão arterial
- () Diabetes (açúcar alto no sangue ou na urina)
- () Insuficiência renal
- () Anemia
- () Insuficiência cardíaca (coração grande ou dilatado)
- () Colesterol alto
- () Dores nas costas ou problemas de coluna
- () Dores nas juntas (artrose ou artrite, reumatismo)
- () Asma/bronquite
- () Cirrose
- () Câncer
- () Outros: _____

Outras comorbidades relatadas pelo clínico ou constantes do prontuário:

✓ **Quantos fatores de risco?** _____

Idade (homem > 55 e mulheres > 65 anos)
Tabagismo
Dislipidemia: triglicérides \geq 150 mg/dL; LDL \geq 160 mg/dL; HDL < 40 mg/dL(homens) e HDL < 50 mg/dL(mulheres) – <u>Quinta Diretriz</u>
Diabetes Mellitus

Obesidade
História familiar prematura de doença cardiovascular: (homem < 55 e mulheres < 65 anos)
Hipertensão

✓ **Condições clínicas associadas:** _____

Doença cerebrovascular (AVE, AVEI, AVEH)
Doença cardíaca (infarto, angina, revascularização coronária, insuficiência cardíaca)
Doença renal (nefropatia diabética, clearance < 60 mL/min)
Doença arterial periférica
Retinopatia avançada
Menopausa
Histórico familiar de Doença de Alzheimer

✓ **Medicação** (considere também como remédio qualquer vitamina ou remédio natural):
 Tomou alguma medicação de uso regular ou por qualquer outro motivo nos últimos 7 dias? Sim ()
 Não ()

Medicamento	Apresentação	dose	Número x ao dia	Tempo de uso (meses)	Prescrito por médico ?

Informações provenientes de: () receita/prontuário () verbal do paciente

✓ **Cigarro:**

01. É ou já foi fumante, ou seja, já fumou ao longo da sua vida?
() Não
() Sim

02. Com que idade começou a fumar?	
_ _ anos de idade () NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER	
03. Fuma cigarros atualmente?	
() Não ----- <input type="checkbox"/>	04. Com que idade o(a) senhor(a) parou de fumar pela última vez? _ _ anos () NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER
() Sim	
04. Em geral, quantos cigarros por dia fuma (ou fumava)?	
_ _ cigarros	
05. <u>Ao todo</u> , durante quantos anos fumou ou fuma? Desconte os períodos em que deixou de fumar.	
_ _ anos () NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER	
06. Convive com pessoas que fumam no mesmo ambiente (sala de trabalho, em casa, no automóvel)?	
() Sim ----- <input type="checkbox"/> () Não	Onde? . Em casa? () Não () Sim . No trabalho? () Não () Sim . No automóvel? () Não () Sim

Carga tabágica: ___ (nº. cigarros por dia/20) ___ * nº anos que fumou.

✓ **Consumo de álcool:**

1. Já consumiu bebida alcoólica?	() SIM () NÃO
2. Que idade tinha quando começou a consumir bebida alcoólica? _____ (anos)	
3. Atualmente, consome bebidas alcoólicas?	() SIM () NÃO
4. Por quantos anos consumiu/ingeriu bebidas alcoólicas, antes de parar de beber? _____ (anos)	

5. No passado, quais os tipos de bebida alcoólica consumia (fazia uso)?

6. Qual era o número usual de drinques por semana, antes de parar de beber? _____

7. SE BEBE ATUALMENTE. Há quantos anos bebe? (Não conte os anos em que não bebeu) _____ (anos)

8. Qual é o número usual de drinques por semana? _____

9. Durante as últimas 24 horas, quantos drinques bebeu? _____

10. No último mês, qual foi o maior número de drinques tomou em um único dia? _____

✓ **Eventos:**

1. Nos ÚLTIMOS 12 MESES, esteve hospitalizado(a) por uma noite ou mais, em razão de doença ou acidente?

() [] Não

() NÃO QUER RESPONDER

() Sim, uma vez -----

. Qual o motivo dessa internação?

() NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER

. Quando foi que isso aconteceu? (LEIA AS ALTERNATIVAS)

() Há menos de 1 mês

() Entre 1 e 6 meses atrás

() Entre 7 e 12 meses atrás

() NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER

<input type="checkbox"/> Sim, mais de uma vez ---	. Quais os motivos dessas internações?

	<input type="checkbox"/> NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER
	. Quando foi a <u>ÚLTIMA VEZ</u> que isso aconteceu? (LEIA AS ALTERNATIVAS)
	<input type="checkbox"/> Há menos de 1 mês
	<input type="checkbox"/> Entre 1 e 6 meses atrás
	<input type="checkbox"/> Entre 7 e 12 meses atrás
	<input type="checkbox"/> NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER
2. Nos <u>ÚLTIMOS 12 MESES</u> , faleceu algum parente próximo (pai, mãe, cônjuge, companheiro(a), filho ou irmão)?	
<input type="checkbox"/> Não	
<input type="checkbox"/> NÃO QUER RESPONDER	
<input type="checkbox"/> Sim, um parente	. Quando foi que isso aconteceu? (LE
	<input type="checkbox"/> Há menos de 1 mês
	<input type="checkbox"/> Entre 1 e 6 meses atrás
	<input type="checkbox"/> NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER
<input type="checkbox"/> Sim, mais de um parente	. Quando foi a <u>última vez</u> que isso aconteceu?(LEIA AS ALTERNATIVAS)
	<input type="checkbox"/> Há menos de 1 mês
	<input type="checkbox"/> Entre 1 e 6 meses atrás
	<input type="checkbox"/> Entre 7 e 12 meses atrás
	<input type="checkbox"/> NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER

✓ **Atividade física:**

01. Quantos dias por semana o(a) Sr(a) faz atividade física?	
<input type="checkbox"/> nenhum	
____ ____ dias por semana	02. Nos dias em que o(a) Sr(a) faz essa atividade, quanto tempo no total elas duram por dia?

Qual?	_ _ _ minutos/dia
02. Se incapacitado, costumava realizar atividades físicas?	
_ _ dias por semana	02.Quanto tempo no total elas duravam por dia?
Qual?	_ _ _ minutos/dia

✓ **Estado emocional:**

Escala de Depressão Geriátrica – GDS15	Valor = 1	Valor = 0
1- Está satisfeito (a) com sua vida?	Não	Sim
2- Diminuiu a maior parte de suas atividades e interesses?	Sim	Não
3- Sente que a vida está vazia?	Sim	Não
4- Aborrece-se com freqüência?	Sim	Não
5- Sente-se de bem com a vida na maior parte do tempo?	Não	Sim
6- Teme que algo ruim possa lhe acontecer?	Sim	Não
7- Sente-se feliz a maior parte do tempo?	Não	Sim
8- Sente-se freqüentemente desamparado (a)?	Sim	Não
9- Prefere ficar em casa a sair e fazer coisas novas?	Sim	Não
10- Acha que tem mais problemas de memória que a maioria?	Sim	Não
11- Acha que é maravilhoso estar vivo agora?	Não	Sim
12- Vale a pena viver como vive agora?	Não	Sim
13- Sente-se cheio(a) de energia?	Não	Sim
14- Acha que sua situação tem solução?	Não	Sim
15- Acha que tem muita gente em situação melhor?	Sim	Não
Valor Total (Total > 5 = suspeita de depressão)	_____	

Escala de Cornell de Depressão na Demência – CSDD	2 pontos	1 ponto	0 ponto
A. Sintomas Relativos ao Humor	Severo	Moderado	Outros
1- Ansiedade, expressão ansiosa, ruminções, preocupações			
2- Tristeza, expressão triste, voz triste, choro			
3- Ausência de reação aos eventos agradáveis			
4- Irritabilidade, facilidade em ficar contrariado, humor lábil			
B. Distúrbios do Comportamento	Severo	Moderado	Outros
5- Agitação, não consegue ficar no lugar, se contorce, puxa os cabelos			
6- Lentidão psicomotora: dos movimentos, da fala, das reações			
7- Numerosas queixas somáticas (anotar ausente se apenas sintomas gastrintestinais)			
8- Perda de interesse, menor implicação nas atividades habituais (anotar apenas se a mudança ocorreu de forma rápida, em menos de 1 mês)			
C. Sintomas Somáticos	Severo	Moderado	Outros
9- Perda de apetite, come menos do que usualmente			
10- Perda de peso (anotar severa se superior à 2,5 kg em 1 mês)			
11- Falta de energia, se cansa facilmente, incapaz de sustentar uma atividade (anotar apenas se a mudança ocorreu de forma rápida, em menos de 1 mês)			
D. Funções Cíclicas	Severo	Moderado	Outros
12- Variações de humor durante o dia, sintomas mais acentuados pela manhã			
13- Dificuldades para dormir, dorme mais tarde do que usualmente			
14- Despertar noturno frequente			
15- Despertar matinal precoce, mais cedo do que usualmente			

E. Distúrbios Ideatórios	Severo	Moderado	Outros
16- Idéias de suicídio, pensa que a vida não vale a pena de ser vivida, deseja morrer			
17- Auto-depreciação, se queixa dele próprio, pouca estima de si, sentimento de fracasso			
18- Pessimismo, antecipação do pior			
19- Idéias delirantes congruentes ao humor, idéias delirantes de pobreza, de doença ou de perda			
Valor Total (> 12, provável depressão)	_____ / 38 pontos		

PONTUAÇÃO

CUMULATIVE ILLNESS RATING SCALE FOR GERIATRICS (CIRS-G)

Miller, Paradis, and Reynolds 1991

Paciente: _____ Idade: _____

Avaliador: _____ Data: _____

Instruções: escreva breves descrições do(s) problema(s) médico(s) que justifiquem a pontuação, na linha em frente a cada item. Use como referência o Manual CIRS-G. (Se precisar de mais espaço para escrever, utilize o verso da folha).

Estratégia de avaliação:

0 - Sem problema

1 - Problema leve atual ou problema significativo no passado

2 - Invalidez ou morbidade moderada/requer terapia de "primeira linha"

3 - Invalidez significativa severa ou constante/problemas crônicos incontroláveis

4 - Extremamente severo/requer tratamento imediato/fase final da insuficiência do órgão /severa dificuldade na função

Sistemas	Descrição	Pontuação
Coração		
Vascular		
Hematopoiético		
Respiratório		

Olhos, orelhas, nariz, garganta e laringe		
Trato gastrointestinal superior		
Trato gastrointestinal inferior		
Fígado		
Renal		
Genitourinário		
Músculoesquelético/tegumentar		
Neurológico		
Endócrino/metabólico e peito		
Doença psiquiatra		

TOTAL DE CATEGORIAS AVALIADAS: _____ **PONTUAÇÃO TOTAL:** _____

Index de severidade (pont. total/núm. de categorias avaliadas): _____

Número de categorias no nível de severidade 3: _____

Número de categorias no nível de severidade 4: _____

Mini – Mental

1. Orientação temporal: /10

1.1. Dia do mês:

1.2. Mês:

1.3. Ano:

1.4. Dia da semana:

1.5. Hora aproximada:

1.6. Local específico:

1.7. Local geral:

1.8. Bairro ou rua próxima:

1.9. Cidade:

1.10. Estado:

2. Registro: /3

Repetir:

3. Atenção e cálculo: /5

$$100 - 7 = 93 - 7 = 86 - 7 = 79 - 7 = 72 - 7 = 65$$

4. Evocação: /3

Quais as três palavras perguntadas anteriormente?

5. Linguagem: /8

5.1. Nomear 2 objetos: relógio e caneta /2

5.2. Repetir: "Nem aqui, nem ali, nem lá" /1

5.3. Comando de 3 estágios: /3

"apanhe esta folha de papel com a mão direita, dobre-a ao meio e coloque-a no chão".

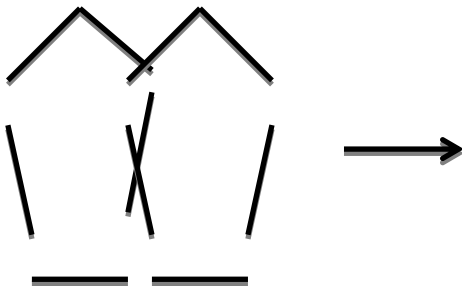
5.4. Escrever uma frase completa: /1

5.5. Ler e executar: /1

FECHE OS OLHOS

6. Praxias: /1

Copiar o diagrama em anexo:



Total: /30

Bateria Breve de Rastreio Cognitivo (Nitrini *et al.*, 1994 - 2004)

Esta bateria que pode ser aplicada em cerca de sete minutos contém os seguintes itens:

- Identificação e Nomeação de 10 figuras
- Memória incidental • Memória Imediata
- Aprendizado
- Fluência verbal (animais)

- Desenho do relógio
- Memória de 5 minutos
- Reconhecimento

Identificação e Nomeação de 10 figuras

Apresente a folha de papel com as figuras desenhadas e pergunte:

- Que figuras são estas?

Nomeação correta (0 a 10) =

Percepção correta (0 a 10) =

Se não for capaz de perceber adequadamente um ou dois itens ou de nomeá-los não corrija. Aceite o nome que o paciente deu e considere-os corretos na avaliação da memória.

Memória incidental

Terminada a nomeação, esconda a folha e pergunte:

-Que figuras eu acabei de lhe mostrar?

O número de itens evocados fornece o escore de Memória Incidental =

Memória Imediata

Ao terminar, entregue novamente a folha ao examinando e diga:

-Olhe bem e procure memorizar estas figuras.

O tempo máximo permitido é de 30 segundos. Novamente, esconda a folha e pergunte: -

-Que figuras eu acabei de lhe mostrar?

O número de itens evocados fornece o escore de Memória Imediata =

Aprendizado

Ao terminar, entregue novamente a folha ao examinando e diga:

- Olhe bem e procure memorizar estas figuras.

O tempo máximo permitido é de 30 segundos. Novamente, esconda a folha e pergunte:

- Que figuras eu acabei de lhe mostrar?

O número de itens evocados fornece o escore do Aprendizado =



Testes de Iniciativa e Planejamento (Interferência)

Dois testes são utilizados para avaliar funções executivas, linguagem e habilidades visuais-contrutivas.

Teste de Fluência Verbal

No teste de fluência verbal solicita-se ao examinando:

-Você deve falar todos os nomes de animais (qualquer bicho) que se lembrar, no menor tempo possível. Pode começar. Anote o número de animais lembrados em 1 minuto:

Desenho do relógio (Sunderland et al., 1989)

Dê uma folha de papel em branco e diga:

-Desenhe um relógio com todos os números. Coloque ponteiros marcando 2h45.

(Guarde o desenho com a ficha).

Avaliação 10-6 Relógio e número estão corretos.

10 - hora certa

9 - leve distúrbio nos ponteiros (p. ex.: ponteiro das horas sobre o 2)

8 - distúrbios mais intensos nos ponteiros (p. ex.: anotando 2:20)

7 - ponteiros completamente errados

6 - uso inapropriado (p. ex.: uso de código digital ou de círculos envolvendo números)

Avaliação: 5-1: desenhos do relógio e dos números incorretos

5 - números em ordem inversa ou concentrados em alguma parte do relógio

4 - números faltando ou situados fora dos limites do relógio

3 - números e relógio não mais conectados. Ausência de ponteiros

2 - alguma evidência de ter entendido as instruções mas com vaga semelhança com um relógio

1 - não tentou ou não conseguiu representar um relógio

Memória tardia (5 minutos)

Ao terminar o desenho, pergunte:

-Que figuras eu lhe mostrei há alguns minutos?

Se necessário, reforce, dizendo figuras desenhadas numa folha de papel plastificada.

O examinando tem até 60 segundos para responder.

O número de itens evocados fornece o escore de Memória tardia =

Reconhecimento

Mostre a folha contendo 20 figuras e diga:

-Aqui estão as figuras que eu lhe mostrei hoje e outras figuras novas. Quero que você me diga quais você já tinha visto há alguns minutos.

Itens inseridos erroneamente devem ser descontados de modo que se lembrar de 8 itens corretos e incluir um item errado, seu escore será 8 (acertos) menos 1 (erro)= 7



Folha de respostas

	MIncidental	MImediata	Aprendizado	M5	Reconh.
Sapato	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Casa	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pente	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Chave	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Avião	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Balde	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tartaruga	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Livro	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Colher	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Árvore	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Corretas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Intrusões	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Atenção:

O escore de memória incidental, imediata, aprendido e de memória de 5 minutos (recordação tardia) é igual ao número de resposta corretas.

Para o Reconhecimento, o escore final é obtido pela subtração: corretas - intrusões.

Reconhecimento:

Como avaliar o desempenho?

Percepção visual e nomeação.

A maioria das pessoas obtêm 10 pontos nas duas tarefas. Mais de um erro é sugestivo de distúrbio de nomeação ou da percepção visual.

Dois tipos de erro podem ser encontrados:

- Erros de percepção que às vezes ocorrem são caracterizados por confundir o avião com um peixe ou o balde com um copo
- Erros de nomeação mais típicos ocorrem quando o paciente faz o gesto de pentear-se ou de utilizar uma chave mas não se lembra do nome

Memória incidental

Não temos levado em conta para o diagnóstico de demência ou de comprometimento cognitivo; é importante para que o indivíduo se esforce para obter o melhor resultado.

Memória imediata

Resultados abaixo de 5 indicam comprometimento da atenção

Aprendizado

Espera-se que um indivíduo normal obtenha pelo menos 7

Memória tardia

Espera-se que um indivíduo normal obtenha pelo menos 6.

Reconhecimento

Indivíduos normais obtêm 10 pontos. Menos do que 9 é certamente anormal.

Fluência verbal (animais)

Indivíduo alfabetizados devem falar 13 ou mais

Analfabetos sem declínio cognitivo devem falar 9 animais ou mais.

Desenho do relógio

Erro frequente é o de colocar o ponteiro menor apontando para o 2.

Erro mais grave é o de colocar o ponteiro maior entre 4 e 5.

Mais grave ainda é não colocar os 12 números na posição correta

Este teste é mais influenciado pela escolaridade

Resumo

Os testes mais importantes para o diagnóstico de demência da doença de Alzheimer ou da doença cerebrovascular são o aprendizado (<7), a memória tardia (<6) e a fluência verbal (<13).

Para outras demências como a demência com corpos de Lewy, o desenho do relógio pode ser muito útil; para as afasias progressivas a nomeação pode se mostrar alterada

8.2 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido 1 (estudo transversal)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: **AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMOSTÁTICOS E INFLAMATÓRIOS EM INDIVÍDUOS COM COMPROMETIMENTO COGNITIVO LEVE E DOENÇA DE ALZHEIMER**

Unidade: Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais

Pesquisadores responsáveis: Prof. Dr. Paulo Caramelli

Prof. Dra. Karina Braga Gomes Borges

Prof. Dra. Lirlândia Pires de Sousa

Doutoranda Carolina Antunes Magalhães

Endereço: Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas

Faculdade de Farmácia da UFMG. Telefone: (31) 3409-6895

Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, Belo Horizonte, MG. CEP: 30.270 - 901

LEIA CUIDADOSAMENTE AS INFORMAÇÕES ABAIXO:

Esse documento tem como finalidade convidá-lo a participar no projeto de pesquisa **“INVESTIGAÇÃO AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMOSTÁTICOS E INFLAMATÓRIOS EM INDIVÍDUOS COM COMPROMETIMENTO COGNITIVO LEVE E DOENÇA DE ALZHEIMER”**.

Esta pesquisa tem como objetivo estudar algumas substâncias que podem estar presentes no sangue e no líquido (“líquido da espinha”) de pacientes com comprometimento de memória ou de outras funções cerebrais relacionadas, tal qual ocorre nas chamadas demências, como a doença de Alzheimer. Estas substâncias podem vir a ser, no futuro, importantes para diagnosticar precocemente estas doenças. Você poderá participar como membro do grupo de pacientes que apresentam comprometimento de memória ou do grupo de indivíduos saudáveis sem comprometimento de memória para comparação com o primeiro.

Em pacientes com doença de Alzheimer ou com outras demências o exame do líquido (“líquido da espinha”) é um método que ajuda no diagnóstico, porque algumas substâncias que se acumulam no cérebro podem ser vistas neste fluido. Assim, não é obrigatório que este exame seja feito, mas a sua realização pode ser importante para a confirmação do diagnóstico e para afastar algumas doenças inflamatórias ou infecciosas que causam demência. Caso o(a) senhor(a) concorde com a realização deste exame, precisamos de sua autorização para que um pequeno volume do líquido seja colhido. O líquido (“líquido da espinha”) será coletado por um médico neurologista com experiência na realização do exame, em uma sala apropriada do ambulatório de Neurologia do Hospital das Clínicas da UFMG. O procedimento não requer anestesia ou o uso de qualquer medicamento antes ou depois. O(a) senhor(a) ficará consciente e sentirá um desconforto semelhante a uma “picada de agulha”. O(a) senhor(a) deverá ficar deitado durante o procedimento e durante o período de observação que será de cerca de uma hora, para evitar o surgimento de dor de cabeça ou tonturas que por vezes podem aparecer após este exame. Se estes sintomas surgirem será garantido atendimento no ambulatório de Neurologia do Hospital das Clínicas da UFMG

por um dos médicos pesquisadores responsáveis ou pelo médico neurologista de plantão no Pronto Atendimento do hospital.

O exame das substâncias presentes no sangue, que faz parte desta pesquisa, consiste em uma coleta de amostra de sangue, para a identificação de algumas proteínas que podem estar presentes na doença de Alzheimer ou em outras demências. Caso o(a) senhor(a) concorde com a realização deste exame, precisamos também de sua autorização para que um pequeno volume do sangue seja colhido. A coleta do sangue será realizada por um médico ou enfermeiro com experiência, em uma sala apropriada do ambulatório de Neurologia do Hospital das Clínicas da UFMG. No momento da coleta o(a) senhor(a) poderá sentir um leve desconforto pela picada da agulha. Apesar de raras, podem surgir algumas complicações como, hematomas, sangramentos ou infecção cutânea.

Cabe ressaltar que caso haja necessidade de nova coleta de qualquer uma das amostras e se esta coleta ocorrer em outro dia que não o da consulta de acompanhamento, garantimos os custos com o deslocamento. Informamos ainda que seu prontuário poderá ser consultado para obtenção de dados clínicos a seu respeito, no decorrer da pesquisa.

Os pesquisadores responsáveis assumem a responsabilidade de assistência integral às complicações ou danos decorrentes dos riscos previstos, bem como de informar aos pacientes caso esta pesquisa demonstre algum avanço que seja importante para o tratamento da doença. Estes exames não são obrigatórios, mas a sua realização pode ser importante para a confirmação do diagnóstico. Se o(a) senhor(a) não quiser participar seu atendimento médico no hospital não será prejudicado e suas consultas continuarão a ser realizadas do mesmo modo. O(a) senhor(a) poderá desistir ou retirar seu consentimento a qualquer momento sem nenhum prejuízo para seu atendimento no ambulatório.

BENEFÍCIOS

O(a) senhor(a) não receberá dinheiro ou outro bem material para participar deste estudo.

DIREITOS LEGAIS

A condição acima “Benefícios” não limita os seus direitos legais.

CONFIDENCIALIDADE DOS DADOS

Conforme a Legislação Brasileira, os seus dados somente poderão ser obtidos pelo senhor(a), pelo seu médico e pela equipe do estudo.

O(A) senhor(a) será identificado através de suas iniciais e de um número para garantir a confidencialidade dos seus dados.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Caso o(a) senhor(a) tenha dúvidas relacionadas ao estudo, contate os pesquisadores responsáveis pelo estudo (Prof. Dra. Karina Braga Gomes Borges ou a doutoranda Carolina Antunes Magalhães) no seguinte telefone: (31) 3409-6895.

Para responder questões relacionadas a essa pesquisa, seus direitos como indivíduo participante e aspectos éticos da pesquisa o(a) senhor(a) poderá entrar em contato com o **Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da UFMG**, Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II – 2º andar, Campus Pampulha, Belo Horizonte, MG – Brasil, CEP: 31270-901, tel: (31) 3409-4592, e-mail: coep@prpq.ufmg.br

FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Declaro que li as informações acima descritas.

Eu tive tempo suficiente para considerar minha decisão, oportunidade de fazer perguntas e todas as minhas questões foram respondidas.

Entendo que posso modificar minha decisão quanto à autorização de uso de meus dados a qualquer momento, devendo avisar ao pesquisador imediatamente da minha decisão.

Recebi uma via assinada deste Termo de Consentimento.

Nome do participante

Assinatura

Data

Caso o participante não tenha condições de compreender as informações contidas acima e estiver acompanhado de um representante legalmente aceito, o representante deverá assinar este Termo de Consentimento autorizando a participação no estudo. Se uma testemunha for necessária para leitura do Termo de Consentimento, esta também deverá assinar ao mesmo.

Nome do Representante Legal

Assinatura do Representante Legal

Data

Assinatura da Testemunha

Data

ACORDO DO INVESTIGADOR

Declaro que todas as informações necessárias para participação foram esclarecidas ao paciente.

O estudo será conduzido conforme diretrizes e legislação vigente para condução de pesquisa clínica no Brasil.

Nome do Investigador que aplicou o Termo

Assinatura do Investigador Responsável pela obtenção Data

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido 2 (estudo longitudinal)**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
PROJETO DE PESQUISA: “AVALIAÇÃO DE POTENCIAIS BIOMARCADORES NA
DOENÇA DE ALZHEIMER”**

Prezado Paciente,

Você está sendo convidado para participar desta pesquisa como voluntário, sem custo algum pelos exames realizados. O objetivo deste projeto é estudar potenciais marcadores em pacientes com déficit cognitivo leve e doença de Alzheimer. Este conhecimento contribuirá para o diagnóstico precoce e tratamento da doença de Alzheimer.

Se você quiser participar, poderá fazê-lo doando 15 mL de seu sangue e a primeira urina da manhã. A coleta de sangue será realizada por um profissional com capacidade técnica e experiência para estancar eventual sangramento. Será utilizado material descartável de boa qualidade, visando o êxito da coleta. Esses cuidados serão tomados porque a coleta de amostras de sangue venoso apresenta baixo risco de acidente de punção, representado principalmente por extravasamento sanguíneo subcutâneo de pequena gravidade que pode resultar em leve dor localizada e formação de pequeno hematoma.

Todos os dados gerados nessa pesquisa serão mantidos em sigilo e apenas a equipe de pesquisadores terá acesso a eles. Cada participante será identificado por um código. Seu nome e os resultados dos exames serão mantidos em segredo. Você poderá ter acesso aos resultados individuais.

Serão armazenadas amostras de DNA extraídas do sangue coletado, por um período de cinco anos, no Banco de Material Biológico do departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia. Essas amostras poderão ser eventualmente utilizadas em futuras análises para avanços científicos no tratamento da doença de Alzheimer.

A sua participação neste estudo é voluntária e sua recusa em participar ou seu desligamento do estudo não envolverá penalidades ou perda de benefícios aos quais você tem direito. Você poderá cessar sua participação a qualquer momento sem afetar seu acompanhamento médico em andamento.

Se no transcorrer da pesquisa você tiver alguma dúvida, ou por qualquer outro motivo necessitar de orientações, poderá procurar um dos pesquisadores: Professora Maria das Graças Carvalho ou Gisele Santos Gonçalves no telefone (31) 3499-6881 da Faculdade de Farmácia da UFMG. Além disso, para outros esclarecimentos, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa - COEP/UFMG, situado à Av. Antonio Carlos 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar, Belo Horizonte – 31270-901, telefone 3499-4592.

Ao assinar esse termo de consentimento você não está abrindo mão de seus direitos legais.

Declaro que concordo em participar como voluntário do projeto de pesquisa “AVALIAÇÃO DE POTENCIAIS BIOMARCADORES NA DOENÇA DE ALZHEIMER” e autorizo a doação

de meu sangue, urina e amostras de DNA que serão armazenadas para eventuais futuras análises sobre a doença de Alzheimer e que recebi cópia do presente Termo de Consentimento.

Belo Horizonte, ____ de _____ de 20__

Nome do paciente: _____ Assinatura
do paciente: _____

Nome do pesquisador: _____
Assinatura do pesquisador: _____

8.3 Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa 1 (estudo transversal)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP**


Projeto: CAAE –09638212.8.0000.5149

**Interessado(a): Prof. Paulo Caramelli
Departamento de Clínica Médica
Faculdade de Medicina - UFMG**

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 29 de janeiro de 2013, o projeto de pesquisa intitulado **"Investigação de biomarcadores diagnósticos em pacientes com comprometimento cognitivo leve e doença de Alzheimer"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.



**Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG**

Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa 2 (estudo longitudinal)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Parecer nº. ETIC 0118.0.203.000-10

Interessado(a): Profa. Maria das Graças Carvalho
Departamento Análises Clínicas e Toxicológicas
Faculdade de Farmácia - UFMG

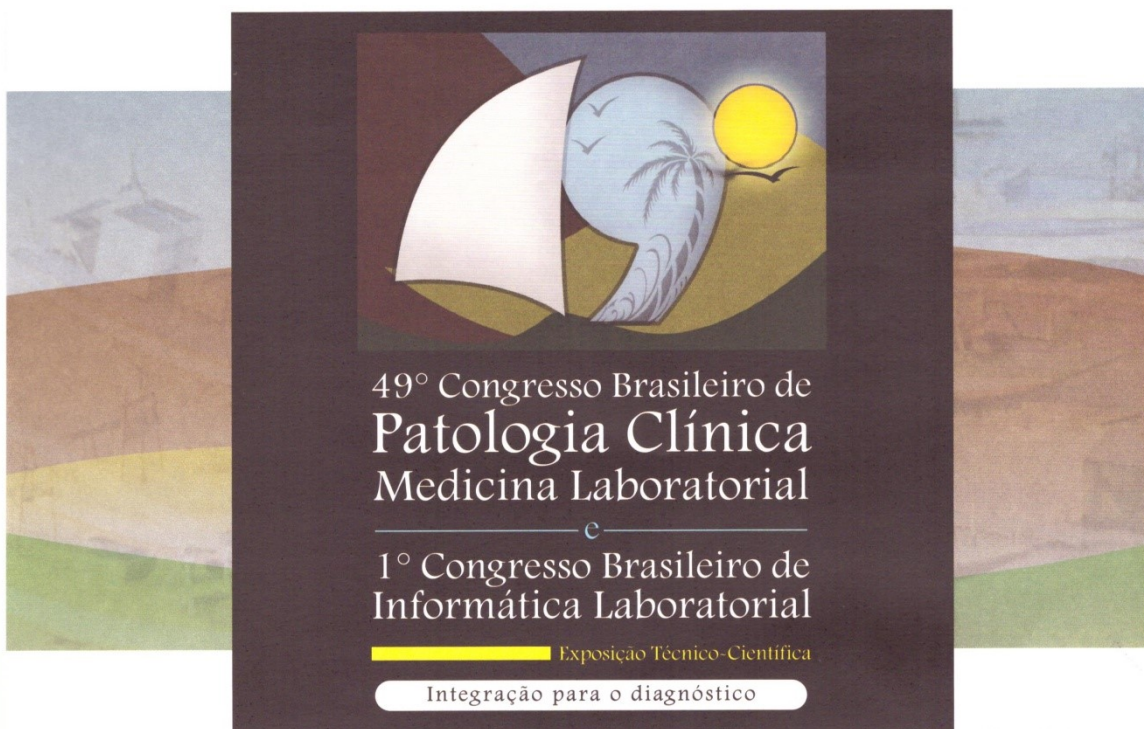
DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 22 de junho de 2010, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado **"Avaliação de potenciais biomarcadores da Doença de Alzheimer"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

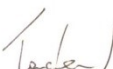
O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

Prof. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

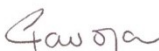
8.4 Certificados

*certificado de participação***ANA CAROLINA RODRIGUES DE OLIVEIRA**

participou
do 49º Congresso Brasileiro de Patologia Clínica Medicina Laboratorial
na qualidade de Congressista
Carga Horária: 28 horas


Tadeu Sobreira
Presidente do 49º Congresso Brasileiro de
Patologia Clínica/Medicina Laboratorial


César Alex de Oliveira Galoro
Coordenador da Comissão Científica do 49º Congresso
Brasileiro de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial


Paula Távora
Presidente da Sociedade Brasileira de Patologia
Clínica/Medicina Laboratorial - Biênio 2014/2015

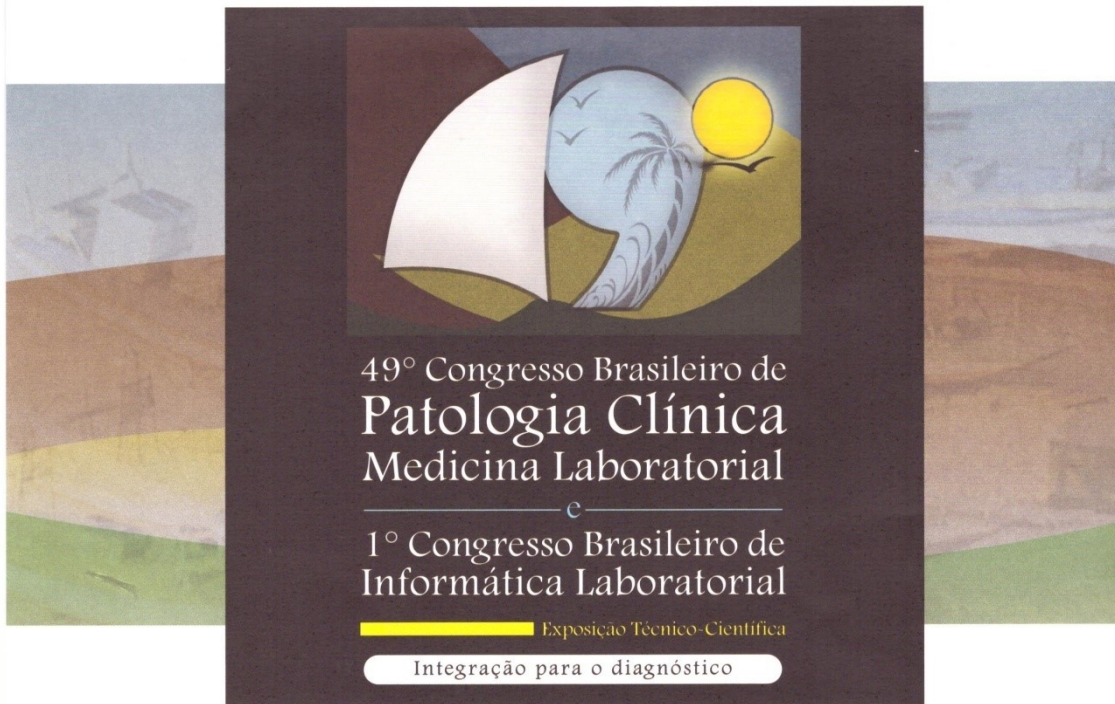
29 de setembro a 2 de outubro de 2015
Fortaleza - CE - centro de Eventos do Ceará

Realização



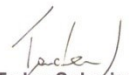
certificado de participação

ANA CAROLINA RODRIGUES DE OLIVEIRA

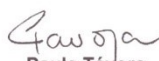


participou

na qualidade de autor responsável do tema livre "**APLICAÇÃO DE BIOMARCADORES DO LÍQUOR NO DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DA DOENÇA DE ALZHEIMER**", tendo como co-autores "MAGALHAES, C. A., FRAGA, V. G., CARAMELLI, P., BORGES, K. B. G.".


Tadeu Sobreira
Presidente do 49º Congresso Brasileiro de
Patologia Clínica/Medicina Laboratorial


César Alex de Oliveira Galoro
Coordenador da Comissão Científica do 49º Congresso
Brasileiro de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial


Paula Távora
Presidente da Sociedade Brasileira de Patologia
Clínica/Medicina Laboratorial - Biênio 2014/2015

29 de setembro a 2 de outubro de 2015
Fortaleza - CE - centro de Eventos do Ceará

Realização



Certificado

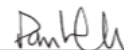
Certificamos que

ANA CAROLINA RODRIGUES DE OLIVEIRA

participou da atividade "Curso Pré-Congresso - Neurologia Cognitiva", durante o evento "XXVII Congresso Brasileiro de Neurologia", realizado de 27 a 31 de agosto de 2016 no Expominas em Belo Horizonte/MG.
Belo Horizonte, 31 de agosto de 2016




XXVII Congresso Brasileiro de
NEUROLOGIA
27 a 31 de agosto de 2016
Expominas | Belo Horizonte | MG



Paulo Caramelli
Presidente do XXVII Congresso
Brasileiro de Neurologia - 2016



Francisco Cardoso
Secretário e Coordenador Científico do
XXVII Congresso Brasileiro de Neurologia - 2016



Rosamaria Peixoto Guimarães
Tesoureira do XXVII Congresso
Brasileiro de Neurologia - 2016



Certificado

Certificamos que

ANA CAROLINA RODRIGUES DE OLIVEIRA

participou do evento "XXVII Congresso Brasileiro de Neurologia", realizado de 27 a 31 de agosto de 2016, no Expominas em Belo Horizonte/MG.

Carga Horária: 38h

Belo Horizonte, 31 de agosto de 2016.




XXVII Congresso Brasileiro de
NEUROLOGIA
27 a 31 de agosto de 2016
Expominas | Belo Horizonte | MG



Paulo Caramelli
Presidente do XXVII Congresso
Brasileiro de Neurologia - 2016



Francisco Cardoso
Secretário e Coordenador Científico do
XXVII Congresso Brasileiro de Neurologia - 2016



Rosamaria Peixoto Guimarães
Tesoureira do XXVII Congresso
Brasileiro de Neurologia - 2016





50° Congresso Brasileiro de
Patologia Clínica
Medicina Laboratorial

2° Congresso Brasileiro de
Informática Laboratorial

23° Congresso da **ALAPAC/ML**

SBPC/ML & IFCC

Joint Symposium 2016

The Best of AACC 2016

Centro de Convenções SulAmérica Rio de Janeiro RJ

27 a 30 de setembro de 2016

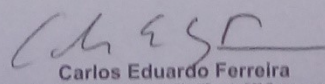
certificado de participação

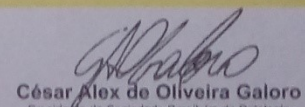
ANA CAROLINA RODRIGUES DE OLIVEIRA

participou

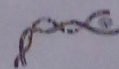
**do 50° Congresso Brasileiro de Patologia Clínica Medicina Laboratorial
na qualidade de Congressista
Carga Horária: 28 horas**

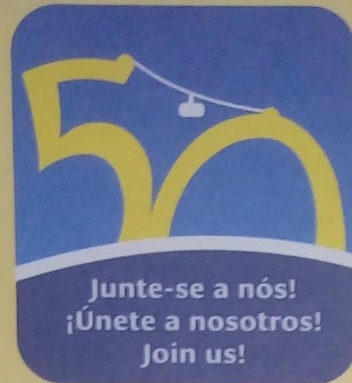

Armando Fonseca
Presidente do 50° Congresso Brasileiro de
Patologia Clínica/Medicina Laboratorial


Carlos Eduardo Ferrelra
Coordenador da Comissão Científica do 50° Congresso
Brasileiro de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial


César Alex de Oliveira Galero
Presidente da Sociedade Brasileira de Patologia
Clínica/Medicina Laboratorial - Biênio 2016/2017

Realização





50º Congresso Brasileiro de
Patologia Clínica
Medicina Laboratorial

2º Congresso Brasileiro de
Informática Laboratorial

23º Congresso da ALAPAC/ML

SBPC/ML & IFCC

Joint Symposium 2016

The Best of AACC 2016

Centro de Convenções SulAmérica Rio de Janeiro RJ


27 a 30 de setembro de 2016

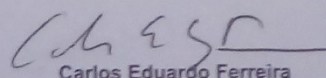
certificado de participação

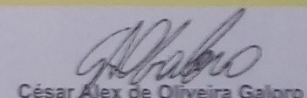
ANA CAROLINA R. DE OLIVEIRA

participou

na qualidade de autor responsável do tema livre "OS NÍVEIS DE VITAMINA D NÃO ESTÃO ASSOCIADOS COM O COMPROMETIMENTO DA COGNIÇÃO EM IDOSOS", tendo como co-autores "BORGES, K. B. G., SILVA, I. F. O., CARVALHO, M. D. G., FRAGA, V. G.".


Armando Fonseca
Presidente do 50º Congresso Brasileiro de
Patologia Clínica/Medicina Laboratorial


Carlos Eduardo Ferreira
Coordenador da Comissão Científica do 50º Congresso
Brasileiro de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial


César Alex de Oliveira Galvão
Presidente da Sociedade Brasileira de Patologia
Clínica/Medicina Laboratorial - Biênio 2016/2017

Realização





**Semana
Conhecimento** | UFMG
2016
Cultivar Vidas: Ciência e Sociedade



CERTIFICADO

CERTIFICAMOS QUE O TRABALHO INTITULADO "AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS METABÓLICOS EM INDIVÍDUOS COM DEMÊNCIA COMPARADOS A UM GRUPO CONTROLE COGNITIVAMENTE SAUDÁVEL", FOI APRESENTADO NA XXV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, PROMOVIDA PELA PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, NO PERÍODO DE 17-10-2016 A 21-10-2016.

AUTOR(A): AMANDA CAROLINE SILVA CHAVES
ORIENTADOR(A): KARINA BRAGA GOMES BORGES DO(A) FACULDADE DE FARMÁCIA.
CO-AUTORES: AMANDA CAROLINE SILVA CHAVES, CAROLINA ANTUNES MAGALHÃES, CRISTINA DE MELLO GOMIDE LOURES, VANESSA GOMES, ANA CAROLINA RODRIGUES, PAULO CARAMELLI, MARIA DAS GRAÇAS CARVALHO, KARINA BRAGA GOMES BORGES

Mônica Maria Diniz Leão
MÔNICA MARIA DINIZ LEÃO
PRÓ-REITORA ADJUNTA DE PESQUISA



realização **UFMG**



HEMO[®]
CONGRESSO
BRASILEIRO
de HEMATOLOGIA,
HEMOTERAPIA
e TERAPIA CELULAR

10 a 13/novembro/2016 - Florianópolis/SC/Brasil

CERTIFICADO 2016

Certificamos que o trabalho intitulado "AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE PLAQUETÁRIA EM PACIENTES COM DOENÇA DE ALZHEIMER" de autoria de "Loures CMG, Magalhães CA, Fraga VG, Rodrigues AC, Cintra MTG, Souza LC, Bicalho MAC, Caramelli P, Borges KBG, Carvalho MDG" foi apresentado no Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular – HEMO 2016, realizado no período de 10 a 13 de novembro de 2016, no CentroSul Centro de Convenções de Florianópolis/SC, na categoria painel com visita guiada (Painel 494).

Florianópolis, 12 de novembro de 2016.


DIMAS TADEU COVAS
PRESIDENTE DA ABHH

ABHH[®]
Associação Brasileira
de Hematologia, Hemoterapia
e Terapia Celular


HÉLIO MORAES DE SOUZA
PRESIDENTE DO HEMO 2016