



Universidade Federal de Minas Gerais  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Molecular

**Avaliação dos níveis plasmáticos da proteína Klotho em  
idosos com transtorno depressivo maior e sua relação  
com comprometimento cognitivo**

Mariana de Souza Nicolau  
Belo Horizonte  
2017

Mariana de Souza Nicolau

**Avaliação dos níveis plasmáticos da proteína Klotho em idosos com transtorno depressivo maior e sua relação com comprometimento cognitivo**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Molecular da Universidade Federal de Minas Gerais, como pré-requisito para a obtenção do título de Mestre em Medicina Molecular.

Orientador: Dr. Breno Satler de Oliveira Diniz  
Co-orientadora: Dra. Érica Leandro Marciano Vieira

Universidade Federal de Minas Gerais  
Faculdade de Medicina  
Belo Horizonte  
2017

Nicolau, Mariana de Souza.  
N639a Avaliação dos níveis plasmáticos da proteína Klotho em idosos com transtorno depressivo maior e sua relação com comprometimento cognitivo [manuscrito]. / Mariana de Souza Nicolau. - - Belo Horizonte: 2017.  
58f.: il.  
Orientador (a): Breno Satler de Oliveira Diniz.  
Coorientador (a): Érica Leandro Marciano Vieira.  
Área de concentração: Medicina Nuclear.  
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Proteínas. 2. Transtorno Depressivo Maior. 3. Disfunção Cognitiva. 4. Dissertações Acadêmicas. I. Diniz, Breno Satler de Oliveira. II. Vieira, Érica Leandro Marciano. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WM 171.5

# **Universidade Federal de Minas Gerais**

## **Autoridades**

### **Reitor:**

Prof. Jaime Arturo Ramírez

### **Vice-Reitora:**

Profª. Sandra Goulart Almeida

### **Pró-Reitora de Pós-Graduação:**

Profª. Denise Maria Trombert de Oliveira

### **Pró-Reitor de Pesquisa:**

Prof. Ado Jório

### **Diretor da Faculdade de Medicina:**

Prof. Tarcizo Afonso Nunes

### **Vice-Diretor da Faculdade de Medicina:**

Prof. Humberto José Alves

### **Coordenador do Centro de Pós-Graduação:**

Prof. Luiz Armando Cunha De Marco

### **Subcoordenador do Centro de Pós-Graduação:**

Prof. Edson Samesima Tatsuo

## **Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Molecular**

### **Coordenador**

Prof. Luiz Armando Cunha de Marco

### **Subcoordenadora**

Profª Carolina Cavalieri Gomes

### **Membros**

Prof. Andy Petroianu

Profª Ana Cristina Simões e Silva

Prof. Humberto Correa da Silva

Belo Horizonte

2017

Aos meus pais, meus irmãos e meu marido.

Aos pacientes e a ciência.

"No meio de um inverno, eu finalmente aprendi que havia dentro de mim um verão invencível" - Albert Camus

## **Agradecimentos**

Minha gratidão ao professor Breno pela oportunidade de vivenciar a pesquisa e trabalhar com um grupo de pessoas extraordinárias sob sua orientação.

Agradeço imensamente a minha co-orientadora, Dr<sup>a</sup> Érica por me acolher, pela atenção e pelo crescimento e aprendizado que me proporcionou ao longo desse percurso.

Gratidão eterna aos meus pais, Sérgio e Cinthia, por todos os sacrifícios desde o primeiro momento da minha vida e ao longo de todas as minhas escolhas. Minhas vitórias são suas também!

Agradeço carinhosamente ao meu marido, Romulo, pelo apoio, amor e compreensão em todos os momentos desta caminhada. Pelas risadas, pelo interesse no meu trabalho e por acreditar em mim.

Ao meu irmão, Eduardo, pela paciência em me ensinar um pouco mais sobre o universo da biologia molecular e a minha irmã e melhor amiga, Juliana, pela amizade e pelo companheirismo de sempre.

À Laylinha pelas madrugadas no computador, sem sair do meu lado.

À minha grande amiga e parceira na psicologia clínica Jéssiquinha, sempre solícita.

Aos colegas do LINC, Lucélia, Natália, Efrem, Ana Paula, Júlia, Lilian, Kelly, Jéssica, Mônica, Eduardo, Gesiane, Camila e Maíssa pela parceria neste trabalho, pelo aprendizado compartilhado, apoio e amizade.

Aos professores e colegas do LIIM, em especial ao Luciano, pela participação valiosa neste trabalho.

## Sumário

Lista de Tabelas.....	viii
Lista de Figuras.....	ix
Resumo.....	x
Abstract.....	xi
1. Introdução.....	12
1.1. Envelhecimento.....	12
1.2. A Depressão Geriátrica.....	13
1.2.1. Episódio Depressivo Único e Episódio Depressivo Recorrente .....	13
1.2.2. Transtorno Depressivo Maior de Início Precoce e Transtorno Depressivo Maior de Início Tardio.....	14
1.3. Comprometimento Cognitivo Leve.....	14
1.3.1. Os Domínios Cognitivos.....	15
1.3.2. Os Subtipos do Comprometimento Cognitivo Leve.....	17
1.4. Comprometimento Cognitivo Leve e Depressão Geriátrica .....	18
1.5. Klotho.....	19
1.6. Klotho e Envelhecimento.....	20
1.6.1. Klotho e Comprometimento Cognitivo.....	21
1.6.2. Klotho e Depressão.....	22
2. Objetivos.....	24
2.1. Objetivo Geral .....	24
2.2. Objetivos Específicos.....	24
3. Materiais e Métodos .....	25
3.1. Aspectos Éticos.....	25
3.2. Delineamento do Estudo .....	25
3.1. Critérios de Inclusão .....	25
3.2. Critérios de Exclusão .....	25
3.3. Recrutamento e Seleção dos Pacientes .....	25
3.4. Avaliação Psiquiátrica, Clínica e Neuropsicológica.....	27
3.4.1. Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI-Plus) .....	27
3.4.2. Hamilton Depression Rating Scale – 21 items (HDRS-21).....	28
3.4.3. MATTIS Dementia Rating Scale (MDRS).....	28
3.4.4. Frontal Assessment Battery (FAB) .....	29
3.4.5. The Rey Auditory-Verbal Learning Test (RAVLT) .....	29

3.4.6. The Verbal Fluency Test (FV) .....	30
3.5. Coleta de Material Biológico.....	31
3.6. Análise da Klotho .....	32
3.7. Análise Estatística.....	33
3.8. Caracterização Sócio-Demográfica da Amostra .....	34
4. Resultados.....	36
5. Discussão .....	42
6. Conclusão.....	47
7. Perspectiva .....	48
8. Referências .....	49
Anexos .....	56
8.1. Anexo A - Aprovação no Comitê de Ética - Plataforma Brasil.....	56
8.2. Anexo B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	57
8.3. Anexo C – Folha de Aprovação .....	59

## **Lista de Tabelas**

<b>Tabela 1-</b> Caracterização sócio-demográfica de idosos controles, idosos com TDM e idosos com TDM associada a CCL. ....	35
<b>Tabela 2-</b> Caracterização do subtipo do TDM e Início do primeiro episódio depressivo.....	36
<b>Tabela 3-</b> Caracterização da gravidade de sintomas depressivos dos grupos TDM e TDM com CCL.....	37
<b>Tabela 4-</b> Resultados dos instrumentos utilizados para avaliação neuropsicológica dos três grupos: controle, TDM e TDM associada a CCL. ....	37

## Lista de Figuras

- Figura 1-** Processamento da proteína Klotho transmembrana e secretada. .... 20
- Figura 2-** Fluxograma de recrutamento e participação dos idosos no estudo. Pacientes recrutados no ambulatório de psicogeriatria do Hospital das Clínicas – UFMG no período entre março de 2013 a novembro de 2015. .... 27
- Figura 3-** Avaliação da produção plasmática da proteína Klotho em idosos controles (N=17), idosos com TDM (N=15) e idosos com TDM associado ao CCL (N=18). TDM = grupo com Transtorno Depressivo Maior, TDM+CCL = Transtorno Depressivo Maior associado ao CCL. .... 38
- Figura 4-** Avaliação da produção plasmática da proteína Klotho em idosos controles (N=17), idosos com TDM recorrente (N=7) e TDM de episódio único (N=8) e idosos com TDM recorrente associada a CCL (N=14) e TDM de episódio único associada a CCL (N=4). .... 39
- Figura 5-** Avaliação da produção plasmática da proteína Klotho em idosos controles (N=17), idosos com TDM de início precoce (N=8), idosos com TDM de início tardio (N=5), idosos com TDM de início precoce e presença de CCL (N=10) e idosos com TDM de início tardio com presença de CCL (N=8). .... 40
- Figura 6-** FAB:Frontal Assessment Battery. RAVLT:Rey Auditory-Verbal Learning Test. MATTIS Total:Mattis Dementia Rating Scale. FV: Teste de Fluência Verbal - animais. Análise de correlação entre instrumentos de avaliação neuropsicológicos e a produção plasmática da Klotho em relação aos grupos de idosos com TDM e TDM associado ao CCL. .... 41

## Resumo

Dentre os transtornos mentais, o transtorno depressivo maior (TDM) é uma das mais comuns entre idosos. Sabe-se que muitas condições médicas estão relacionadas ou são intensificadas pelo TDM, impactando na qualidade de vida do idoso. Estudos recentes mostram que níveis baixos da proteína Klotho, estão associados a doenças relacionadas ao envelhecimento, porém pouco é conhecido sobre sua relação com a depressão geriátrica. Desta forma, decidimos investigar a relação da proteína Klotho com o TDM em idosos, associado ou não ao comprometimento cognitivo leve (CCL). A hipótese desse estudo é que o nível plasmático da proteína Klotho é significativamente reduzido em idosos com TDM, e ainda menor nos idosos com TDM associado ao CCL (TDM+CCL). Participaram desse estudo 50 idosos recrutados do ambulatório de psicogeriatría do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais com idades entre 60 e 86 anos ( $p=0,392$ ) e escolaridade entre 3 e 12 anos ( $p=0,069$ ), sendo 17 controles, 15 idosos com TDM e 18 idosos com TDM+CCL. A avaliação plasmática dos níveis de Klotho foi realizada por meio do ensaio imunoenzimático (ELISA) sanduíche. Os resultados mostraram que os níveis plasmáticos da Klotho são significativamente mais baixos em idosos com TDM+CCL quando comparado aos idosos com TDM ( $p=0,0344$ ) e idosos controles ( $p=0,0418$ ). Considerando o subtipo de episódio depressivo, o grupo TDM de episódio único apresentou níveis estatisticamente ( $p=0,466$ ) mais altos da Klotho quando comparado ao grupo controle. Ainda estratificamos os grupos TDM e TDM+CCL em relação ao início do primeiro episódio depressivo. O grupo TDM+CCL de início tardio apresentou níveis significativamente mais baixos em relação ao grupo controle ( $p=0,0083$ ) e em relação ao grupo TDM de início tardio ( $p=0,0175$ ). O grupo TDM de início tardio apresentou níveis significativamente mais altos em relação aos grupos TDM de início precoce ( $p=0,0239$ ) e em relação ao grupo controle ( $p=0,0083$ ). Finalmente, encontramos correlações positivas agrupando os grupos de idosos com TDM e TDM+CCL em relação aos níveis plasmáticos da Klotho com instrumentos de avaliação neuropsicológica. Nossos resultados mostram, pela primeira vez, que os níveis plasmáticos da Klotho estão reduzidos em idosos com TDM+CCL em relação aos idosos controles e idosos com TDM, especialmente naqueles idosos que apresentam TDM+CCL de início tardio. Os dados encontrados neste estudo mostram que a Klotho esta alterada em idosos com TDM de episódio único e que quando reduzido é um possível biomarcador em idosos com TDM+CCL.

## Abstract

Major depressive disorder (MDD) is one of the most common psychiatric diseases among the elderly. It is well-known that a number of clinical disorders are related to or intensified by MDD, which impacts their quality of life. Studies have shown that lower levels of Klotho are associated to age-related diseases, however little is known about its relation to MDD. For this reason, we decided to investigate the relation of Klotho protein with MDD in elderly people with and without mild cognitive impairment (MCI). Our hypothesis is that plasmatic Klotho protein levels are significantly reduced in elderly people with MDD and even lower in elderly people with MDD associated with MCI. In the present study we assessed 50 older adults from a psychogeriatrics outpatient service in *Hospital das Clínicas – Universidade Federal de Minas Gerais* with ages between 60 and 86 ( $p=0.392$ ) and 3 to 12 years of educational attainment ( $p=0.069$ ), of these 17 were controls, 15 patients with MDD and 18 patients with MDD associated with MCI+MCI. Klotho plasmatic levels were measured by Immunoenzymatic assay (ELISA) sandwich. Our results show that Klotho levels are statistically lower in patients with MDD+MCI when compared to patients with MDD ( $p=0.0344$ ) and controls ( $p=0.0418$ ). Considering depressive episode subtype, the single episode TDM group presented statistically higher Klotho levels than the control group ( $p=0.0466$ ). We also investigated whether depression onset would influence Klotho levels. The late onset MDD+MCI presented statistically lower Klotho levels in relation to the control group ( $p=0.0083$ ) and in relation to the late onset MDD group ( $p=0.0175$ ). The late onset TDM group presented significantly higher levels of Klotho when compared to the early onset MDD group ( $p=0.0239$ ) and the control group ( $p=0.0083$ ). Finally, we conducted correlation analyses and found that the MDD group and MDD+MCI group when analyzed together correlate with the tests used in the neuropsychological assessment. Our results show, for the first time, that plasma Klotho levels are lower in elderly people with MDD+MCI when compared to elderly people with MDD, especially regarding those with late onset MDD+MCI. Our findings show that Klotho is altered in single episode MDD in the elderly and when presenting lower levels, it may be a possible biomarker of MDD+MCI in the elderly.

## 1. Introdução

### 1.1. Envelhecimento

O envelhecimento populacional é uma consequência de diversos fatores, entre eles, o desenvolvimento econômico e social, uma vez que, o indivíduo é legalmente considerado idoso quando ultrapassa a idade de 65 em países desenvolvidos e 60 em países em desenvolvimento (WHO, 2016). O curso do envelhecimento humano depende do nível de desenvolvimento biológico e psicológico atingido pelo indivíduo ao longo da vida. Além disso, é necessário considerar os recursos sociais, econômicos, e tecnológicos, como também acesso a tratamentos de saúde e a influência da genética (Malloy-Diniz *et al.*, 2013).

Atualmente, no Brasil, os idosos representam 8,17% da população brasileira. Em 2030 estima-se que 13,44% da população serão de idosos, com uma expectativa de vida mais prolongada (IBGE, 2016). Com a diminuição da taxa de fertilidade, é esperado que entre os anos de 2015 e 2050 o número de idosos cresça de 12% para 20%. Até 2020 o número de idosos será maior do que o número de crianças com menos de cinco anos de idade. Segundo estatísticas, o Brasil terá apenas um pouco mais de 20 anos para se adaptar a essa mudança de distribuição da população (WHO, 2015).

Cerca de 20% dos idosos sofrem de algum transtorno mental ou neurológico, desses 6,6% possuem alguma incapacidade decorrente do transtorno (WHO, 2016 & Boff *et al.*, 2015). Dentre os transtornos mentais, o transtorno depressivo maior (TDM) é uma das mais comuns entre idosos (Byers *et al.*, 2010 & WHO, 2016). Sabe-se que o TDM tem grande impacto na qualidade de vida dos idosos, pois um grande número de condições médicas está relacionado ou é intensificado por ele (Reynolds *et al.*, 1999; Blay, *et al.*, 2007 & Koenig *et al.*, 1992). Esse dado é preocupante, uma vez que, frequentemente, a interação entre a depressão geriátrica e a presença de outras condições médicas implica em um pior prognóstico no tratamento do quadro clínico e do quadro psiquiátrico (Blay *et al.*, 2011).

## **1.2. A Depressão Geriátrica**

O TDM no idoso é caracterizado pela presença de humor deprimido e perda de interesse ou prazer em atividades diárias (conhecido com anedonia) (Vaccaro *et al.*, 2017). Idosos deprimidos apresentam quadros clínicos heterogêneos em que podem estar presentes sentimento de culpa ou inutilidade, pensamentos suicidas associados a queixas somáticas, como alteração do sono, perda ou ganho de peso significativo, fadiga e queixas cognitivas, como dificuldade de pensar, concentrar e tomar decisões (Sorocco *et al.*, 2011).

Os fatores desencadeadores do TDM nos idosos estão intimamente ligados às perdas associadas ao envelhecimento: viuvez, institucionalização, aposentadoria, perda de contatos sociais e perda de funcionalidade. Além disso, a depressão geriátrica está associada ao maior uso de serviços de saúde, doenças crônicas, residir sozinho, falta de exercício físico regular, entre outros (Djernes, J. K., 2006; Reynolds *et al.*, 1999 & Blay *et al.*, 2007). No entanto, sabemos que grande parte dos idosos enfrentam essas perdas e, ainda assim, apenas alguns evoluem para o desenvolvimento do TDM. Além das perdas citadas, há outros fatores que contribuem para o desenvolvimento do TDM no idoso, que poderiam explicar esse fato. É sugerido que o TDM no idoso possa ser entendido como uma interação entre eventos estressantes, vulnerabilidades, fatores genéticos, declínio cognitivo e mudanças neurobiológicas relacionadas à velhice (Fiske *et al.*, 2009).

Há ainda uma grande preocupação em torno da alta probabilidade de recorrência do transtorno em idosos, sendo de extrema importância desenvolver não somente tratamentos de recuperação como também de prevenção do transtorno. Deste modo, compreender características clínicas do TDM é de extrema relevância. Em seguida, apresentamos os aspectos clínicos mais relevantes dessa transtorno na população idosa.

### **1.2.1. Episódio Depressivo Único e Episódio Depressivo Recorrente**

O TDM no idoso pode ser classificado como TDM de episódio único, quando não há relato de episódios prévios, ou TDM recorrente, o mais frequente, quando há relato de mais de um episódio depressivo ao longo da vida (Reynolds *et al.*, 2006). O TDM do tipo recorrente já foi associado a maiores riscos de desenvolvimento de

demência (Dotson *et al.*, 2010) e perda de volume hipocampal devido ao estresse associado a múltiplos episódios depressivos (Butters *et al.*, 2008). Além disso, a depressão no idoso pode ser caracterizada pela idade de ocorrência do primeiro episódio depressivo (Fiske *et al.*, 2009 & Brodaty *et al.*, 1991).

### **1.2.2. Transtorno Depressivo Maior de Início Precoce e Transtorno Depressivo Maior de Início Tardio**

O TDM de início precoce ocorre quando o idoso tem seu primeiro episódio depressivo antes dos 60 anos de idade. Já no TDM de início tardio, o primeiro episódio ocorre após os 60 anos de idade (Fiske *et al.*, 2009 & Brodaty *et al.*, 1991). Acredita-se que o TDM de início precoce apresenta diferentes fatores relacionados ao seu desenvolvimento. Sabe-se que pacientes com TDM de início precoce apresentam taxas maiores de histórico familiar de TDM (Brodaty *et al.*, 2001). Além disso, há evidências de diferenças estruturais no cérebro. Ballmaier e colaboradores (2008) verificaram alterações morfológicas significativas no hipocampo de idosos com TDM e, ainda, encontram uma diferença anatômica entre os grupos TDM de início precoce e TDM de início tardio. Os idosos com TDM de início tardio apresentaram menor volume na cabeça do hipocampo (Ballmaier *et al.*, 2008). Butters e colaboradores (2008) também evidenciaram a atrofia do hipocampo em idosos com TDM, e aqueles com TDM de início tardio apresentaram volumes ainda menores (Butters *et al.*, 2008). Alguns estudos mostram que idosos com TDM de início tardio possuem mais fatores de risco vascular e maior tendência a apresentar déficits cognitivos concomitantes (Fiske *et al.*, 2009 & Ballmaier *et al.*, 2008). Diante do exposto, compreender como transtornos mentais podem desencadear ou até mesmo intensificar quadros neurológicos, é de fundamental importância, em especial para a população de idosos.

### **1.3. Comprometimento Cognitivo Leve**

O TDM no idoso é associado a maiores taxas de comorbidades clínicas e mortalidade. Além disso, uma das associações mais importantes talvez seja o comprometimento cognitivo leve (CCL). O termo CCL foi primeiramente apresentado no final dos anos 80 por Reisberg e colaboradores (1988) e é definido como um

prejuízo cognitivo de estágio intermediário, que nem sempre, porém muitas vezes, representa a fase de transição entre as alterações cognitivas normais relativas à idade e à instalação da demência (Reisberg *et al.*, 1988). Com o aparecimento de novas evidências, surgiram reformulações do conceito de CCL ao longo dos anos. Pesquisadores da clínica Mayo propuseram que, para o diagnóstico de CCL, seria necessário o comprometimento da memória, contudo o funcionamento cognitivo global do indivíduo deveria estar preservado, assim como sua capacidade de realizar tarefas de vida diária (Petersen *et al.*, 1999). O subtipo de comprometimento cognitivo que levaria à Doença de Alzheimer (DA) teria como principal prejuízo a memória, associada ou não a outros domínios cognitivos. Deste modo, o comprometimento de outros domínios, sem a presença de prejuízo na memória, não seria suficiente para evoluir para DA (Petersen *et al.*, 2014). Foi necessário então ampliar o conceito de CCL que anteriormente havia focado principalmente no prejuízo de memória (Winblad *et al.*, 2004). Os critérios utilizados atualmente para definição de CCL foram propostos pelo *National Institute on Aging-Alzheimer's Association* e inclui como caracterização do transtorno: queixa cognitiva, comprometimento cognitivo objetivo, autonomia das habilidades funcionais e ausência de demência (Albert *et al.*, 2011).

Segundo Petersen e colaboradores (2014), não há uma bateria de testes neuropsicológicos considerada padrão ouro para avaliar a presença de CCL, porém é necessário que as principais áreas cognitivas sejam avaliadas. São elas: funções executivas, atenção, linguagem, memória e habilidades visuoespaciais. No CCL, o comprometimento de um domínio cognitivo é suficiente para caracterizar o diagnóstico (Malloy-Diniz *et al.*, 2013).

### **1.3.1. Os Domínios Cognitivos**

As funções executivas referem-se aos processos mentais que requerem concentração e atenção. Há três núcleos principais que constituem as funções executivas, são eles: controle inibitório, memória de trabalho e flexibilidade cognitiva. A capacidade de raciocínio, solução de problemas e planejamento surgem a partir desses três núcleos (Diamond, 2013). O controle inibitório refere-se à capacidade de inibir uma resposta que o indivíduo possui uma tendência a emitir e inibir estímulos que interrompem o fluxo de uma resposta. Ele é geralmente

associado à impulsividade. A memória de trabalho ou memória operacional consiste de um sistema temporário de registro de informações que permite a monitoração e manipulação desses dados. Diariamente é utilizada em tarefas como resolução mental de contas matemáticas ou, por exemplo, o armazenamento temporário de um número de telefone para a realização da ligação logo em seguida. Já a flexibilidade cognitiva possui uma função adaptativa às exigências do ambiente. Ela torna o indivíduo capaz de emitir uma nova resposta, alterando o fluxo de ações/pensamentos (Fuentes *et al.*, 2014).

As funções executivas são de grande importância para avaliar estratégias e traçar planos a fim de alcançar metas (Fuentes *et al.*, 2014). Portanto, podemos concluir que elas consistem de múltiplos processos que, em parte, fazem uso umas das outras para realizarem suas diversas funções. O desenvolvimento das funções executivas tem início no primeiro ano de vida (Diamond, 2013) e termina sua maturação no final da adolescência. Na idade adulta, elas se tornam relativamente estáveis e começam a declinar de forma natural como resultado do envelhecimento (Fuentes *et al.*, 2014).

A atenção é um domínio cognitivo fundamental para a realização da maior parte das atividades diárias. Consiste, de forma simplificada, em seleção (de um objeto), esforço mental e engajamento intencional. A desatenção pode aparecer na forma de esquecimentos, distração, desorganização, falta de concentração, perda de objetos, e falta de atenção aos detalhes. Os sintomas citados não podem ser resultado de falta de compreensão ou comportamentopositor (Fuentes *et al.*, 2014).

A linguagem é um domínio cognitivo associado a comunicação e socialização do ser humano. Ela envolve vários níveis como, por exemplo, semântico (a interpretação de uma palavra, figura ou ideia), e fonológico (os sons da fala), entre outros. Os distúrbios de linguagem como a afasia (a perda ou deficiência da produção e compreensão da linguagem, provocada por um dano cerebral), podem gerar inúmeros prejuízos ao indivíduo no âmbito laboral e social (Fuentes *et al.*, 2014).

A memória é um dos domínios cognitivos mais estudados, provavelmente devido à complexidade de seus mecanismos. Compreende a capacidade de captar, reter e resgatar informações ao mesmo tempo em que utiliza experiências prévias, de curto prazo e de longo prazo para a tomada de decisões. Na Doença de Alzheimer 95% dos pacientes apresentam prejuízo amnésico, caracterizada pelo déficit progressivo

da memória anterógrada, que se refere à memória utilizada no armazenamento de novas informações (Fuentes *et al.*, 2014).

As habilidades visuoespaciais consistem em adquirir, armazenar e utilizar dados espaciais visualmente percebidas. Compreende um elemento sensorial, relacionado à habilidade de captar informações visuais, e um elemento perceptivo, que se refere à interpretação dessas informações (Malloy-Diniz *et al.*, 2013).

### **1.3.2. Os Subtipos do Comprometimento Cognitivo Leve**

Os subtipos de CCL podem ser classificados como sendo de duas categorias diferentes: CCL amnésico, em que há comprometimento da memória episódica, e CCL não-amnésica, em que não há comprometimento de memória episódica, porém o indivíduo deve apresentar um desempenho abaixo do esperado nos outros domínios, como funções executivas, linguagem, atenção ou habilidades visuoespaciais. Essas duas categorias ainda podem ser classificadas como comprometimento restrito a um domínio cognitivo (CCL de domínio único) ou comprometimento em mais de um domínio cognitivo (CCL de múltiplos domínios) (Petersen *et al.*, 2014 & Palmer *et al.*, 2010). Como o CCL representa um estado entre o envelhecimento normal e a demência, se torna extremamente necessária a avaliação do CCL, em especial do subtipo amnésico, uma vez que é o subtipo que apresenta maior risco de evolução para DA. (Petersen *et al.*, 2011; Petersen *et al.*, 2014; Fleisher *et al.*, 2007; Palmer *et al.*, 2008 & Palmer *et al.*, 2010). Além disso, a depressão geriátrica, por sua vez, pode influenciar a manifestação e evolução do CCL. Diniz e colaboradores (2015) identificaram diversos biomarcadores essenciais para a manutenção dos processos biológicos relacionados à saúde cerebral. Anormalidades nestes marcadores podem provocar a interrupção do processo de controle homeostático do comprometimento cognitivo e levar a alterações patológicas na depressão geriátrica (Diniz *et al.*, 2015). Portanto, é fundamental compreender mais profundamente a relação do TDM no idoso com o comprometimento cognitivo.

#### 1.4. Comprometimento Cognitivo Leve e Depressão Geriátrica

Butters e colaboradores (2000) citam evidências em diversos estudos que demonstraram que uma grande parcela de idosos com TDM apresenta concomitantemente comprometimento cognitivo (Butters *et al.*, 2000). Nesse mesmo estudo, os autores demonstraram que um tratamento bem sucedido do TDM em idosos resultou em melhoria do comprometimento cognitivo nos domínios de iniciação/perseveração e conceitualização, ambas relacionadas à funções executivas na Mattis Dementia Rating Scale (MATTIS). Ainda assim, diversos estudos apontam que déficits cognitivos que coexistem com TDM no idoso tendem a persistir mesmo após tratamento e remissão dos sintomas depressivos. (Butters *et al.*, 2004; Bhalla *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2007; Nebes *et al.*, 2003 & Butters *et al.*, 2000).

São diversos os mecanismos que podem intervir no risco de um indivíduo desenvolver ou não DA e até mesmo desacelerar ou acelerar o processo de desenvolvimento da doença. Butters e colaboradores (2008) sugerem que o TDM altera o risco de um indivíduo desenvolver disfunção cognitiva, reduzindo o período de latência entre a neuropatologia do desenvolvimento da DA e a instalação da demência, sendo assim, aumentando a incidência e prevalência de DA entre idosos com TDM (Butters *et al.*, 2008).

Sabe-se que há uma relação entre história progressiva do TDM e o risco para o desenvolvimento de demência (Diniz *et al.*, 2013 & Butters *et al.*, 2008). A demência, em particular, é um transtorno que gera grandes prejuízos ao indivíduo. Uma vez que essa condição leva a perda da autonomia funcional, ela se torna extremamente impactante na vida do idoso e de sua família (Prince *et al.*, 2013). Portanto, é fundamental desenvolver ações que previnam o TDM em idosos com o intuito de gerar maior funcionalidade e potencialmente prevenir ou atrasar o desenvolvimento de um quadro demencial (Diniz *et al.*, 2013).

Nos últimos anos diversos estudos vêm pesquisando as alterações neurobiológicas envolvidas no envelhecimento e na depressão geriátrica (Naismith *et al.*, 2012; Diniz *et al.*, 2014;). As conexões neurobiológicas existentes entre o TDM no idoso, CCL e demência possivelmente envolvem alterações em múltiplas cascatas neurobiológicas, incluindo alterações inflamatórias, mecanismos neurotróficos, alterações cerebrovasculares dentre outras (Naismith *et al.*, 2012). Alterações

nessas cascatas biológicas são observadas durante o envelhecimento normal, porém em menor intensidade. Diniz e colaboradores (2014) encontraram um declínio significativo dos níveis plasmáticos de Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) ao longo de dois anos em todos os participantes, incluindo controles saudáveis, indicando um declínio associado à idade. Os participantes com depressão e CCL apresentaram um declínio ainda maior nos níveis plasmáticos de BDNF (Diniz *et al.*, 2014). Contudo, sabemos que há estudos que indicam resultados conflitantes a respeito da influência do BDNF no TDM (Martinowich *et al.*, 2007). Diante do exposto, compreendemos a importância de identificar biomarcadores envolvidos nos processos biológicos do TDM e comprometimento cognitivo, e, portanto, decidimos pesquisar o papel da Klotho, denominada por alguns autores como a “proteína da longevidade”, em idosos com depressão geriátrica associada ou não ao CCL (Semba *et al.*, 2011; Dubal *et al.*, 2014; Prather *et al.*, 2015 & Yokoyama *et al.*, 2015).

### **1.5. Klotho**

O gene da Klotho foi identificado e documentado por Makoto Kuro-o e colaboradores (1997). Na mitologia grega, Clotho e suas irmãs Lahkesis e Atropos determinam o destino de todos os seres humanos através do fio da vida. Clotho é a deusa responsável por tecer a “linha” da vida, Lahkesis determina a medida da linha de cada um e Atropos corta a linha indicando o fim da vida (Kuro-O, 2009).

A Klotho é produzida, principalmente nos rins e no cérebro, especificamente no plexo coroide, responsável pela produção do fluido cerebrospinal (Pavlatou *et al.*, 2016 & Shardell *et al.*, 2015). Existem duas isoformas do gene Klotho documentadas. A primeira fornece o código para sintetizar uma proteína de membrana enquanto a segunda é idêntica à primeira com exceção de uma inserção de 50 pares de bases, codificando uma proteína secretada na circulação. A segunda isoforma é predominante em todos os tecidos quando comparada a primeira isoforma e, portanto, o principal produto do gene da Klotho é sua proteína secretada no sangue, urina e fluido cerebrospinal. (Pavlatou *et al.*, 2016 & Pacheco *et al.*, 2014). A isoforma secretada possivelmente oferece proteção contra estresse, neuroinflamação (Yamamoto *et al.*, 2005 & Gold *et al.*, 2013) e câncer (Wolf *et al.*, 2008).

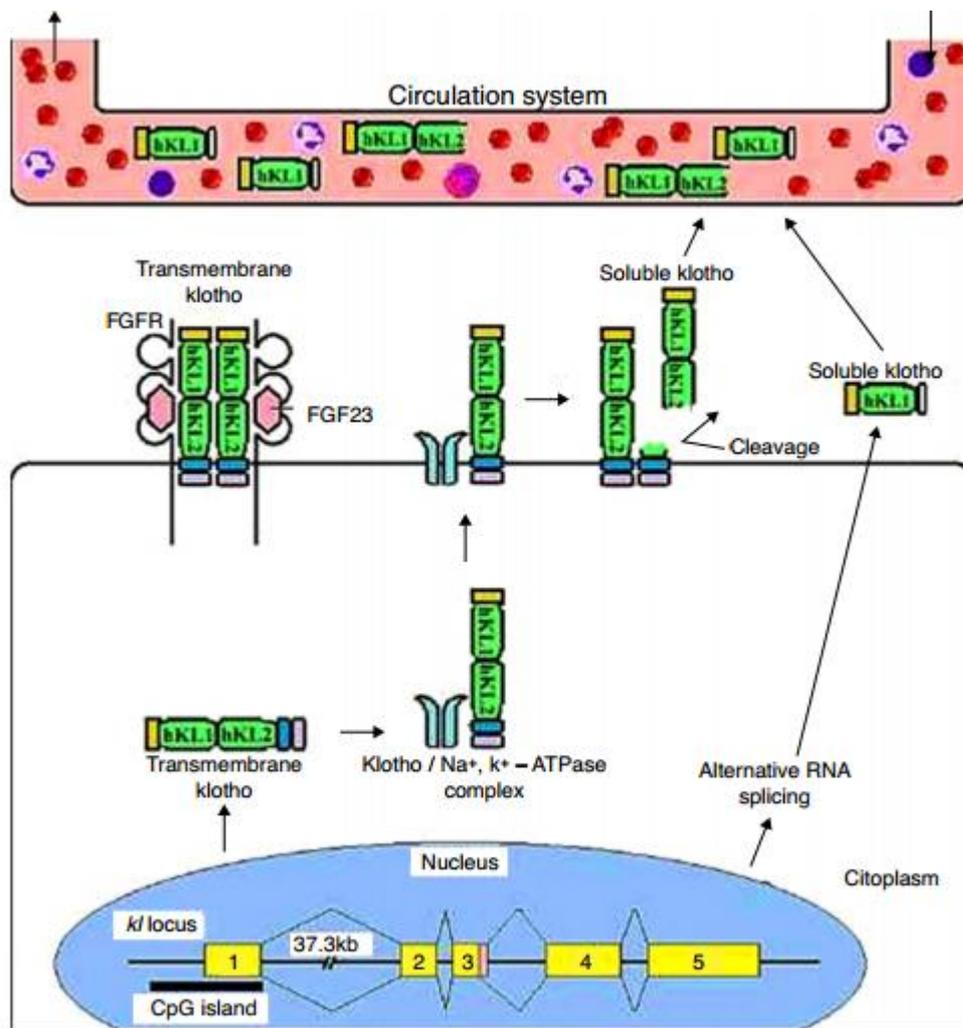


Figura 1- Processamento da proteína Klotho transmembrana e secretada (Pacheco *et al.*, 2014).

## 1.6. Klotho e Envelhecimento

O primeiro estudo publicado sobre a Klotho como um gene relacionado ao envelhecimento foi demonstrado em camundongos transgênicos com uma mutação de inserção do gene da Klotho. Camundongos transgênicos homocigotos (-/-) apresentaram múltiplas patologias relacionadas a síndromes de envelhecimento prematuro, como um distúrbio da marcha similar à marcha parkinsoniana, arteriosclerose, osteoporose, atrofia da pele, atrofia do timo e infertilidade devido a atrofia dos ovários, do útero e dos testículos. (Kuro-O *et al.* 1997 & Kuro-O, 2009). Os camundongos também demonstraram retardo de crescimento e viveram em torno de 20-30% menos do que camundongos sem a mutação do gene. (Kuro-O *et al.*, 1997 & Kuro-O, 2009). Outro importante achado foi a relação da Klotho com

comprometimento cognitivo. Em um estudo, camundongos com deficiência da Klotho apresentaram comprometimento cognitivo em um teste de memória e aprendizagem em uma tarefa de reconhecimento de objeto novo (Nagai *et al.*, 2003). Após essas descobertas, a Klotho se tornou objeto de vários estudos sobre comprometimento cognitivo.

### **1.6.1. Klotho e Comprometimento Cognitivo**

Em um estudo conduzido com idosos do “*Aging in the Chianti Area*” (InCHIANTI) de duas pequenas cidades da Toscana na Itália, foram selecionados 804 indivíduos com 65 anos de idade ou mais. A pesquisa demonstrou que um grupo de idosos com níveis baixos de Klotho possuíam maior risco de morte após um acompanhamento de seis anos e um comprometimento cognitivo significativamente maior, quando avaliados pelo *Mini Mental State Examination* (MEEM) obtendo escores menores que 24 pontos. Não houve diferença significativa em relação a sexo e escolaridade, porém, como esperado, as concentrações de Klotho apresentaram um declínio relacionado à idade (Semba *et al.*, 2011).

Outro estudo mais recente, também proveniente do estudo InCHIANTI, avaliou os níveis da klotho em 833 participantes com 55 anos de idade ou mais. A cognição global foi mensurada utilizando o MEEM no momento de entrada no estudo, três e seis anos após a entrada. A concentração de Klotho foi avaliada em relação ao comprometimento cognitivo no momento do acompanhamento de três anos. O estudo demonstrou que níveis maiores de Klotho no plasma foram associados a melhor cognição e menor comprometimento cognitivo (Shardell *et al.*, 2015).

Outro estudo mensurou a concentração de Klotho no líquido cefalorraquidiano em 20 idosos com DA, 20 idosos com cognição normal e 20 adultos com cognição normal. O MEEM foi utilizado para avaliar o estado global da cognição. O estudo evidenciou que as concentrações de Klotho no líquido cefalorraquidiano são significativamente reduzidas em idosos com DA quando comparado a idosos com cognição normal. Além disso, nesse estudo, homens apresentaram níveis mais altos de Klotho quando comparado a mulheres e, no grupo de participantes com cognição normal, os idosos apresentaram menor nível de Klotho do que os adultos (Semba *et al.*, 2014).

Estudos indicam que a Klotho promove resiliência contra proteínas patogênicas relacionadas à DA. Ela pode estar envolvida na regulação da defesa contra stress oxidativo e células apoptóticas exercendo um papel neuroprotetor. Além disso, a superexpressão do gene da Klotho promove melhora das habilidades cognitivas (Nagai *et al.*, 2003; Dubal *et al.*, 2015 & Zeldich *et al.*, 2014). A cognição é uma função cerebral de valor inestimável para a realização de inúmeras tarefas de vida diária e sua função é reduzida no envelhecimento e na manifestação de algumas doenças. A possibilidade de melhorar a função cognitiva, mesmo que ligeiramente, é de grande relevância para os seres humanos (Dubal *et al.*, 2014). Esses achados reforçam a proposição da Klotho como uma proteína do anti-envelhecimento e fortalecem o importante papel desempenhado por ela em neuroproteção.

### **1.6.2. Klotho e Depressão**

Na *San Francisco Autism Clinic* da universidade da Califórnia foi realizado um estudo com 178 mulheres saudáveis divididas em dois grupos: mulheres com estresse crônico e cuidadoras maternas de crianças com diagnóstico de transtorno do espectro autista (n=90) e mulheres com baixo nível de estresse e mães de crianças com desenvolvimento típico (n=88), todas com idades entre 20 e 50 anos com ao menos uma criança entre 2 e 16 anos de idade. O estresse foi avaliado utilizando a *Perceived Stress Scale* (Escala de Estresse Percebido). Nenhuma das participantes fazia uso de medicamentos que sabidamente afetam o sistema imune e endócrino com exceção de antidepressivos e contraceptivos orais. Dois controles faziam uso de antidepressivos para motivos não relacionados à depressão (insônia transtorno disfórico pré-menstrual). Os resultados mostraram que níveis baixos de Klotho estão associados a maiores níveis de estresse crônicos e sintomas depressivos em mulheres jovens e saudáveis. Além disso, a Klotho apresentou um declínio significativo relacionado à idade e um declínio ainda mais acelerado nas participantes apresentando alto nível de estresse (Prather *et al.*, 2015).

Um estudo recente realizado com 329 idosos, com idades igual ou maior que 65 anos, e diagnóstico de TDM analisou três polimorfismos de nucleotídeo único no gene da Klotho (KL) para avaliar o papel desse gene no tratamento com inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRSs). O diagnóstico psiquiátrico foi realizado utilizando os critérios do DSM-IV-TR por meio do GDS-15. Para

determinar resposta ao tratamento com ISRSs utilizou-se a *Hamilton Depression Rating Scale* (HDRS-21). O paciente que apresentou resposta ao tratamento obteve uma redução de pelo menos 50% no HDRS-21, o paciente que teve uma resposta ruim ao tratamento apresentou de 10%-49% de redução e o paciente que não obteve resposta teve redução de até 10%. Os resultados mostraram que um polimorfismo no gene da Klotho pode ser um fator inibindo ou induzindo uma resposta melhor ao tratamento de ISRSs. Esses resultados foram os primeiros a sugerir um possível papel do KL na resposta ao TDM com um antidepressivo. (Paroni *et al.*, 2016).

Nosso sistema nervoso central possui uma forma adaptativa de responder a estresse, essencial a sobrevivência. O TDM representa a desregulação dessa resposta adaptativa normal (Gold *et al.*, 2015). É sugerido que a Klotho possa exercer uma função anti-inflamatória e de redução de resposta estressora do organismo no TDM (Gold *et al.*, 2013).

Os dados a respeito da regulação da Klotho em idosos com TDM são escassos na literatura. Encontramos apenas o estudo de Paroni e colaboradores (2015), citado acima. Segundo Pavlatou e colaboradores (2016), muitas das consequências observadas na deficiência da Klotho, como arteriosclerose e osteoporose, menor longevidade e alterações na estrutura hippocampal, ocorrem na presença do TDM (Pavlatou *et al.*, 2016). Diante do exposto, a hipótese deste estudo é que o nível plasmático da proteína Klotho é significativamente reduzido em idosos com TDM, sendo essa concentração ainda menor nos idosos com TDM associado ao CCL. Além disso, acreditamos que os níveis da proteína Klotho podem se correlacionar com variáveis clínicas tanto do TDM quanto do CCL.

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo Geral**

Avaliar a concentração plasmática da Klotho em idosos com diagnóstico de TDM, associado ou não ao CCL.

### **2.2. Objetivos Específicos**

Avaliar os níveis plasmáticos da Klotho em idosos com TDM na ausência e presença de CCL, em relação a controles idosos sem transtornos mentais e cognitivas.

Comparar os níveis plasmáticos da Klotho em idosos com TDM com e sem CCL, avaliando diferentes parâmetros clínicos da depressão como tipos de episódio (único ou recorrente), e idade de início do primeiro episódio depressivo (início precoce ou tardio), em relação aos controles saudáveis.

Correlacionar os níveis plasmáticos da Klotho em idosos com TDM na presença e ausência do CCL em relação aos instrumentos de avaliação neuropsicológica.

### **3. Materiais e Métodos**

#### **3.1. Aspectos Éticos**

Esse trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (CAAE: 38658914.6.0000.5149, parecer nº 911.177).

#### **3.2. Delineamento do Estudo**

Este é um estudo transversal que envolveu 17 controles (ausência de CCL e transtornos mentais), recrutados da comunidade, e 33 pacientes com diagnóstico de TDM. Sendo que, desses 33, são 18 com diagnóstico de TDM associado ao CCL e 15 com diagnóstico de TDM e ausência de CCL, atendidos no Ambulatório de Psicogeriatria do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

##### **3.1. Critérios de Inclusão**

*Pacientes do grupo TDM:* idade maior ou igual a 60 anos, ambos os sexos e diagnóstico de TDM de acordo com os critérios do Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5) (American Psychiatric Association, 2002) e ausência de diagnóstico para comprometimento cognitivo.

*Pacientes do grupo TDM+CCL:* idade maior ou igual a 60 anos, ambos os sexos e diagnóstico de TDM de acordo com os critérios do DSM-5 e diagnóstico de comprometimento cognitivo.

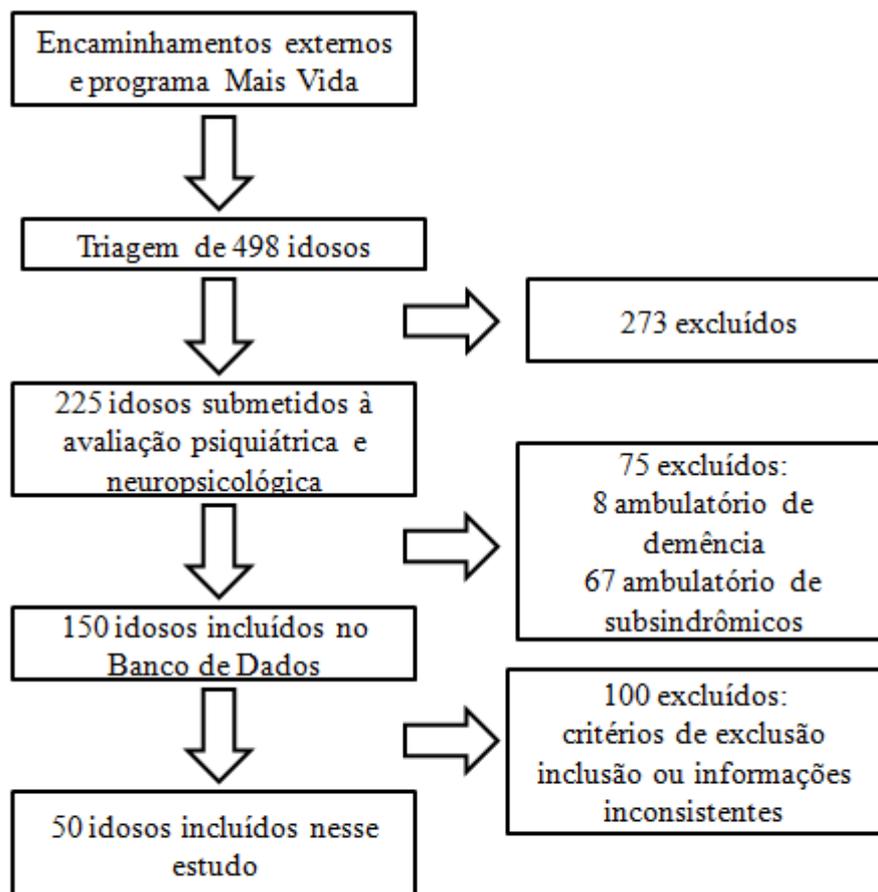
*Controles:* idade maior ou igual a 60 anos, de ambos os sexos, ausência de diagnóstico para transtornos mentais e para comprometimento cognitivo e não fazer uso de medicações antidepressivas.

##### **3.2. Critérios de Exclusão**

*Pacientes e Controles:* uso contínuo de medicações anti-inflamatórias e/ou corticoides nas últimas quatro semanas, existência de quadro demencial, evidência clínica ou história de ataque isquêmico transitório ou acidente vascular encefálico, outros transtornos mentais como: esquizofrenia, transtorno afetivo bipolar e recusa em assinar o termo de consentimento livre e esclarecido.

##### **3.3. Recrutamento e Seleção dos Pacientes**

Os pacientes e controles inseridos no presente estudo foram selecionados de um banco de dados maior utilizado para avaliar vários aspectos neurobiológicos e cognitivos relacionados à psicogeriatría. Os pacientes foram admitidos no ambulatório de transtornos mentais em idosos do Hospital das Clínicas por encaminhamentos externos (postos de saúde e outros ambulatórios do Hospital das Clínicas da UFMG) e do Projeto Mais Vida. Foi realizada a triagem de 498 idosos, dos quais 273 foram excluídos por indisponibilidade de participarem do projeto e/ou preencherem critério de exclusão. Portanto, 225 idosos foram encaminhados para as avaliações psiquiátricas e neuropsicológicas, sendo que, após as avaliações, 8 foram encaminhados para o Ambulatório de Demência e 67 foram diagnosticados com depressão subsindrômica. Foram então incluídos no banco de dados 150 idosos. Destes, 100 foram excluídos por preencherem quaisquer dos critérios de exclusão e/ou por ausência ou inconsistência de informações relevantes para o presente estudo. Ao final, participaram 50 idosos, sendo 17 controles, 15 pacientes com TDM e 18 pacientes com TDM e comprometimento cognitivo leve (CCL) (Figura 2).



**Figura 2-** Fluxograma de recrutamento e participação dos idosos no estudo. Pacientes recrutados no ambulatório de psicogeriatría do Hospital das Clínicas – UFMG no período entre março de 2013 a novembro de 2015.

### 3.4. Avaliação Psiquiátrica, Clínica e Neuropsicológica

Todos os pacientes foram submetidos à avaliação psiquiátrica, clínica e neuropsicológica. O diagnóstico para TDM e outras comorbidades psiquiátricas foi realizado baseado nos critérios do DSM-5. Os instrumentos utilizados na avaliação psiquiátrica foram:

#### 3.4.1. Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI-Plus)

A Mini-Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional (MINI-Plus - *Mini International Neuropsychiatric Interview – Brazilian, Version 5.0.0*) é organizado por módulos diagnósticos independentes e investiga todos os critérios de inclusão e de exclusão e a cronologia (data do início, tempo de duração e número de episódios dos transtornos) de 23 categorias diagnósticas do DSM-IV. É uma entrevista clínica estruturada breve utilizada para identificar transtornos mentais do eixo I do Manual

Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais do DSM-IV e da Classificação Estatística Internacional de Doenças e de Problemas Relacionados à Saúde (CID-10) (Amorim, 2000).

#### **3.4.2. Hamilton Depression Rating Scale – 21 items (HDRS-21)**

Com o objetivo de avaliar a gravidade dos sintomas depressivos dos idosos com diagnóstico de TDM utilizou-se a HDRS-21 (Hamilton, 1960). Adotamos o escore total para as análises e estratificação dos indivíduos em relação à gravidade dos sintomas depressivos. Foram utilizados os pontos de corte que são descritos como os mais amplamente utilizados na prática clínica: para TDM grave - escores iguais ou maiores do que 25; para TDM moderada - escores de 18 a 24; para TDM leve - escores de 7 a 17; os escores menores que 7 definem remissão do quadro ou ausência do TDM (Del Porto, 1989).

Na avaliação clínica foi realizada a aferição da pressão sanguínea, peso, altura, circunferência abdominal e informações adicionais sobre outras comorbidades foram adquiridas utilizando como guia o *Cummulative Illness Rating Scale* (CIRS-G) (Miller *et al.*, 1991).

Em relação à avaliação neuropsicológica, foi utilizada uma bateria extensa de testes selecionada pelos neuropsicólogos do grupo de pesquisa. Nesse estudo utilizamos analisamos:

#### **3.4.3. MATTIS Dementia Rating Scale (MDRS)**

A MDRS ou MATTIS, proposta por Steven Mattis (Mattis, 1988), foi desenvolvida para avaliar habilidades cognitivas em pacientes com DA. A escala avalia a cognição global, fornecendo informações detalhadas sobre as áreas cognitivas, alteradas ou preservadas, em 36 atividades através de 5 subescalas: atenção (AT), iniciação/perseveração (I/P), construção (CONS), conceituação (CONC) e memória (MEM) (Porto *et al.*, 2003).

A versão brasileira da MDRS foi desenvolvida em 2002 para verificar sua precisão diagnóstica de pacientes com DA leve na população brasileira e verificar a interferência das variáveis de idade e escolaridade. Foram avaliados 41 idosos com

DA provável, de intensidade leve, e 60 controles. Pacientes e controles foram divididos em três grupos de idade e em três níveis de escolaridade. Foi verificado que idade e escolaridade interferiram no escore total e nos escores das subescalas. (Porto *et al.*, 2003)

#### **3.4.4. Frontal Assessment Battery (FAB)**

O *Frontal Assessment battery* (FAB) proposta por Dubois e colaboradores em 2000, foi desenvolvida como um instrumento breve para avaliação de disfunção do lobo frontal. A bateria avalia diferentes domínios de função executiva, através de seis subescalas, que podem estar comprometidas em diversas transtornos neurológicos em uma aplicação breve. (Dubois *et al.*, 2000). As seis subescalas são: Similaridades (conceituação), Fluência lexical (flexibilidade mental), Série motora (programação), Instruções conflitantes (sensibilidade a interferência), Vai-não-vai (controle inibitório) e Comportamento de preensão (autonomia ambiental) (Beato *et al.*, 2007).

A versão brasileira da FAB, Bateria de Avaliação frontal (BAF) foi proposta por Beato e colaboradores em 2007. O estudo contou com a participação de 48 idosos sem diagnóstico de TDM e comprometimento cognitivo com idades entre 60 e 91. Os autores concluíram que na população utilizada no estudo, a BAF evidenciou ser influenciada pela escolaridade dos participantes (Beato *et al.*, 2007).

#### **3.4.5. The Rey Auditory-Verbal Learning Test (RAVLT)**

*The Rey Auditory-Verbal Learning Test*, desenvolvido por Rey (Rey A., 1958) é um instrumento de avaliação de aprendizado e memória. Ele avalia memória recente, aprendizado verbal, suscetibilidade a interferência, retenção de informação após um período de tempo em que outras atividades são realizadas e memória de reconhecimento (Malloy-Diniz, 2007).

Foi testada a aplicabilidade do RAVLT na população de idosos brasileiros por Malloy-Diniz e colaboradores (2007). A versão empregada foi desenvolvida com uma lista de substantivos concretos com uma ou duas sílabas muito frequentes na língua portuguesa brasileira. Foram avaliados 223 participantes idosos, divididos em seis grupos de idades 60-64, 65-69; 70-74; 75-79; 80-84 e 85-89. O nível

educacional e a idade dos idosos tiveram correlação positiva e negativa, respectivamente, com o desempenho no teste. Além disso, mulheres tiveram um desempenho significativamente melhor que os homens. Os resultados encontrados são semelhantes aos encontrados na versão inglesa do teste o que indica que o teste é adequado e aplicável para avaliação da memória em idosos brasileiros de mesma idade e nível educacional (Malloy-Diniz, 2007). Uma revisão de Cotta e colaboradores (2012) incluindo 26 artigos indicou que o RAVLT é um instrumento eficaz para auxiliar o diagnóstico diferencial entre envelhecimento normal e patológico (Cotta *et al.*, 2012).

#### **3.4.6. The Verbal Fluency Test (FV)**

*The Verbal Fluency test* (FV ou Teste de fluência verbal) é utilizado em baterias neuropsicológicas ou de forma isolada a fim de avaliar funções executivas (organização mental e estratégias de busca), memória semântica e memória de trabalho, velocidade de processamento e linguagem (extensão do vocabulário) (Radanovic *et al.*, 2007). O teste de FV - categoria animais faz parte do *Boston Diagnostic Aphasia Examination* (BDAE) (Goodglass *et al.*, 1983 & Borod *et al.*, 1980) e também do protocolo do CERAD (*Consortium to Establish a Registry for Alzheimer Disease*) (Mirra *et al.*, 1991) Brucki e colaboradores avaliaram 336 indivíduos sem queixas neurológicas e psiquiátricas e 56 indivíduos com comprometimento cognitivo. Os resultados mostram que a escolaridade influencia significativamente o resultado do teste de FV e, portanto, níveis de corte diferentes devem ser utilizados (Brucki *et al.*, 1997).

No estudo presente, selecionamos os testes padrão ouro para avaliação cognitiva para realizar as análises com a Klotho, porém uma bateria maior de testes neuropsicológicos foi administrada por neuropsicólogos com experiência em avaliação neuropsicológica de idoso para obtenção de medidas cognitivas. Foram excluídos da amostra idosos com indícios de demência. Os idosos que apresentaram CCL associado ao diagnóstico de TDM foram inclusos no estudo.

Os resultados foram avaliados individualmente por meio dos escores totais obtidos nas escalas, considerando a escolaridade para cada escala. É importante ressaltar

que analfabetos não foram incluídos no presente estudo. O procedimento diagnóstico foi realizado em consenso em reunião com os neuropsicólogos do grupo. Como discutido por Petersen e colaboradores (1999), o desempenho de pacientes com CCL fica, em geral, 1,5 DP abaixo da média do grupo de referência, considerando idade e escolaridade.

Contudo, para delineamento do estudo, os critérios clínicos que utilizamos são aqueles definidos pelo Grupo Internacional de Trabalho em CCL (Winblad e colaboradores, 2004) em que verificamos se os seguintes critérios estão presentes:

- I. A pessoa não possui cognição normal, mas não preenche critérios (DSM IV e CID 10) para uma síndrome demencial.
- II. Declínio cognitivo subjetivo relatado pela pessoa ou pelo acompanhante e/ou declínio cognitivo mensurado objetivamente em tarefas cognitivas; Declínio cognitivo frente ao desempenho prévio verificado através de uma mensuração objetiva.
- III. As atividades básicas de vida diária estão preservadas e funções instrumentais complexas estão intactas ou pouco comprometidas.

Com o trabalho realizado por Winblad e colaboradores (2004), houve incremento dos critérios clínicos para configuração de CCL, facilitando o reconhecimento dessa entidade clínica. Como resultado desse esforço, o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM) em sua 5ª versão (APA, 2013) contempla uma categoria de Transtorno Neurocognitivo Leve, cujos critérios diagnósticos são similares àqueles listados pelo Grupo de Trabalho em CCL, como bem discutem Stokin e colaboradores (2015), reforçando a característica clínica do Comprometimento Cognitivo Leve para além dos dados puramente cognitivos.

### **3.5. Coleta de Material Biológico**

Após a avaliação clínica e psiquiátrica, foram coletados 4mL de sangue em tubos de coleta a vácuo contendo o conservante EDTA como anticoagulante por meio de punção venosa na veia antecubita. O plasma foi levado para o Instituto Nacional de

Ciência e Tecnologia em Medicina Molecular (INCT-MM) da UFMG. No INCT-MM, o plasma foi separado por centrifugação a 3000 rpm, 4°C, 10 minutos, fracionado em microtubos de polipropileno e armazenados em freezer -80°C até a realização das análises laboratoriais.

### **3.6. Análise da Klotho**

As amostras de plasma obtidas previamente foram descongeladas para avaliação dos níveis de Klotho por meio do ensaio imunoenzimático (ELISA) sanduíche, utilizando-se o kit DuoSet ELISA – Human Klotho da R&D Systems no Laboratório Interdisciplinar de Investigações Médicas (LIIM) da UFMG.

Brevemente, a cada poço da placa de ELISA foram adicionados 100 µL de solução contendo anticorpo monoclonal contra a proteína Klotho humana diluídos em PBS (anticorpo de captura). As placas foram incubadas por, pelo menos, 12 horas a 4°C. Os anticorpos não aderidos nas placas foram descartados por inversão e lavagem em PBS–Tween 0,1%. Em seguida, as placas foram bloqueadas com 200 µL/poço de uma solução contendo albumina de soro bovino (BSA) 1%, durante 2 horas à temperatura ambiente. Após nova lavagem das placas, em cada poço foram adicionados 100 µL da amostra ou padrão. As placas foram novamente incubadas por pelo menos 12 horas a 4°C e em seguida lavadas. Anticorpos conjugados com biotina e diluídos em BSA 0,1% foram incubados por duas horas à temperatura ambiente.

Em seguida, após nova lavagem, foram acrescentados 100 µL/poço de estreptavidina conjugada com peroxidase às placas, que foram incubadas por 30 minutos à temperatura ambiente. Finalmente, após nova lavagem, o cromógeno  $\text{O}$ -fenileno-diamina (OPD) foi aplicado às placas, incubadas na ausência de luz. A reação foi interrompida com solução contendo ácido sulfúrico 1M. A leitura da intensidade de marcação foi realizada em leitor de ELISA no  $\lambda$  de 490 nm (SOFTmax Pro – versão 2.2.1). Essa análise foi realizada no Laboratório Interdisciplinar de Investigação Médica (LIIM) - FM/UFMG.

### **3.7. Análise Estatística**

As análises estatísticas foram executadas através do programa estatístico SPSS versão 23.0 e GraphicPrism 5.0 para Windows. Verificamos se as variáveis contínuas possuíam distribuição normal através dos testes de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk e constatamos que apresentaram distribuição não-normal. Todas as variáveis contínuas são apresentadas como mediana (mínimo – máximo), com análises realizadas através do teste de Kruskal-Wallis com pós-teste U de Mann-Whitney. Para a comparação de variáveis categóricas realizou-se o teste de  $\chi^2$  de Pearson. Os gráficos foram construídos utilizando o programa GraphicPrism 5.0 para Windows e os testes utilizados foram Kruskal-Wallis seguido de Dunn's com comparações múltiplas e teste para o coeficiente de correlação de Spearman para as análises de correlações. Valores menores que 0,05 foram adotados como nível de significância estatística para todos os testes.

### **3.8. Caracterização Sócio-Demográfica da Amostra**

Conforme demonstrado anteriormente na Figura 2 e agora na Tabela 1, a amostra foi composta por 50 idosos, sendo 17 idosos controles, 15 idosos com TDM e ausência de CCL e 18 idosos com TDM associado ao CCL. Não houve diferença entre os três grupos para sexo, idade, escolaridade, estado civil e presença de comorbidades clínicas (Tabela 1). Os idosos sem transtornos mentais ou CCL estão descritos como “Controles”, já os idosos com TDM e sem comprometimento cognitivo são denominados “TDM” e o grupo de idosos com TDM associado ao CCL são chamados de “TDM + CCL”.

Em relação à utilização de medicamentos, idosos com TDM utilizavam medicamentos antidepressivos do tipo Inibidor seletivo de Recaptação de Serotonina (ISRS), tricíclicos, tetracíclicos, Inibidores da Recaptação de Serotonina e Noradrenalina (IRSN) e benzodiazepínicos, enquanto o grupo com TDM e CCL apresentou ISRS, tricíclicos, tetracíclicos, IRSN, benzodiazepínicos e atípicos (Tabela 1). Houve uma diferença significativa em relação ao uso de Hipolipidêmicos ( $p=0,017$ ), uso de benzodiazepínicos ( $p=0,011$ ) e, como esperado, no uso de antidepressivos ( $p=0,000$ ) (Tabela 1).

**Tabela 1** - Caracterização sócio-demográfica de idosos controles, idosos com TDM e idosos com TDM associada a CCL.

	Total (n= 50)			p-value
	Controles (n= 17)	TDM (n= 15)	TDM + CCL (n= 18)	
<b>Sexo</b>				
<b>Mulher</b>	17 (100%)	13 (86,7%)	16 (88,9%)	p= 0,317
<b>Idade</b>	73 (60-81)	69 (60-86)	70,5 (60-84)	p= 0,392
<b>Escolaridade (anos)</b>	5 (3-11)	7 (3-12)	4 (3-11)	p= 0,069
<b>Status Civil</b>				p=0,825
<b>Casado</b>	5 (29,4%)	6 (40%)	5 (27,8%)	
<b>Divorciado</b>	4 (23,5%)	2 (13,3%)	2 (11,1%)	
<b>Viúvo</b>	8 (47,1%)	7 (46,7%)	10 (55,6%)	
<b>Solteiro</b>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
<b>Aposentado</b>	15 (88,2%)	11 (77,3%)	10 (55,6%)	p=0,152
<b>Comorbidades clínicas</b>				
<b>Hipertensão Arterial (HAS)</b>	13 (76,5%)	10 (66,7%)	14 (77,8%)	p=0,942
<b>Diabetes Melitus 2 (DM2)</b>	4 (23,5%)	2 (13,3%)	7 (38,9%)	p=0,277
<b>Obesidade</b>	7 (41,2%)	6 (40%)	6 (33,3%)	p=0,834
<b>Dislipidemia</b>	6 (35,3%)	7 (46,7%)	12 (66,7%)	p=0,178
<b>Infarto Agudo do Miocárdio (IAM)</b>	0%	0%	1 (5,6%)	p=0,415
<b>Acidente Vascular Encefálico (AVE)</b>	0%	0%	1 (5,6%)	p=0,415
<b>Índice de Massa Corporal (IMC)</b>	27,29 (20,13- 36,88)	29,32 (16,77- 40,37)	27,09 (19,56-40,27)	p=0,204
<b>Antidepressivos</b>	0	9	9	p=0,000
<b>ISRS</b>	0	4	4	p=0,077
<b>Tricíclicos</b>	0	2	2	p=0,317
<b>Tetracíclicos</b>	0	2	1	p=0,283
<b>IRSN</b>	0	1	1	p=0,577
<b>Atípicos</b>	0	0	1	p=0,404
<b>Benzodiazepínicos</b>	1	8	4	p=0,011
<b>Anti-hipertensivos</b>	14	10	14	p=0,479
<b>Hipoglicemiantes</b>	6	1	4	p=0,152
<b>Hipolipidêmicos</b>	11	5	14	p=0,017
<b>Levotiroxina</b>	4	2	4	p=0,717

TDM: Transtorno Depressivo Maior CCL:Comprometimento Cognitivo Leve. ISRS: Inibidor Seletivo de Recaptação de Serotonina. IRSN: Inibidores da Recaptação de Serotonina e Noradrenalina. Testes estatísticos: Os resultados estão apresentados como mediana (mínimo-máximo) para idade, escolaridade e IMC, para os demais foi considerado o n total e frequência. Teste Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk, Kruskal Wallis e  $\chi^2$  de Pearson.

#### 4. Resultados

Em relação ao perfil cognitivo, todos os idosos dos grupos controle e TDM apresentam ausência de comprometimento cognitivo, como esperado. Já 100% dos idosos do grupo TDM associado ao CCL apresentam CCL de subtipo amnésico de domínio único (4) ou múltiplos domínios (14). \*Retirei a tabela indicando perfil cognitivo, como sugerido pela banca.

Foi realizada uma análise de caracterização do subtipo do TDM e do início do episódio depressivo em relação aos grupos TDM e TDM associado ao CCL. A análise mostrou que não há diferenças entre os grupos em relação a essas caracterizações (Tabela 2).

**Tabela 2** - Caracterização do subtipo do TDM e Início do primeiro episódio depressivo.

<b>Total (n= 50)</b>			
	<b>TDM</b>	<b>TDM + CCL</b>	
	(n= 15)	(n= 18)	<b>p-value</b>
<b>Subtipo do TDM</b>			p=0,064
<b>TDM de Episódio Único</b>	8 (53,3%)	4 (22,2%)	
<b>TDM Recorrente</b>	7 (46,7%)	14 (77,8%)	
<b>Início do TDM</b>			p=0,739
<b>TDM de Início Precoce</b>	8 (53,3%)	10 (55,6%)	
<b>TDM de Início Tardio</b>	5 (33,3%)	8 (44,4%)	

TDM: Transtorno Depressivo Maior. CCL: Comprometimento Cognitivo Leve. Os resultados apresentam o n total e a frequência em porcentagem. Testes estatísticos:  $\chi^2$  de Pearson.

Em relação à gravidade dos sintomas depressivos, não houve diferença significativa entre os grupos TDM e TDM associado ao CCL, mas sim destes grupos em relação aos controles (p=0,000). A maior parte da amostra que compõe os dois grupos apresentou TDM com gravidade tipo moderada (Tabela 3).

**Tabela 3-** Caracterização da gravidade de sintomas depressivos dos grupos TDM e TDM com CCL.

Total (n= 50)					
HDRS-21	Leve (7-17)	Moderada (18-24)	Grave (≥ 25)	Mediana	p-value
Controles (n= 17)	0	0	0	0 (0-5)	p=0,000
TDM sem CCL (n= 15)	4	8	3	21 (9-35)	
TDM com CCL (n=18)	5	7	6	22,5 (8-32)	

HDRS-21: Hamilton Depression Rating Scale – 21 Items. TDM: Transtorno Depressivo Maior. CCL: Comprometimento Cognitivo Leve. Os resultados estão apresentados considerando o n total para cada grupo e depois utilizando mediana (mínimo-máximo dos totais). Testes estatísticos:  $\chi^2$  de Pearson.

Houve diferença significativa entre os três grupos em todos os instrumentos de avaliação da cognição (Tabela 4), com exceção do item Construção da MDRS, porém, esse dado não gerou maiores análises, uma vez que é comum que participantes com e sem CCL atinjam o escore máximo nesta subescala (Porto *et al.*, 2003).

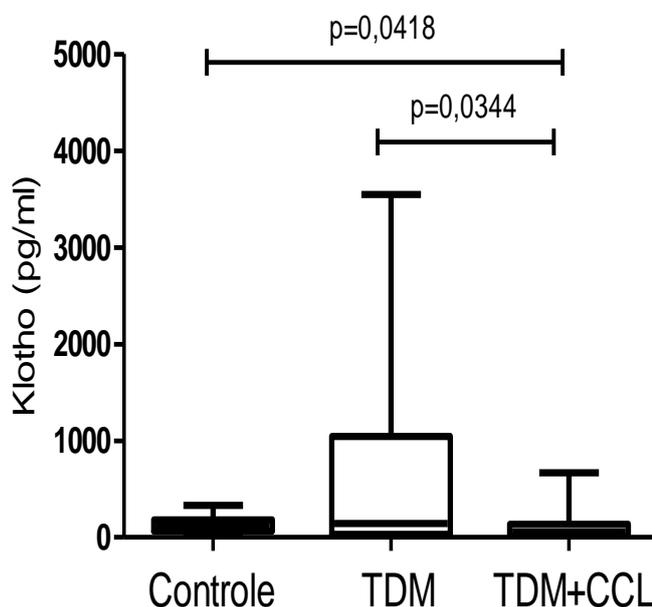
**Tabela 4-** Resultados dos instrumentos utilizados para avaliação neuropsicológica dos três grupos: controle, TDM e TDM associada a CCL.

Total (n= 50)				
Instrumento (mediana)	Controles (n= 17)	TDM (n= 15)	TDM + CCL (n= 18)	p-value
FAB	14 (10-18)	14 (12-17)	11(8-13)	p=0,000
RAVLT total	44 (29-56)	43 (24-51)	27.50 (24-61)	p=0,000
RAVLT (A7) Evocação Tardia	9 (5-14)	9 (4-10)	4 (4-12)	p=0,000
MATTIS (AT)	36 (31-37)	36 (34-37)	34 (20 -37)	p=0,008
MATTIS (IP)	36 (30-37)	36 (27-37)	29 (25-37)	p=0,000
MATTIS (CONS)	6 (4-6)	6 (4-6)	6 (2-6)	p=0,071
MATTIS (CONC)	31 (23-39)	36 (25-38)	28 (20-33)	p=0,001
MATTIS (MEM)	23 (19-25)	22 (18-25)	20 (9-25)	p=0,012
MATTIS total	131 (107-139)	135 (121-140)	117 (96-124)	p=0,000
FV animais	16 (11-27)	17 (8-27)	12.50 (8-16)	p=0,010
FV S	10 (3-19)	10.50 (7-17)	6 (1-19)	p=0,008

TDM: Transtorno Depressivo Maior. CCL: Comprometimento Cognitivo Leve. FAB=Frontal Assessment Battery. RAVLT=Rey Auditory-Verbal Learning Test. MATTIS=Mattis Dementia Rating

Scale. AT=Atenção. IP=Inibição e perseverança. CONS=Construção. CONC=Conceituação. MEM=Memória. FV=Teste de Fluência Verbal. Os resultados estão apresentados em mediana (mínimo - máximo). Testes estatísticos: Teste Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk e Kruskal-Wallis.

Após a realização do pós-teste de Mann-Whitney, constatou-se uma diferença não significativa para o item Construção, quando comparamos os grupos TDM e TDM +CCL. As demais comparações resultaram em diferenças significativas entre si para todos os itens.

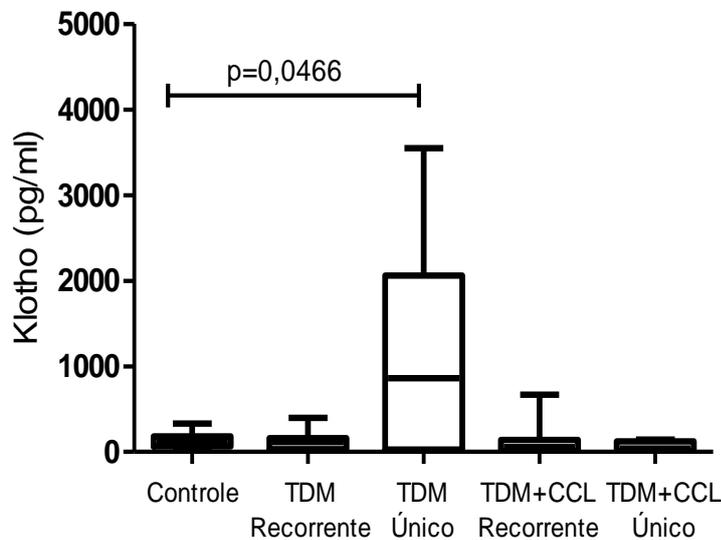


**Figura 3-** Avaliação da produção plasmática da proteína Klotho em idosos controles (N=17), idosos com TDM (N=15) e idosos com TDM associado ao CCL (N=18). TDM = grupo com Transtorno Depressivo Maior, TDM+CCL = Transtorno Depressivo Maior associado ao CCL. Teste estatístico: Kruskal-Wallis seguido de Dunn's com comparações múltiplas.

Em seguida, avaliamos os níveis plasmáticos da proteína Klotho e, como demonstrado na Figura 3, idosos com TDM (160,09 pg/mL) apresentaram um nível mais alto da Klotho em relação aos controles (124,02 pg/mL) e idosos com TDM e CCL (56,46 pg/mL). Houve uma diferença significativa entre os grupos TDM e TDM associado ao CCL ( $p = 0,0344$ ). Também encontramos uma diferença significativa entre os grupos controle e TDM associado ao CCL ( $p = 0,0418$ ).

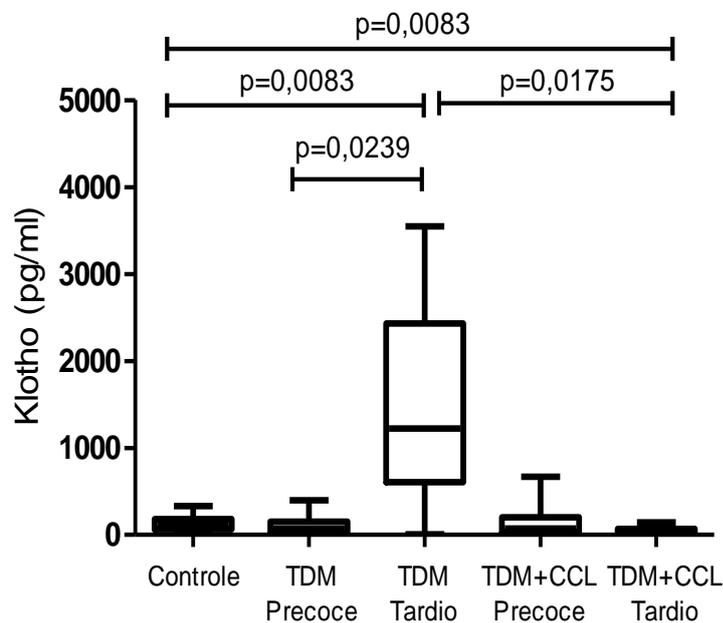
Além de avaliar os níveis da Klotho nos três grupos principais, decidimos investigar a relação dela com o subtipo do episódio depressivo, uma vez que verificamos uma tendência no aumento da Klotho em TDM na análise anterior, mesmo que não significativa. Pensamos que talvez características particulares do TDM pudessem modular os níveis plasmáticos da Klotho. Na Figura 4 estratificamos os grupos TDM

e TDM+CCL em episódio único e recorrente. Observamos uma diferença significativa ( $p=0,466$ ) apenas entre o grupo controle (124,02 pg/mL) e o grupo TDM de episódio único (860,30 pg/mL). Sendo que o último apresentou níveis muito mais altos do que todos os outros grupos.



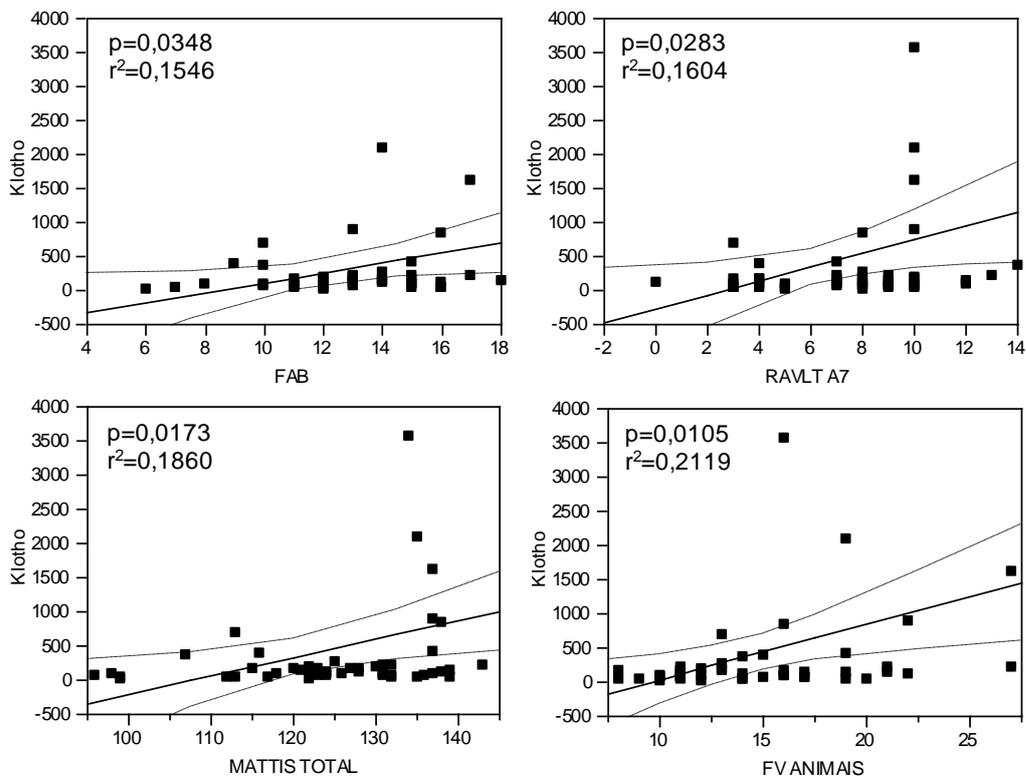
**Figura 4-** Avaliação da produção plasmática da proteína Klotho em idosos controles (N=17), idosos com TDM recorrente (N=7) e TDM de episódio único (N=8) e idosos com TDM recorrente associada a CCL (N=14) e TDM de episódio único associada a CCL (N=4). Teste estatístico: Kruskal-Wallis seguido de Dunn's com comparações múltiplas.

Na Figura 5, os grupos TDM e TDM com CCL foram estratificados em TDM de início precoce e TDM de início tardio. Nesta análise observamos o maior número de diferenças significativas entre os grupos. O grupo controle (124,02 pg/mL) difere significativamente do grupo TDM de início tardio associado ao CCL (33,07 pg/mL) ( $p=0,0083$ ) e do grupo TDM de início tardio (1588,17 pg/mL) ( $p=0,0083$ ). O grupo TDM de início tardio difere significativamente do grupo TDM de início tardio associado ao CCL ( $p=0,0175$ ) e do grupo TDM de início precoce (73,13 pg/mL) ( $p=0,0239$ ). O grupo TDM de início tardio apresenta o maior nível de Klotho em relação aos outros grupos.



**Figura 5-** Avaliação da produção plasmática da proteína Klotho em idosos controles (N=17), idosos com TDM de início precoce (N=8), idosos com TDM de início tardio (N=5), idosos com TDM de início precoce e presença de CCL (N=10) e idosos com TDM de início tardio com presença de CCL (N=8). Teste estatístico: Kruskal-Wallis seguido de Dunn's com comparações múltiplas.

Finalmente, encontramos uma correlação positiva quando agrupamos os grupos de idosos com TDM, associados ou não ao CCL, em relação à produção plasmática da Klotho e resultados nos instrumentos FAB ( $p=0,0348/r^2=0,1549$ ), MATTIS Total ( $p=0,0173/r^2=0,1860$ ), RAVLT ( $p=0,0283/r^2=0,1604$ ) e FV animais ( $p=0,0105/r^2=0,2119$ ) (Figura 6).



**Figura 6-** FAB:Frontal Assessment Battery. RAVLT:Rey Auditory-Verbal Learning Test. MATTIS Total:Mattis Dementia Rating Scale. FV: Teste de Fluência Verbal - animais. Análise de correlação entre instrumentos de avaliação neuropsicológicos e a produção plasmática da Klotho em relação aos grupos de idosos com TDM e TDM associado ao CCL. Teste Estatístico: Teste para o coeficiente de correlação de Spearman.

## 5. Discussão

Os resultados desse estudo evidenciam que há uma relação dos níveis plasmáticos baixos da Klotho com o TDM+CCL. Em relação à produção da Klotho, quando analisamos níveis plasmáticos dessa proteína nos grupos de idosos com TDM, idosos com TDM+CCL e idosos controles, observamos que há uma diferença significativa entre os grupos TDM e TDM+CCL ( $p=0,0344$ ) e também entre os grupos controle e TDM+CCL ( $P=0,0418$ ) (Figura 3). O grupo de idosos com TDM+CCL apresentou níveis significativamente mais baixos do que os grupos controle e TDM (Figura 3). Um estudo de 2015 demonstrou que níveis baixos de Klotho estão associados a maiores níveis de estresse crônico, e que mulheres com sintomas depressivos apresentavam níveis ainda mais baixos de Klotho (Prather *et al.*, 2015). Nossos resultados não mostraram uma relação de significância dos níveis plasmáticos de Klotho em idosos com TDM, a estatística só foi significativa em relação aos idosos com TDM+CCL. Porém, o resultado do estudo citado se difere do nosso estudo uma vez que os pesquisadores incluíram participantes com presença de sintomas depressivos, sem diagnóstico de TDM e as participantes do estudo de Prather e colaboradores (2015) eram mulheres jovens, com idades entre 20 e 50 anos e, sabe-se que a Klotho sofre um declínio natural relacionado à idade, portanto idosos, como os participantes do estudo em questão, tendem a apresentar níveis mais baixos de Klotho quando comparado a indivíduos jovens. Inclusive, a pesquisa citada demonstrou que as participantes mais velhas do estudo apresentaram uma redução da Klotho em relação às outras e, essa redução se mostrou mais acelerada nas participantes com alto nível de estresse (Prather *et al.*, 2015). Portanto, podemos concluir que os níveis da Klotho sofrem alterações que são dependentes de idade e presença ou ausência de neuropatologias, mas ainda, não compreendemos por completo como essas alterações ocorrem. Considerando que não há estudos que relacionam a proteína Klotho com TDM em idosos e TDM+CCL em idosos, ainda não há evidências suficientes que corroboram com uma hipótese de funcionamento da Klotho na presença desses transtornos.

Outro estudo realizado com participantes idosos demonstrou que polimorfismos no gene da Klotho podem induzir ou inibir uma resposta melhor ao tratamento do TDM com ISRSs (Paroni *et al.*, 2016). Os resultados deste estudo, assim como o nosso indicam que a Klotho pode desempenhar uma função importante na regulação da

resposta do organismo diante de um quadro depressivo. Uma vez que nossos dados sugerem que o TDM de início tardio pode desencadear o aumento do nível plasmático da Klotho, possivelmente como uma tentativa de recuperação do equilíbrio do organismo. Quando estratificamos os grupos de idosos com TDM associado ou não ao CCL de acordo com o tipo de episódio (único ou recorrente), foi demonstrada uma diferença significativa ( $p=0,0466$ ) apenas entre o grupo controle e o grupo TDM de episódio único (Figura 4). O grupo TDM de episódio único apresentou níveis significativamente mais altos do que o grupo controle. Esse dado sugere que é possível que os idosos com TDM de episódio único podem modular positivamente a ativação de Klotho na tentativa de neuroproteção. Sabe-se que o TDM do tipo recorrente já foi associado à perda de volume hipocampal devido ao estresse associado a múltiplos episódios depressivos (Butters *et al.*, 2008). Por esta razão, hipotetizamos que algo similar aconteça com a regulação da Klotho no idoso com TDM recorrente. O estresse associado aos diversos episódios depressivos ao longo da vida, possivelmente causaram uma redução crônica do nível da Klotho no organismo, ou uma resposta pouco efetiva dessa via de proteção. Já no TDM de episódio único, ocorre um desarranjo recente, ou agudo, no indivíduo, fazendo com que os efeitos neurobiológicos do TDM desencadeiem os mecanismos da Klotho, induzindo seu aumento plasmático. Entretanto, em idosos com TDM associado ao CCL, essa tentativa não ocorre, indicando uma possível falha nesse mecanismo, provavelmente, devido ao vasto impacto neurobiológico envolvido no comprometimento cognitivo. Deste modo, hipotetizamos que as alterações neurobiológicas que ocorrem na presença do CCL impedem esse mecanismo protetor e que realmente há um prejuízo na resposta desses indivíduos. Diniz e colaboradores (2015) demonstraram alterações em diversos biomarcadores plasmáticos que refletem respostas anômalas em múltiplos processos biológicos presentes no CCL, principalmente quando associado ao TDM (Diniz, *et al.*, 2015). Segundo esses autores, essas irregularidades comumente estão relacionadas a processos apoptóticos e a perda da homeostase de proteínas (Diniz *et al.*, 2015). Diante do exposto, podemos pensar que possivelmente esses processos possam gerar um desequilíbrio da manutenção sistêmica do organismo e que se relacionam, mesmo que de alguma forma ainda não esclarecida, com níveis baixos da Klotho na presença de CCL associado ao TDM.

Em seguida, avaliamos os grupos de idosos com TDM na presença e na ausência de CCL em relação ao início do episódio depressivo. O grupo TDM de início tardio associado ao CCL apresentou níveis significativamente mais baixos da Klotho quando comparado aos grupos TDM de início tardio ( $p=0,0175$ ) e controles ( $p=0,0083$ ). Além disso, o grupo TDM de início tardio apresentou níveis da Klotho significativamente mais altos quando comparado ao grupo TDM de início precoce ( $p=0,0293$ ) e quando comparado ao grupo controle ( $p=0,0083$ ). Assim, o grupo de idosos com TDM de início tardio apresentou os maiores níveis de Klotho em relação a todos os grupos analisados (Figura 4). Em relação ao grupo TDM de início tardio associado ao CCL, os níveis da Klotho foram mais baixos em relação a todos os outros grupos analisados. Esses resultados indicam que o fato do indivíduo iniciar o primeiro episódio depressivo após os 60 anos de idade, ou seja, já idoso, pode ter relação com o aumento dos níveis plasmáticos da proteína Klotho na ausência do CCL. Devido à heterogeneidade do TDM em idosos e, também, das evidências de diferenças neurobiológicas presentes no TDM de início precoce e tardio, uma diferença de comportamento na regulação da Klotho em ambos os subtipos, assim como a observada para os episódios único e recorrente, poderiam ser encontradas. Estudos apontam que idosos com TDM de início tardio apresentam alterações mais graves, como mais fatores de risco vascular e maior tendência a apresentar déficits cognitivos concomitantes (Ballmaier *et al.*, 2008; Butters *et al.*, 2008 & Fiske *et al.*, 2009). Esses dados podem indicar que, devido à exposição cumulativa de fatores que causam danos ao sistema neurobiológico, a expressão da Klotho aumenta na presença do TDM de início tardio com o propósito de compensar os danos gerados nesse subtipo depressivo. Usualmente, há uma interpolação grande entre os indivíduos com TDM de início tardio e em episódio único, demonstrando que a ativação de Klotho de forma recorrente e crônica pode induzir uma ineficiência nessa resposta, ainda mais associado a quadros de CCL. Esses achados apoiam a teoria de que de níveis baixos da Klotho pode indicar a presença de comprometimento cognitivo, pois mesmo na ocorrência de TDM de episódio único e início tardio há uma falha no mecanismo de aumento da Klotho quando associada ao CCL.

Em relação às análises de correlação, agrupamos os grupos de idosos deprimidos com e sem CCL, em relação à produção plasmática de Klotho e encontramos uma correlação positiva com os seguintes instrumentos: FAB ( $p=0,0348/r^2=1549$ ),

MATTIS Total ( $p=0,0173/r^2=0,1860$ ), RAVLT ( $p=0,0283/ r^2=0,1604$ ) e FV categoria animais ( $p=0,0105/r^2=0,2119$ ) (Figura 5). Essas correlações sugerem que quanto maior a concentração de Klotho no plasma, melhor é o desempenho do idoso nos instrumentos de avaliação neuropsicológica utilizadas nesse estudo. A partir dos dados apresentados, é possível inferir que a baixa concentração de Klotho no plasma seja indicador de comprometimento cognitivo leve em idosos com TDM. Nossos resultados são consistentes com achados de estudos prévios que mostram uma associação entre níveis baixos de Klotho e comprometimento cognitivo (Shardell *et al.*, 2015 & Semba *et al.*, 2011). Compreender fatores que podem influenciar a instalação de comprometimento cognitivo é fundamental uma vez que há uma alta variação em relação à vulnerabilidade para o desenvolvimento de declínio cognitivo significativo (Dubal *et al.*, 2014). É possível que o comportamento da Klotho na presença e ausência do CCL, nos ajude a entender melhor porque algumas pessoas desenvolvem o CCL e outros permanecem resilientes a ele. Realizamos também análises de correlação com os mesmos parâmetros com os grupos (controle, TDM e TDM associado ao CCL), no entanto, não houve correlação entre os parâmetros avaliados com tais grupos. Além disso, realizamos análises de correlação entre os sintomas depressivos e ansiosos e os níveis plasmáticos da Klotho e não encontramos associação (dados não mostrados).

Nosso estudo apresenta, dessa forma, importantes informações sobre a relação da proteína Klotho em idosos com TDM associado ou não ao CCL. Para o nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo a investigar o papel da Klotho nessas condições e que incluí a análise da relação da Klotho com o subtipo do TDM (único e recorrente) e idade de início do TDM (precoce e tardio). Os resultados deste estudo agregam dados significativos à literatura acerca da proteína Klotho demonstrando um importante link biológico entre o TDM+CCL, o TDM e suas características de subtipo e idade de início e a proteína Klotho. No entanto, estamos cientes que há limitações nesse estudo. As principais limitações seriam o número amostral e o fato de se tratar de uma amostra de conveniência. A pesquisa contou com a participação de idosos atendidos no ambulatório de psicogeriatria do Hospital das Clínicas - UFMG. Esse viés de seleção de uma amostra constituída por conveniência pode levar a falhas na detecção de associações verdadeiras, e o pequeno número de participantes pode determinar a perda de força estatística nas análises, portanto os resultados obtidos não devem ser generalizados. Outras

limitações do estudo seria a ausência de um grupo com o CCL sem o TDM, pois sem ele, não foi possível investigar se as alterações encontradas são decorrentes apenas da presença do CCL, ou se elas atuam de forma associada ao TDM. Não foi possível incluir um grupo CCL sem TDM uma vez que este perfil de paciente não era atendido no ambulatório onde ocorreu o recrutamento dos participantes para a pesquisa. Além disso, por se tratar de um estudo do tipo transversal, os resultados da presente pesquisa indicam alterações dos níveis plasmáticos da Klotho em um único momento de avaliação, em que o idoso apresenta TDM e TDM associado ao CCL. Não sabemos como a Klotho se comporta quando há remissão dos sintomas do TDM e se ela exerce influência na melhora do quadro depressivo. Assim sendo, esses dados apresentam um resultado que pode ocorrer em decorrência de inúmeras influências e não somente de um aspecto clínico, como TDM ou CCL. A partir do presente estudo não podemos afirmar que, certamente, uma alteração do nível plasmático da proteína Klotho é fator de risco para o desenvolvimento ou evolução do TDM ou CCL, ou que o TDM e CCL são responsáveis diretos pelas alterações do nível da Klotho. Concluímos que é necessária a realização de outros estudos do tipo longitudinal para identificar, possíveis fatores de causalidade.

## **6. Conclusão**

Os achados desse estudo sugerem que os níveis plasmáticos da Klotho estão mais baixos em idosos com TDM+CCL em relação aos idosos controles e idosos com TDM, especialmente naqueles idosos que apresentam TDM+CCL de início tardio (após os 60 anos de idade) e episódio único (primeiro episódio depressivo). Além disso, foi encontrada uma correlação positiva entre maiores níveis plasmáticos da Klotho nos idosos quando agrupamos os idosos com TDM e TDM+CCL com melhor desempenho nos instrumentos neuropsicológicos utilizados neste estudo. Esses resultados sugerem que a Klotho sofre declínio em idosos com TDM+CCL, provavelmente devido aos vários impactos neurobiológicos ocorridos na presença do CCL. Acreditamos que este é o primeiro estudo que mostra a relação dos níveis plasmáticos da proteína Klotho em idosos com TDM e TDM associado ao CCL e por isso, reforçamos a necessidade crescente de mais estudos que investigam o papel da Klotho nessas patologias.

## 7. Perspectiva

O próximo passo é a publicação dos dados obtidos neste estudo com o intuito de acrescentar, à literatura existente, novos dados, ainda que iniciais, a respeito da influência da Klotho no TDM e TDM associado ao CCL em idosos.

A partir do estudo presente e revisão da literatura publicada acerca da Klotho, seria interessante avaliar se constructos da psicologia positiva poderiam estar associadas a maiores níveis de concentração da proteína. Sabemos que estresse crônico (Prather *et al.*, 2015) está associado a menores níveis plasmáticos da Klotho, constatando que o nível da Klotho é modificado por alterações psicossociais, e que exercício físico pode aumentar esse níveis (Matsubara *et al.*, 2013), mas será que certos construtos associados a bem-estar, como otimismo e resiliência, são capazes de aumentar a concentração plasmática da Klotho? Esses dados seriam valiosos, uma vez que se trata de habilidades que podem ser aprendidas. Com evidências, ainda que iniciais, dos benefícios de maiores níveis da Klotho, para a longevidade, prevenção de doenças relacionadas ao envelhecimento e neuroproteção, seria de grande importância buscar intervenções práticas que poderiam contribuir para o aumento do nível plasmático da Klotho no organismo da população, e verificar se esse aumento poderia prevenir ou retardar o aparecimento das doenças associadas ao baixo nível de produção plasmática da proteína Klotho.

## 8. Referências

- Albert, M. S., DeKosky, S. T., Dickson, D., Dubois, B., Feldman, H. H., Fox, N. C., Gamst, A., Holtzman, D.M., Jagust, W.J., Petersen, R.C., Snyder, P.J., Carrillo, M.C., Thies, B. & Phelps, C.H. (2011). 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. *Alzheimer's & dementia*, 7(3), 270-279.
- Amorim, P. (2000). Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 22(3), 106-115.
- American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 5th ed. Arlington, VA: APA, 2013.
- Ballmaier, M., Narr, K. L., Toga, A. W., Elderkin-Thompson, V., Thompson, P. M., Hamilton, L., Haroon, E., Pham, D., Heinz, A. & Kumar, A. (2008). Hippocampal morphology and distinguishing late-onset from early-onset elderly depression. *American Journal of Psychiatry*, 165(2), 229-237.
- Beato, R. G., Nitrini, R., Formigoni, A. P., & Caramelli, P. (2007). Brazilian version of the frontal assessment battery (FAB). *Dement Neuropsychol*, 1, 59-65.
- Bhalla, R. K., Butters, M. A., Becker, J. T., Houck, P. R., Snitz, B. E., Lopez, O. L., Aizenstein, H.J., Raina, K.D., DeKosky, S.T. & Reynolds, C. F. (2009). Patterns of mild cognitive impairment after treatment of depression in the elderly. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 17(4), 308-316.
- Blay, S. L., Andreoli, S. B., Fillenbaum, G. G., & Gastal, F. L. (2007). Depression morbidity in later life: prevalence and correlates in a developing country. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 15(9), 790-799.
- Blay, S. L., Fillenbaum, G. G., Marinho, V., Andreoli, S. B., & Gastal, F. L. (2011). Increased health burden associated with comorbid depression in older Brazilians with diabetes. *Journal of affective disorders*, 134(1), 77-84.
- Boff, M. S., Sekyia, F. S., & de Campos Bottino, C. M. (2015). Revisão sistemática sobre prevalência de demência entre a população brasileira. *Revista de Medicina*, 94(3), 154-161.
- Brodaty, H., Peters, K., Boyce, P., Hickie, I., Parker, G., Mitchell, P., & Wilhelm, K. (1991). Age and depression. *Journal of affective disorders*, 23(3), 137-149.
- Brodaty, H., Luscombe, G., Parker, G., Wilhelm, K., Hickie, I., Austin, M. P., & Mitchell, P. (2001). Early and late onset depression in old age: different aetiologies, same phenomenology. *Journal of affective disorders*, 66(2), 225-236.

Butters, M. A., Becker, J. T., Nebes, R. D., Zmuda, M. D., Mulsant, B. H., Pollock, B. G., & Reynolds III, C. F. (2000). Changes in cognitive functioning following treatment of late-life depression. *American Journal of Psychiatry*, *157*(12), 1949-1954.

Butters, M. A., Bhalla, R. K., Mulsant, B. H., Mazumdar, S., Houck, P. R., Begley, A. E., Dew, M.A., Pollock B.G., Nebes, R.D., Becker, J.T. & Reynolds, C. F. (2004). Executive functioning, illness course, and relapse/recurrence in continuation and maintenance treatment of late-life depression: is there a relationship?. *The American journal of geriatric psychiatry*, *12*(4), 387-394.

Butters, M. A., Young, J. B., Lopez, O., Aizenstein, H. J., Mulsant, B. H., Reynolds III, C. F., DeKosky, S.T. & Becker, J. T. (2008). Pathways linking late-life depression to persistent cognitive impairment and dementia. *Dialogues in clinical neuroscience*, *10*(3), 345-357.

Borod, J. C., Goodglass, H., & Kaplan, E. (1980). Normative data on the Boston diagnostic aphasia examination, parietal lobe battery, and the Boston naming test. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, *2*(3), 209-215.

Brucki, S. M. D., Malheiros, S. M. F., Okamoto, I. H., & Bertolucci, P. H. (1997). Normative data: category verbal fluency. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, *55*(1), 56-61.

Byers, A. L., Yaffe, K., Covinsky, K. E., Friedman, M. B., & Bruce, M. L. (2010). High occurrence of mood and anxiety disorders among older adults: The National Comorbidity Survey Replication. *Archives of general psychiatry*, *67*(5), 489-496.

Miller, M. D., & Towers, A. (1991). A manual of guidelines for scoring the Cumulative Illness Rating Scale for Geriatrics (CIRS-G). *Pittsburgh, PA: University of Pittsburgh*.

Cotta, M. F., Malloy-Diniz, L. F., Nicolato, R., de Moares, E. N., Rocha, F. L., & de Paula, J. J. (2012). O Teste de Aprendizagem Auditivo-Verbal de Rey (RAVLT) no diagnóstico diferencial do envelhecimento cognitivo normal e patológico. *Contextos clínicos*, *5*(1), 10-25.

Del Porto, J. A. (1989). Aspectos gerais das escalas para avaliação de depressão. In *Escalas de avaliação para monitorização de tratamento com psicofármacos* (pp. 93-105). Escola Paulista de Medicina.

Diamond, A. (2013). Executive functions. *Annual review of psychology*, *64*, 135-168.

Diniz, B. S., Butters, M. A., Albert, S. M., Dew, M. A., & Reynolds, C. F. (2013). Late-life depression and risk of vascular dementia and Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis of community-based cohort studies. *The British Journal of Psychiatry*, *202*(5), 329-335.

Diniz, B. S., Reynolds III, C. F., Begley, A., Dew, M. A., Anderson, S. J., Lotrich, F., Erickson, K.I., Lopez, O. Aizenstein, H., Sibille, E.L. & Butters, M. A. (2014). Brain-derived neurotrophic factor levels in late-life depression and comorbid mild cognitive impairment: a longitudinal study. *Journal of psychiatric research*, *49*, 96-101.

Diniz, B. S., Sibille, E., Ding, Y., Tseng, G., Aizenstein, H. J., Lotrich, F., Becker, J.T., Lopez, O.L., Lotze, M.T. Klunk, W.E. Reynolds III, C. F & Butters, C.F. (2015). Plasma biosignature and brain pathology related to persistent cognitive impairment in late-life depression. *Molecular psychiatry*, 20(5), 594-601.

Djernes, J. K. (2006). Prevalence and predictors of depression in populations of elderly: a review. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 113(5), 372-387.

Dotson, V. M., Beydoun, M. A., & Zonderman, A. B. (2010). Recurrent depressive symptoms and the incidence of dementia and mild cognitive impairment. *Neurology*, 75(1), 27-34.

American Psychiatric Association. (2002). *Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: texto revisado (DSM-IV-TR)*. Artmed.

Dubal, D. B., Yokoyama, J. S., Zhu, L., Broestl, L., Worden, K., Wang, Sturm, V.E., Kim, D. Klein, E.K., Yu, G., Ho, K., Eliertson, K.E., Yu, L., Kuro-o, M., De Jagar, P.L., Coppola, G., Small, G.W., Bennett, D.A., Kramer, J.H., Abraham, C.R., Miller, B.L. & Mucke, L. (2014). Life extension factor Klotho enhances cognition. *Cell reports*, 7(4), 1065-1076.

Dubal, D. B., Zhu, L., Sanchez, P. E., Worden, K., Broestl, L., Johnson, E., Ho, K., Gui-Qui, H., Daniel, Y., Betourne, K.A., Masliah, E., Abraham, C.R., Mucke, L., & Kuro-o, M. (2015). Life extension factor klotho prevents mortality and enhances cognition in hAPP transgenic mice. *Journal of Neuroscience*, 35(6), 2358-2371.

Dubois, B., Slachevsky, A., Litvan, I., & Pillon, B. F. A. B. (2000). The FAB A frontal assessment battery at bedside. *Neurology*, 55(11), 1621-1626.

Fleisher, A. S., Sowell, B. B., Taylor, C., Gamst, A. C., Petersen, R. C., & Thal, L. J. (2007). Clinical predictors of progression to Alzheimer disease in amnesic mild cognitive impairment. *Neurology*, 68(19), 1588-1595.

Fiske, A., Wetherell, J. L., & Gatz, M. (2009). Depression in older adults. *Annual review of clinical psychology*, 5, 363-389.

Fuentes, D., Malloy-Diniz, L. F., de Camargo, C. H. P., & Cosenza, R. M. (2014). *Neuropsicologia-: Teoria e Prática*. Artmed Editora.

Gold, P. W., Licinio, J., & Pavlatou, M. G. (2013). Pathological parainflammation and endoplasmic reticulum stress in depression: potential translational targets through the CNS insulin, klotho and PPAR- $\gamma$  systems. *Molecular psychiatry*, 18(2), 154-165.

Gold, P. W., Machado-Vieira, R., & Pavlatou, M. G. (2015). Clinical and biochemical manifestations of depression: relation to the neurobiology of stress. *Neural plasticity*, 2015.

Goodglass, H., Kaplan, E., & Weintraub, S. (1983). *Boston naming test*. Philadelphia: Lea & Febiger.

Hamilton, M. (1960). A rating scale for depression. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 23(1), 56-62.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. População. <http://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/>  
Acessado em: 13/10/2016

Koenig, H. G., & Blazer, D. G. (1992). Epidemiology of geriatric affective disorders. *Clinics in geriatric medicine*, 8(2), 235-251.

Kuro-o, M. (2009). Klotho and aging. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1790(10), 1049-1058.

Kuro-o, M., Matsumura, Y., Aizawa, H., Kawaguchi, H., Suga, T., Utsugi, T., Ohyama, Y., Kurabayashi, M., Kaname, T., Kume, E., Iida, A., Shiraki-Iida, T., Nishikawa, S., Nagai, R., Nabeshima, Y., & Iwasaki, H. (1997). Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *nature*, 390(6655), 45-51.

Lee, J. S., Potter, G. G., Wagner, H. R., Welsh-Bohmer, K. A., & Steffens, D. C. (2007). Persistent mild cognitive impairment in geriatric depression. *International Psychogeriatrics*, 19(01), 125-135.

Malloy-Diniz, L. F., Fuentes, D., & Cosenza, R. M. (2013). *Neuropsicologia do envelhecimento: uma abordagem multidimensional*. Artmed Editora.

Malloy-Diniz, L. F., Lasmar, V. A. P., Gazinelli, L. D. S. R., Fuentes, D., & Salgado, J. V. (2007). The Rey auditory-verbal learning test: applicability for the Brazilian elderly population. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 29(4), 324-329.

Martinowich, K., Manji, H., & Lu, B. (2007). New insights into BDNF function in depression and anxiety. *Nature neuroscience*, 10(9), 1089-1093.

Matsubara, T., Miyaki, A., Akazawa, N., Choi, Y., Ra, S. G., Tanahashi, K., Okiawa, S., & Maeda, S. (2013). Aerobic exercise training increases plasma Klotho levels and reduces arterial stiffness in postmenopausal women. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, ajpheart-00429.

Mattis, S. (1988). *Dementia Rating Scale: DRS: Professional Manual*. PAR.

Mirra, S. S., Heyman, A., McKeel, D., Sumi, S. M., Crain, B. J., Brownlee, L. M., Vogel, S.F., Hughes, P.J., van Belle, G., & Berg, L. (1991). The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD) Part II. Standardization of the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Neurology*, 41(4), 479-479.

Nagai, T., Yamada, K., Kim, H. C., Kim, Y. S., Noda, Y., Imura, A., Nabeshima, Y., & Nabeshima, T. (2003). Cognition impairment in the genetic model of aging klotho gene mutant mice: a role of oxidative stress. *The FASEB Journal*, 17(1), 50-52.

- Naismith, S. L., Norrie, L. M., Mowszowski, L., & Hickie, I. B. (2012). The neurobiology of depression in later-life: clinical, neuropsychological, neuroimaging and pathophysiological features. *Progress in neurobiology*, 98(1), 99-143.
- Nebes, R. D., Pollock, B. G., Houck, P. R., Butters, M. A., Mulsant, B. H., Zmuda, M. D., & Reynolds, C. F. (2003). Persistence of cognitive impairment in geriatric patients following antidepressant treatment: a randomized, double-blind clinical trial with nortriptyline and paroxetine. *Journal of psychiatric research*, 37(2), 99-108.
- Pacheco, A. P. A. D. S., & Goncalves, M. (2014). Klotho: its various functions and association with sickle cell disease subphenotypes. *Revista brasileira de hematologia e hemoterapia*, 36(6), 430-436.
- Palmer, K., Bäckman, L., Winblad, B., & Fratiglioni, L. (2008). Mild cognitive impairment in the general population: occurrence and progression to Alzheimer disease. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 16(7), 603-611.
- Palmer, K., Di Iulio, F., Varsi, A. E., Gianni, W., Sancesario, G., Caltagirone, C., & Spalletta, G. (2010). Neuropsychiatric predictors of progression from amnesic-mild cognitive impairment to Alzheimer's disease: the role of depression and apathy. *Journal of Alzheimer's Disease*, 20(1), 175-183.
- Paroni, G., Seripa, D., Fontana, A., D'Onofrio, G., Gravina, C., Urbano, M., Addante, F., Lozupone, M., Copetti, M., Pilotto, A., Panza, F., & Greco, A. (2016). Klotho Gene and Selective Serotonin Reuptake Inhibitors: Response to Treatment in Late-Life Major Depressive Disorder. *Molecular neurobiology*, 1-12.
- Pavlatou, M. G., Remaley, A. T., & Gold, P. W. (2016). Klotho: a humeral mediator in CSF and plasma that influences longevity and susceptibility to multiple complex disorders, including depression. *Translational psychiatry*, 6(8), e876.
- Petersen, R. C. (2011). Mild cognitive impairment. *New England Journal of Medicine*, 364(23), 2227-2234.
- Petersen, R. C., Caracciolo, B., Brayne, C., Gauthier, S., Jelic, V., & Fratiglioni, L. (2014). Mild cognitive impairment: a concept in evolution. *Journal of internal medicine*, 275(3), 214-228.
- Petersen, R. C., Smith, G. E., Waring, S. C., Ivnik, R. J., Tangalos, E. G., & Kokmen, E. (1999). Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Archives of neurology*, 56(3), 303-308.
- Prather, A. A., Epel, E. S., Arenander, J., Broestl, L., Garay, B. I., Wang, D., & Dubal, D. B. (2015). Longevity factor klotho and chronic psychological stress. *Translational psychiatry*, 5(6), e585.
- Prince, M., Bryce, R., Albanese, E., Wimo, A., Ribeiro, W., & Ferri, C. P. (2013). The global prevalence of dementia: a systematic review and metaanalysis. *Alzheimer's & Dementia*, 9(1), 63-75.

Porto, C. S., Fichman, H. C., Caramelli, P., Bahia, V. S., & Nitrini, R. (2003). Brazilian version of the Mattis dementia rating scale: diagnosis of mild dementia in Alzheimer's disease. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, *61*(2B), 339-345.

Radanovic, M., Carthery-Goulart, M. T., Charchat-Fichman, H., Herrera Jr, E., Lima, E. E. P., Smid, J., Porto, C.S., & Nitrini, R. (2007). Analysis of brief language tests in the detection of cognitive decline and dementia. *Dementia & Neuropsychologia*, *1*(1), 37-45.

Reisberg, B., Ferris, S. H., de Leon, M. J., Franssen, E. S. E., Kluger, A., Mir, P., Borenstein, J., Shulman, E., Steinberg, G., & Cohen, J. (1988). Stage-specific behavioral, cognitive, and in vivo changes in community residing subjects with age-associated memory impairment and primary degenerative dementia of the Alzheimer type. *Drug Development Research*, *15*(2-3), 101-114.

Rey, A. (1958). L'examen clinique en psychologie.

Reynolds III, C. F., Dew, M. A., Pollock, B. G., Mulsant, B. H., Frank, E., Miller, M. D., Houck, P.R., Schlernitzauer, M.A., Whyte, E.M., Gildengers, A., Krap, J., Lenze, E., Szanto, K., Bensasi, S., & Kuper, D.J. (2006). Maintenance treatment of major depression in old age. *New England Journal of Medicine*, *354*(11), 1130-1138.

Reynolds III, C. F., & Kupfer, D. J. (1999). Depression and aging: a look to the future. *Psychiatric Services*, *50*(9), 1167-1172.

Semba, R. D., Cappola, A. R., Sun, K., Bandinelli, S., Dalal, M., Crasto, C., Guralnik, J.M., & Ferrucci, L. (2011). Plasma klotho and mortality risk in older community-dwelling adults. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, glr058.

Semba, R. D., Moghekar, A. R., Hu, J., Sun, K., Turner, R., Ferrucci, L., & O'Brien, R. (2014). Klotho in the cerebrospinal fluid of adults with and without Alzheimer's disease. *Neuroscience letters*, *558*, 37-40.

Shardell, M., Semba, R. D., Rosano, C., Kalyani, R. R., Bandinelli, S., Chia, C. W., & Ferrucci, L. (2016). Plasma klotho and cognitive decline in older adults: findings from the InCHIANTI Study. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, *71*(5), 677-682.

Sorocco, K. H., & Lauderdale, S. (2011). Cognitive Behavior Therapy With Older Adults. *Cognitive behavior therapy with older adults*.

Stokin, G. B., Krell-Roesch, J., Petersen, R. C., & Geda, Y. E. (2015). Mild neurocognitive disorder: an old wine in a new bottle. *Harvard review of psychiatry*, *23*(5), 368.

Vaccaro, R., Borrelli, P., Abbondanza, S., Davin, A., Polito, L., Colombo, M., Vitali, S.F., Villani, S., & Guaita, A. (2017). Subthreshold Depression and Clinically Significant Depression in an Italian Population of 70–74-Year-Olds: Prevalence and Association with Perceptions of Self. *BioMed Research International*, 2017.

Winblad, B., Palmer, K., Kivipelto, M., Jelic, V., Fratiglioni, L., Wahlund, L. O., Nordberg, A., Ckman, L.B., Albert, M., Almkvist, O., Arai, H., Basun, H., Blennow, K., de Leon, M., Decarli, C., Erkinjuntti, T., Giacobini, E., Graff, C., Harday, J., Jack, C., Jorm, A., Ritchie, K., Vann Duijn, C., Visse, p., & Petersen, C.R. (2004). Mild cognitive impairment—beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. *Journal of internal medicine*, 256(3), 240-246.

Wolf, I., Levanon-Cohen, S., Bose, S., Ligumsky, H., Sredni, B., Kanety, H., ... & Rubinek, T. (2008). Klotho: a tumor suppressor and a modulator of the IGF-1 and FGF pathways in human breast cancer. *Oncogene*, 27(56), 7094-7105.

World Health Organization. Fact Sheet N° 404. September, 2015.  
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs404/en/>  
Acessado em: 09/11/2016

World Health Organization. Fact Sheet N° 381. April, 2016.  
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs381/en/>  
Acessado em: 09/11/2016

Yamamoto, M., Clark, J. D., Pastor, J. V., Gurnani, P., Nandi, A., Kurosu, H., Gurnani, P., McGuinness, O.P., Chikuda, H., Yamaguchi, M., Kawaguchi, H., Shimomura, I., Takayama, Y., Herz, J., Kahn, C.R., Rosenblatt, K.P., & Kuro-o, M. (2005). Regulation of oxidative stress by the anti-aging hormone klotho. *Journal of Biological Chemistry*, 280(45), 38029-38034.

Yokoyama, J. S., Sturm, V. E., Bonham, L. W., Klein, E., Arfanakis, K., Yu, L., Coppola, G., Kramer, J.H., Bennett, D.A., Miller, B.L., & Dubal, D. B. (2015). Variation in longevity gene KLOTHO is associated with greater cortical volumes. *Annals of clinical and translational neurology*, 2(3), 215-230.

Zeldich, E., Chen, C. D., Colvin, T. A., Bove-Fenderson, E. A., Liang, J., Zhou, T. B. T., Harris, D.A., & Abraham, C. R. (2014). The neuroprotective effect of Klotho is mediated via regulation of members of the redox system. *Journal of Biological Chemistry*, 289(35), 24700-24715.

# Anexos

## 8.1. Anexo A - Aprovação no Comitê de Ética - Plataforma Brasil

Plataforma Brasil

http://aplicacao.saude.gov.br/plataformabrasil/login.jsf;jsessionid=...

Saúde

 Informe o E-mail

 Informe a Senha

**LOGIN**

[Esqueceu a senha?](#) [Cadastre-se](#) [vã](#)

Você está em: Público > Buscar Pesquisas Aprovadas > Detalhar Projeto de Pesquisa

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA	
<b>DADOS DO PROJETO DE PESQUISA</b>	
Título Público: Depressão geriátrica, sobrecarga alostática e declínio cognitivo	
Pesquisador Responsável: Breno Sattler de Oliveira Diniz	
Contato Público: Breno Sattler de Oliveira Diniz	
Condições de saúde ou problemas estudados: Depressão maior Déficits cognitivos Comprometimento Cognitivo Leve Demência	
Descritores CID - Gerais: Demencia na doença de Alzheimer (G30.-+) Episodios depressivos Transtorno cognitivo leve	
Descritores CID - Especificos: Demencia na doença de Alzheimer (G30.-+) Episodios depressivos Transtorno cognitivo leve	
Descritores CID - da Intervenção:	
Data de Aprovação Ética do CEP/CONEP: 08/11/2013	
<b>DADOS DA INSTITUIÇÃO PROPONENTE</b>	
Nome da Instituição: Faculdade de Medicina da UFMG	
Cidade: BELO HORIZONTE	
<b>DADOS DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA</b>	
Comitê de Ética Responsável: 5149 - Universidade Federal de Minas Gerais	
Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005	
Telefone: (31)3409-4592	
E-mail: coep@prpq.ufmg.br	
<b>CENTRO(S) PARTICIPANTE(S) DO PROJETO DE PESQUISA</b>	
<input type="text"/>	
<b>CENTRO(S) COPARTICIPANTE(S) DO PROJETO DE PESQUISA</b>	
<input type="text"/>	
<b>Voltar</b>	



Este sistema foi desenvolvido para os navegadores Internet Explorer (versão 7 ou superior),  
ou Mozilla Firefox (versão 9 ou superior).

## **8.2. Anexo B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)**

### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**Projeto de pesquisa: Binômio Depressão-Demência: Avaliação de preditores clínicos, neuropsicológicos e biológicos para risco de demência e mortalidade em idosos com síndrome depressiva.**

As informações abaixo são para tirar suas dúvidas sobre o estudo que será feito e que o senhor(a) está sendo convidado a participar. Além de tirar suas dúvidas, esperamos ter sua autorização para a participação neste estudo.

Queremos fazer esta pesquisa porque hoje em dia não há informações precisas porque pacientes idosos com depressão apresentam pior desempenho em testes de memória e maior risco de desenvolver no futuro quadros demenciais, como a doença de Alzheimer. Entender os fatores que determinam este risco nos ajudará a identificar rapidamente aquelas pessoas que têm maior chance de desenvolver estes quadros e iniciar intervenções possam prevenir ou retardar este processo. Portanto, o objetivo deste trabalho é avaliar quais são os fatores que predispõem um idoso com depressão a ter maior risco de desenvolver a doença de Alzheimer ou outro quadro demencial.

Em primeiro lugar faremos uma entrevista, de aproximadamente 45 minutos, para reunir informações sobre seu estado de saúde geral e também sobre sintomas de depressão e dificuldades cognitivas que está se apresentando. Depois, você realizará uma entrevista de cerca de 2 horas em que fará uma avaliação detalhada da sua memória e cognição. Após estas avaliações, você será submetido à punção venosa no antebraço para coleta de 10 ml de sangue. Vamos armazenar o sangue para que possamos no futuro medir a concentração de substâncias no sangue que podem nos ajudar a identificar se uma pessoa tem risco aumentado de desenvolver a doença de Alzheimer ou outro quadro demencial e ter novos episódios de depressão. Armazenaremos também amostras de seu DNA e RNA para avaliar se alterações nos nossos genes podem nos ajudar a identificar se uma pessoa tem risco aumentado de desenvolver a doença de Alzheimer ou outro quadro demencial.

Após esta avaliação inicial, se identificarmos um quadro depressivo você será tratado de acordo com os melhores tratamentos disponíveis atualmente. Após o tratamento para depressão, você será acompanhado por um prazo de 5 anos. Neste acompanhamento realizaremos avaliações anuais para avaliar sua memória e cognição e colheremos novamente amostras de sangue.

O principal benefício direto da participação neste estudo é a realização de uma avaliação psiquiátrica e clínica detalhada e o tratamento de problemas de saúde como a depressão e dificuldades cognitivas. Além disto, como todos os sujeitos serão acompanhados, isto permitirá a identificação precoce de outros problemas de saúde relacionados a depressão no idoso e, logo, o seu tratamento correto. Finalmente, os resultados deste trabalho nos ajudarão a entender melhor porque alguns pacientes desenvolvem dificuldades graves de memória e quais são as melhores formas de se identificar e tratar estes quadros.

Porém existem alguns riscos associados a sua participação. Os principais riscos se relacionam à punção venosa (p.ex. dor local leve, hematoma local) e o desconforto relacionado às entrevistas para avaliação da memória e dos sintomas depressivos. Estes são riscos leves e que se resolvem sem a necessidade de tratamento específico. Todas as medidas cabíveis serão tomadas para minimizar estes riscos e desconfortos relacionados tanto a punção venosa quanto às entrevistas a serem realizadas.

Sua participação nesta pesquisa é voluntária, portanto, não implica em qualquer dano material, físico ou moral, assim como também não resulta em qualquer benefício material. As informações coletadas terão um caráter confidencial, ou seja, seu nome e do paciente não serão divulgados em

nenhuma hipótese. O resultado desta pesquisa será divulgado em artigo de revista científica, sem colocar em evidência a identidade dos participantes.

Você não terá nenhuma despesa, sendo de responsabilidade dos pesquisadores os gastos com impressão, Xerox, realização de exames ou com qualquer outra eventualidade.

Em qualquer etapa do estudo você terá acesso aos profissionais responsáveis, para esclarecimento das dúvidas que aparecerem. Os telefones para contato com o coordenador desta pesquisa é:

- Breno Satler de Oliveira Diniz, (31) 3409-9785 (Fac. Medicina UFMG)

As informações de todas as pessoas que serão analisadas neste estudo serão mantidas em completo sigilo, como manda a lei. Para isto, os pesquisadores tomarão todas as medidas necessárias para proteger, de quaisquer outras pessoas, suas informações. Seu nome será substituído por um código em todos os materiais. Seu nome e as informações que possam lhe identificar não aparecerão em nenhuma apresentação ou publicação deste trabalho. O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG, que também tem a finalidade de preservar os indivíduos que participam das pesquisas, pode também ser contatado na Av. Antônio Carlos 6627, Unidade Administrativa II, sala 2005 – CEP: 31.270-901, telefax: (31) 3409-4592.

Você não está abrindo mão dos seus direitos legais ao assinar este termo.

Você deve saber também que, a qualquer momento, pode pedir a retirada do seu consentimento de participação no trabalho sem o prejuízo do seu acompanhamento no serviço.

Confirmando que fui devidamente esclarecido sobre os objetivos e procedimentos deste estudo e, livremente, aceito participar dele.

Nome por extenso (paciente):

\_\_\_\_\_

Assinatura:

\_\_\_\_\_

Nome por extenso (responsável):

\_\_\_\_\_

Assinatura:

\_\_\_\_\_

Belo Horizonte, \_\_\_\_/\_\_\_\_/201\_\_.

Declaro que expliquei ao participante os propósitos e procedimentos do estudo.

Nome por extenso (pesquisador):

\_\_\_\_\_

Assinatura:

\_\_\_\_\_

Belo Horizonte, \_\_\_\_/\_\_\_\_/201\_\_.

(2 vias)

### 8.3. Anexo C – Folha de Aprovação



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA MOLECULAR



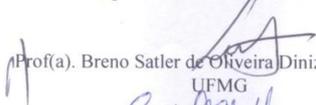
#### FOLHA DE APROVAÇÃO

**Avaliação dos níveis plasmáticos da proteína Klotho em idosos com transtorno depressivo maior e sua relação com comprometimento cognitivo**

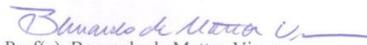
**MARIANA DE SOUZA NICOLAU**

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em MEDICINA MOLECULAR, como requisito para obtenção do grau de Mestre em MEDICINA MOLECULAR, área de concentração MEDICINA MOLECULAR.

Aprovada em 29 de junho de 2017, pela banca constituída pelos membros:

  
Prof(a). Breno Satler de Oliveira Diniz - Orientador  
UFMG

  
Prof(a). Erica Leandro Marciiano Vieira  
UFMG

  
Prof(a). Bernardo de Mattos Viana  
UFMG

  
Prof(a). Henrique Cerqueira Guimarães  
UFMG

Belo Horizonte, 29 de junho de 2017.