
RODRIGO RIBEIRO DOS SANTOS

**PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS NA DEMÊNCIA
FRONTOTEMPORAL**

**Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte-MG
2012**

RODRIGO RIBEIRO DOS SANTOS

**PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS NA DEMÊNCIA
FRONTOTEMPORAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Neurociências.

Área de concentração: Neuropsiquiatria

Orientador:

Prof. Dr. Marco Aurélio Romano-Silva

Co-orientadora:

Dra. Karen Cecília de Lima Torres

Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte-MG

2012

Este trabalho foi realizado com o auxílio das seguintes instituições:

- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)
- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)
- Guggenheim Foundation

Dedicatória

Dedico este trabalho, de modo especial, às famílias dos pacientes com demência, pela confiança depositada no atendimento prestado. Sem vocês, este estudo não se concretizaria.

Dedico, ainda, aos meus familiares, que tanto me apoiaram, deram-me suporte em todos os momentos e compreenderam a minha ausência nos compromissos familiares.

Agradecimentos

Ao Professor Marco Aurélio Romano-Silva, grande amigo e orientador desde quando eu era estudante bolsista de iniciação científica, pela imensa contribuição profissional, exemplo de pesquisador e pela amizade construída.

À Karen Cecília de Lima Torres, pelo entusiasmo, amizade e apoio durante todo o desenrolar deste trabalho, principalmente nos momentos mais difíceis, bem como pela seriedade e competência de sua orientação.

Ao Professor Helton José Reis, grande amigo de todas as horas, pela imensa contribuição, apoio e opiniões, desde a confecção do projeto.

Ao grande amigo, Professor Edgar Nunes de Moraes, cujos ensinamentos desde os plantões, quando era acadêmico, muito enriqueceram meu fazer médico.

Ao Professor Antônio Teixeira Lúcio, por acreditar no meu projeto e pela imensa ajuda nas fases iniciais.

À doutoranda Luiza Martins, pelo companheirismo, pelo seu jeito alegre e competente durante os momentos árdusos dos experimentos.

À Professora Maria Aparecida Bicalho pela imensa torcida e, sobretudo, pelo apoio e luta para localizar os pacientes.

Aos Professores Marcus Vinícius Gómez e Luiz Armando De Marco, pelos inúmeros ensinamentos e amizade.

Aos amigos do laboratório, Alexandre Magno, Bruno, Patrícia e Vitor, pela fundamental assistência e amizade.

Aos alunos de iniciação científica pela agradável e competente ajuda nos experimentos.

Aos Secretários do Programa de Pós-graduação em Neurociências Carlos Magno e Vanessa Aparecida pela boa vontade e presteza em resolver minhas questões acadêmicas.

Aos colegas do INCT Medicina Molecular, pela agradável convivência e amizade construída durante este trabalho.

Aos amigos da geriatria, pela imensa torcida e apoio ao longo dessa jornada.

Aos amigos da pós-graduação, pela harmoniosa convivência durante o curso.

A todos os amigos que, de uma forma ou de outra, me apoiaram ajudando-me a chegar aqui.

Resumo

O termo clínico demência frontotemporal (FTD) é usado para designar as condições clínicas degenerativas, decorrentes do acometimento do lobo frontal e/ou da porção anterior do lobo temporal. A FTD é subdividida em três síndromes principais: variante comportamental da FTD (bv-FTD), demência semântica e afasia progressiva não fluente. Na variante comportamental, prevalecem as alterações de comportamento; nas outras entidades clínicas a alteração de linguagem. Algumas vezes, associam-se, ainda, à doença distúrbios do movimento. Apesar de características aparentemente distintas, o diagnóstico da FTD nem sempre é fácil, o que motiva a busca por métodos capazes de elucidar o quadro, como um biomarcador molecular associado ao diagnóstico clínico.

Quanto ao processo inflamatório, envolvido na maioria das doenças neurodegenerativas, incluindo a doença de Alzheimer (AD), é frequentemente denominado "neuroinflamação". Admite-se que a neuroinflamação seja elemento importante na fisiopatologia da FTD. Portanto, no presente trabalho, estudou-se a expressão de imunomoduladores em sangue periférico de pacientes com AD e FTD o que reforça a importância do sistema imune na fisiopatologia da FTD.

Ao analisar, então, a frequência de expressão de imunomoduladores em células mononucleares do sangue periférico de pacientes com FTD, observaram-se, principalmente: redução da expressão da citocina (IL-1 α), quimiocina (CCL3) em monócitos CD14⁺, redução do receptor HLA em linfócitos T CD4⁺, aumento de TNF- α em linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺, aumento de BDNF em linfócitos T CD4⁺ além da expressiva redução de CTLA-4 em linfócitos CD4⁺.

Essas alterações observadas na expressão de imunomoléculas em células mononucleares demonstram que os processos inflamatórios que ocorrem na FTD e AD são distintos.

Abstract

Frontotemporal dementia (FTD) is an umbrella term that groups several different neurodegenerative diseases characterized by predominant destruction of the frontal and temporal lobes. It is a clinical syndrome characterized by progressive changes in behaviour, personality and/or language. FTD presents three clinical variants: behaviour variant frontotemporal dementia (bvFTD), progressive non-fluent aphasia (PNFA) and semantic dementia (SD).

There is growing evidence to support that central nervous system (CNS) function is integrated with the immune system. Crosstalking between CNS and the immune system occurs mainly via cytokines, neurotransmitters and neuropeptide secretion. Peripheral cytokines can also promote signalling inside CNS. Studies suggest that inflammation is involved in the neurodegenerative cascade of dementias. Immunological mechanisms may be part of the pathophysiological process in frontotemporal dementia (FTD), but up till now only vague evidence of such mechanisms has been presented. The aim of this study was to compare the expression of immune molecules in peripheral blood mononuclear cells of FTD to Alzheimer disease (AD).

This study shows an increased expression of TNF- α in CD4⁺ and CD8⁺ T cells from frontotemporal dementia patients and an increase of BDNF in CD4⁺. A reduction of IL-1 α , CCL3 in monocytes CD14⁺, and CTLA-4 and HLA-DR in CD4⁺ were also observed.

These alterations clearly show that immune system involved in FTD and AD is different.

Lista de abreviaturas¹

¹¹ C-PIB	¹¹ C-labeled Pittsburgh Compound-B
AD	Doença de Alzheimer
APC	Célula apresentadora de antígeno
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
BPSD	Sintomas comportamentais e psicológicos relacionados à demência
bv-FTD	Variante comportamental da demência frontotemporal
CBA	<i>Cytometric bead array</i>
CBD	Degeneração corticobasal
Cy5	Fluorocromo cianina - 5
DLDH	<i>Dementia lacking distinctive histopatologic features</i> (demência sem achado histopatológico específico)
DSM-IV	Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais - 4ª edição
FITC	Fluorocromo fluoresceína
FTD	Demência frontotemporal
FTLD	Degeneração lobar frontotemporal
FTLD-U	FTLD com ubiquitina positiva
FUS	<i>Fused in sarcoma protein</i>
GCP-ICH	<i>Good Clinical Practice-International Conference on Harmonisation</i>
IL	Inteleucina
IP-10	<i>Interferon-γ-inducible protein-10</i>
LPS	Lipopolissacarídeo
MCP-1	<i>Monocyte chemotactic protein-1</i>
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
MMSE	Mineexame do estado mental
PBMC	Células mononucleares do sangue periférico
PBS	Solução tampão fosfato

¹ Optou-se, neste estudo, pelo uso das abreviaturas em inglês, já consagrado na literatura de cunho científico.

Lista de abreviaturas

PE	Fluorocromo ficoeritrina
PNAF	Afasia progressiva não fluente
PSP	Paralisia supranuclear progressiva
RNA	Ácido ribonucleico
RPMI	Meio de cultura para células humanas e animais
SD	Demência semântica
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TDP-43	<i>TAR DNA-binding protein 43</i>
TGF- β	<i>Transforming growth factor beta</i>
		Fator de transformação do crescimento beta
TSH	Hormônio estimulante da tireoide
VDRL	<i>Venereal Disease Research Laboratory test</i> (teste para sífilis)

Lista de figuras e tabelas

Tabela 1	Anticorpos utilizados nos ensaios de citometria de fluxo	28
Figura 1	Gráfico tamanho versus granulosidade	29
Figura 2	Gráfico de fluorescência 1 versus fluorescência 2	30
Figura 3	Esquema de um gráfico box-and-whisker plot	32
Tabela 2	Perfil dos pacientes incluídos	35
Figura 4	Expressão de IL-1 α em monócitos CD14 ⁺	36
Figura 5	Expressão de IL-1 β em monócitos CD14 ⁺	37
Figura 6	Expressão de CCL3 em linfócitos CD4 ⁺	38
Figura 7	Expressão de CCL2 (A) e CXCL10 (B) em monócitos CD14 ⁺ ...	39
Figura 8	Expressão de CCR5 em linfócitos CD4 ⁺	40
Figura 9	Expressão de TNF- α em linfócitos CD4 ⁺ , linfócitos CD8 ⁺ e monócitos CD14 ⁺	41
Figura 10	Expressão de IL-6 em linfócitos CD4 ⁺ e monócitos CD14 ⁺	42
Figura 11	Expressão de IL-17 em linfócitos CD4 ⁺ e CD8 ⁺	43
Figura 12	Expressão de HLA-DR em linfócitos CD4 ⁺ e monócitos CD14 ⁺	44
Figura 13	Expressão de IL-10 em linfócitos CD4 ⁺ , linfócitos CD8 ⁺ e monócitos CD14 ⁺	45
Figura 14	Expressão de IL-4 em linfócitos CD4 ⁺	46
Figura 15	Expressão de TGF- β em linfócitos CD4 ⁺	47
Figura 16	Expressão de BDNF em linfócitos CD4 ⁺	48
Figura 17	Expressão de CD95 em linfócitos CD4 ⁺	49
Figura 18	Expressão de CD80 em monócitos CD14 ⁺ , linfócitos B CD19 ⁺ ...	50
Figura 19	Expressão de CD28 em linfócitos CD4 ⁺ (A), linfócitos CD8 ⁺	51
Figura 20	Expressão de CTLA-4 em linfócitos CD4 ⁺ (A), linfócitos CD8 ⁺	52

Figura 21	Expressão de CD45RA em linfócitos CD4 ⁺	53
Figura 22	Expressão de GM-CSF em linfócitos CD4 ⁺	54
Figura 23	Expressão de TNF- α e TGF- β em linfócitos CD4 ⁺ após estratificação do grupo AD	55
Tabela 3	Resultados estatísticos da comparação entre os grupos Controle, AD e FTD nos linfócitos T CD14 ⁺	56
Tabela 4	Resultados estatísticos da comparação entre os grupos Controle, AD e FTD nos linfócitos T CD4 ⁺	57
Tabela 5	Resultados estatísticos da comparação entre os grupos Controle, AD e FTD nos linfócitos T CD8 ⁺	57

Sumário

1. Introdução.....	1
1.1 Considerações históricas.....	2
1.2 Aspectos epidemiológicos.....	4
1.3 Aspectos clínicos.....	7
3.1 Variante comportamental da demência frontotemporal.....	8
3.2 Afasia progressiva primária.....	11
3.3 Demência Semântica.....	12
3.4 Afasia progressiva não fluente.....	12
4 Sistema Imune e neuroinflamação.....	12
2. Objetivos.....	18
1 Objetivo Geral.....	19
2 Objetivos específicos.....	19
3. População estudada, materiais e métodos.....	20
3.1 Casuística da população estudada.....	21
3.2 Critérios de inclusão e exclusão na pesquisa.....	22
3.2.1 Critérios de inclusão.....	22
3.2.2 Critérios de exclusão.....	23
3.2.3 Critérios de inclusão no grupo Controle.....	24
3.2.4 Critérios de inclusão no grupo Doença de Alzheimer.....	24
3.2.5 Critérios de inclusão no grupo Demência Frontotemporal.....	24
3.3 Coleta de sangue.....	25
3.4 Cultura celulares.....	25
3.5 Coloração das moléculas de superfície e intracelulares de linfócitos e monócitos.....	26
3.6 Citometria de fluxo.....	27
3.7 Análise no CytoSoft.....	29
3.8 Análise estatística.....	30
4. Resultados.....	33
6. Conclusão.....	74
7. Bibliografia.....	76

1. INTRODUÇÃO



1.1 Considerações históricas

A demência frontotemporal (FTD) é termo clínico usado para designar as condições clínicas degenerativas decorrentes do acometimento do lobo frontal e/ou a porção anterior do lobo temporal. Apesar de a FTD comumente ser empregada por alguns autores como sinônimo de degeneração lobar frontotemporal (FTLD), adotou-se, neste trabalho, o uso do termo FTD para descrever os aspectos clínicos, reservando o termo FTLD para referir aos aspectos patológicos dessas síndromes como recomendado na literatura (1,2).

Com efeito, a FTD é subdividida em três síndromes principais: variante comportamental da FTD (bv-FTD), demência semântica (SD), afasia progressiva não-fluente (PNAF) e pode-se associar a distúrbios extrapiramidais do movimento (parkinsonismo e degeneração corticobasal [CBD]), ou, ainda, à doença do neurônio motor (FTD-NMD) (3,4).

Historicamente, a literatura reconhecia a FTD como doença de Pick em homenagem ao neurologista Arnold Pick, quem primeiro relatou essa condição em 1892, em um paciente de 71 anos (5). Pick descreveu-a, originalmente, como um quadro clínico que se caracteriza pela deterioração progressiva da cognição e com uma afasia grave incomum cuja avaliação *post-mortem* demonstrava atrofia do lobo temporal esquerdo. Hoje, o diagnóstico desse paciente seria de demência semântica (SD), que é uma das entidades nosológicas que compõem a FTD. Doze anos após (1904), esse mesmo autor publicou um artigo com relato de três novos casos (6).

Em 1911, Alzheimer descreveu alterações microscópicas que seriam características da FTD. Tais alterações se referiam a inclusões neuronais argentofílicas e às células edemaciadas, localizadas em lobos frontais e temporais atrofiados. Alois nomeou, então, essas alterações corpúsculos e células de Pick respectivamente. Mas somente alguns anos depois, o epônimo doença de Pick foi utilizado. Inicialmente, por Onari e Spatz em 1926 (7) e fortalecido por Carl Schneider (8,9). Entretanto, esses autores concentraram seus esforços no componente frontal da síndrome (1).

Na década de 1980, pesquisadores de Lund na Suécia relataram uma série de casos de pacientes dementados, com degeneração do lobo frontal. Tais pacientes não apresentavam os corpúsculos de Pick e, portanto, empregou-se o nome degeneração frontal do tipo não

Alzheimer (10,11). No mesmo período, outros pesquisadores em Manchester, no Reino Unido, também publicaram trabalhos sobre estudos clinicopatológicos em demência pré-senil e empregaram o termo demência do tipo frontal (12,13). Pouco depois, outros grupos descreveram casos semelhantes empregando outros nomes. Knopman, por exemplo, utilizou o termo demência carecendo de achados histopatológicos distintos (14) enquanto Miller preferiu o termo degeneração do lobo frontal (15). Todos esses trabalhos chamaram a atenção para a sintomatologia decorrente da atrofia do lobo frontal, ressaltando alterações na conduta social, no controle inibitório, no comportamento sexual, bem como alterações do apetite, do comportamento ritualístico e estereotipado além da redução da empatia e desenvolvimento de apatia.

Afinal, o emprego de diferentes nomes para descrever a mesma condição clínica e a falta de um critério diagnóstico único motivaram a confecção de um consenso para normatizar o nome e os critérios diagnósticos. Deve-se, portanto, ao trabalho conjunto do grupo de Lund e de Manchester, o primeiro critério clínico para o diagnóstico FTD (16). Mas as afasias ainda não eram consideradas dentro de grupo. Somente quatro anos depois, numa nova reunião de especialistas, houve a inclusão das afasias progressivas primárias dentro desse grupo. Surgiu, assim, a sugestão do emprego do termo degeneração lobar frontotemporal (FTDL) (3).

Assim sendo, os diversos nomes até então empregados, como degeneração do lobo frontal do tipo não Alzheimer, doença de Pick, complexo demencial de Pick, demência do lobo frontal, degeneração do lobo frontal, demência pré-senil não deveriam mais ser mais adotados. Apesar de os critérios de Neary e colaboradores (3) constituírem um marco em termos de diagnóstico dessa síndrome, esse critério era destinado, primariamente, à pesquisa.

Mais recentemente, foi publicado o consenso internacional para o diagnóstico de bv-FTD, por grau de probabilidade (FTD possível, provável e definitivo), a exemplo de outras demências (17). Tal consenso foi baseado nos critérios revisados em 2007, por Rascovsky e colaboradores (2).

Dessa forma, no encontro de pesquisadores realizado em 2000, foram revisados os marcadores neuropatológicos da FTLD em decorrências das novas descobertas. Nesse encontro foi proposto, também, um guia para orientar os médicos em geral (aqueles não vinculados diretamente aos centros de pesquisa em FTD) no processo diagnóstico dessa

síndrome (18). Já em 2006, com os avanços da genética molecular, bioquímica e métodos imuno-histoquímicos ampliaram-se as proteinopatias com a inclusão da TDP-43, reconhecida, então, como o achado histopatológico mais comum da FTLD com ubiquitina positiva (FTLD-U) (com ou sem doença do neurônio motor associado) e, também, da esclerose lateral amiotrófica (19,20). Esses avanços permitiram sistematizar os diversos achados presentes na degeneração lobar frontotemporal. Posteriormente, em 2007 foi publicado um novo consenso para diagnóstico histopatológico da FTLD, sendo descritos 7 tipos distintos de padrões histopatológicos (21).

Didaticamente, pode-se separar a FTLD em dois grupos principais: FTLD com Tau⁺ e FTLD Tau⁻. Pouquíssimos casos não se encaixarão nesses dois grupos e serão classificados como FTLD Tau⁻ e sem inclusões Ub ou p62. Este último grupo, que representa aproximadamente 10% dos pacientes em estudo, é heterogêneo, composto por uma coleção de condições incomuns. Um percentual significativo desses pacientes apresenta imunorreatividade para proteína FUS (22,23) Estão, aqui incluídos, também, os pacientes com doenças por prion e DLDH.

Contudo, apesar dos avanços tanto no reconhecimento das formas clínicas de FTD quanto dos marcadores histopatológicos da FTLD, não há ainda clara associação clinicopatológica.

1.2 Aspectos epidemiológicos

Sabe-se que o processo de envelhecimento da população gera mudança significativa nos padrões de morbimortalidade da população, que passa a enfrentar o impacto das doenças cronicodegenerativas, especialmente as síndromes demenciais. Ressalta-se que as demências contribuem com 11,2% dos anos vividos com incapacidade por pacientes acima de 60 anos de idade. Esse percentual é superior ao causado por acidentes vasculares encefálicos (9,5%); por doenças musculoesqueléticas (8,9%); por doenças cardiovasculares (5,0%); por todas as formas de câncer (2,4%) (24). Ressalta-se, ainda, que demências não ocorrem somente em idosos. Nas demências de início precoce (pré-senil), apesar de não serem as mais prevalente, das demências, o impacto social e econômico sobre os familiares pode ser muito maior.

No Brasil, embora as estimativas não sejam fidedignas em relação à real prevalência da demência, estima-se que há cerca de um milhão de idosos afetados. O primeiro estudo de

base populacional, realizado em nosso meio, neste sentido, foi o de Veras e Coutinho no Rio de Janeiro cujo objetivo era estimar a prevalência de síndrome cerebral orgânica. Esses pesquisadores detectaram 6% de casos de síndrome cerebral orgânica na região de Copacabana; 9,8% na região do Méier; e 27,8% no distrito de Santa Cruz. Com relação aos dados de Santa Cruz, questiona-se a interferência da escolaridade na sensibilidade do instrumento usado para a identificação dos casos dessa síndrome (25). A incidência mundial anual de demência é estimada em 7,5 casos a cada 1000 habitantes idosos. Taxas semelhantes foram encontradas na América Latina quando se analisaram os estudos epidemiológicos desenvolvidos nessa região. Na América Latina, a taxa de prevalência é de 7,1% e no Brasil varia entre os estudos de 6,0% a 7,1% (26).

No estudo de base populacional conduzido na cidade de Catanduva, São Paulo, por Herrera e colaboradores (27) encontrou-se prevalência de demência de 7,1%, em indivíduos acima de 65 anos de idade. A doença de Alzheimer foi responsável por 55,1% dos casos; a demência vascular por 9,3%; e a doença de Alzheimer, associada à demência vascular, por 14,4%. A demência frontotemporal (FTD) e a demência com corpos de Lewy responderam, respectivamente, por 2,6% e 1,7% dos casos. Já um estudo retrospectivo, realizado em um centro universitário especializado em distúrbios cognitivos no Brasil detectou que a FTD era a terceira causa (5,1% dos casos) mais comum de demência. Nesse estudo foram analisados os prontuários dos pacientes atendidos no período de 1991 a 2001 (28).

Mais recentemente, um grupo da Suécia publicou a prevalência de FTD nos pacientes atendidos naquele serviço, no período de 1974 a 2004 e reporta uma prevalência de FTD de 4%, com idade média de 73 anos (variava de 52-86 anos). Todos os pacientes desse estudo, além do diagnóstico clínico de demência, tiveram o diagnóstico etiológico de demência confirmado por avaliação *post-mortem* neuropatológica (29).

FTD, até alguns anos, era considerada uma demência rara, restrita aos centros especializados. Contudo, com o avanço da neurociência e o aumento da possibilidade de diagnosticar os pacientes com elevado grau de confiabilidade, ainda vivos, observa-se que a prevalência dessa condição é maior que se admitia no passado. Nos pacientes entre 45 e 65 anos de idade, a prevalência dela se aproxima da doença de Alzheimer. Considerando-se apenas os pacientes com idade inferior a 50 anos, possivelmente ela seja a demência mais prevalente (30). Tipicamente, todas as formas de FTD iniciam-se entre 45-65 anos de idade

(casos extremos aos 20 e 90 também já foram descritos), contudo, os pacientes com PNFA eram mais velhos (30-35).

Em relação a incidência da FTD de início tardio (após 65 anos), os dados são mais variados. Tradicionalmente, considerava-se que sua ocorrência após os 70 anos fosse rara e isso é corroborado pelos estudos realizados no Japão (3%) (36). Entretanto, outros estudos demonstram que a prevalência de FTD de início tardio é mais comum que se pensava anteriormente. No estudo realizado por Johnson e colaboradores (37), comparando-se a data de início da doença em três centros universitários americanos e um alemão, demonstrou que o início da doença se deu entre 35 a 80 anos de idade e que aproximadamente 25% dos pacientes com bv-FTD ou SD foram diagnosticados depois dos 65 anos. Já com relação aos pacientes com PNFA, 50% dos casos eram de aparecimento tardio. Já no estudo populacional na província de Zuid, na Holanda, 22% dos pacientes tiveram diagnóstico no início dos sintomas, após 65 anos. Esse mesmo estudo estimou a prevalência de FTD naquela região em 9.4%, na faixa etária de 60-69 anos e 3.8% na faixa etária de 70-79 anos (35).

No entanto, segundo um levantamento epidemiológico realizado em Gothenburg, na Suécia, com idosos acima de 85 anos, 19% dos casos pesquisados, apresentaram síndrome do lobo frontal, e 3%, FTD (38). Admite-se, hoje, que FDT ocorre em torno de 5%-15% dos pacientes dementados, sendo a segunda causa mais frequente de demência na população pré-senil. A prevalência de FTD na população entre 45-65 anos de idade, estimada nos dois maiores estudos de base populacional, é de 15 casos por 100 mil habitantes enquanto a prevalência de demência (todas as causas, degenerativas ou não) varia de 81 a 98 pacientes por 100 mil habitantes (30,34).

Parece que, em decorrência de fatores genéticos, essa doença seja mais prevalente no Ocidente que no Oriente. Nos Estados Unidos da América e na Europa, parece que um terço dos portadores de FTD apresentaram casos de familiares vitimados por essa síndrome enquanto no Japão, casos dessa natureza são mais esporádicos (39,40).

Em relação à distribuição de cada subtipo de FTD, os estudiosos chegaram a um consenso: a bv-FTD é a forma mais prevalente. Contudo, a proporção de cada tipo é variável entre os estudos. Assim, de acordo com alguns trabalhos, a proporção de bv-FTD é de aproximadamente 50% (31,37,41); em outros, ela atinge aproximadamente 75% dos casos (34).

Quanto à variação da incidência dessa doença entre os sexos, é prematuro dizer se há diferença, pois a literatura não registra, ainda, dados confiáveis em quantidade suficiente e os relatos são, algumas vezes, contraditórios. Os dados oriundos de estudos realizados em Manchester, mostram incidência igual entre os sexos na bv-FTD e PNFA, mas preponderância de mulheres com SD (2:1). Em outros estudos, observou-se um predomínio do sexo masculino, particularmente, nos pacientes com bv-FTD, SD ou com FTD-NMD (34,37,42). Dois outros estudos, porém, não encontraram diferença estatística significativa na distribuição de FTD, entre os sexos (35,41).

Em síntese, dir-se-ia que a evolução DFT tende a ser mais rápida que da doença de Alzheimer (43,44) com estimativa de sobrevida de aproximadamente de 8 anos como inicialmente descrita e, mais recentemente, de aproximadamente 6 anos (35). Para os pacientes do subtipo bv-FTD, esses valores variam de 2 a 20 anos, 3 a 15 anos para SD e 4 a 12 anos, para PNFA (1). A presença de anormalidades neurológicas a ela associadas reduz a sobrevida dos pacientes (45), tornando a forma FTD-NMD a mais grave, com sobrevida de apenas 2 anos (46).

1.3 Aspectos clínicos

Ao contrário da doença de Alzheimer, tanto a apresentação clínica quanto o substrato histopatológico da FTD são heterogêneos. Duas são as formas principais de manifestação da demência frontotemporal (FTD): variante comportamental da FTD (bv-FTD) e a afasia progressiva primária. Esta última é representada pela demência semântica (SD) e pela afasia progressiva não-fluente (PNAF). Essas entidades nosológicas podem associar-se, ainda, a distúrbios cujo comprometimento neurológico são classicamente descritos como motores. Incluem-se, aqui, as doenças que se desenvolvem com distúrbios extrapiramidais do movimento (paralisia supranuclear progressiva [PSP] e degeneração corticobasal [CBD]), ou, ainda, aquelas ligadas ao comprometimento do neurônio motor (FTD-NMD) como, por exemplo, esclerose lateral amiotrófica. Todas essas condições devem apresentar os sinais de uma doença neurodegenerativa. Dessa forma, sinais ou sintomas de comprometimento progressivo da cognição ou do comportamento, por um período mínimo de 6 meses, são necessários. Tal comprometimento deve ocasionar declínio no desempenho de testes neuropsicológicos e, além disso, repercutir na funcionalidade do paciente. Tais alterações não podem, contudo, serem decorrentes de comorbidade clínica (3,4).

3.1 Variante comportamental da demência frontotemporal

Ao contrário da doença de Alzheimer, cujas formas clássicas o primeiro sintoma é uma redução na memória episódica, na variante comportamental da demência frontotemporal (bv-FTD), a forma mais prevalente da FTD, marcadamente se manifesta por meio de alteração nas condutas sociais, na personalidade e controle emocional em relação ao estado pré-mórbido. São características dessa variante: apatia (inércia e perda da motivação), desinibição social e desatenção (3). Os pacientes vítimas de bv-FTD podem ser, didaticamente, subdivididos em dois grupos contrastantes, de acordo com a sintomatologia predominante: um grupo em que prevalecem apatia, inércia e perda da volição; outro em que prevalecem desinibição, falta de atenção e hiperatividade sem propósito (47). Cabe ressaltar que essas duas formas de apresentação podem estar presentes no mesmo paciente e que o meio social pode influenciar na ocorrência destas.

Como tais alterações decorrem de alterações degenerativas, as quais provocam desintegração dos circuitos cerebrais envolvidos no controle comportamental, emocional, bem como na adaptação social e nos processo de tomada de decisão, o aparecimento dessa sintomatologia é insidioso e progressivo (48,49). Assim, é muito difícil estabelecer o início dos sintomas da doença, especialmente pela perda da autopercepção (anosognosia), que é muito comum ocorrer nesses pacientes. A entrevista isolada com as pessoas que convivem de perto com o paciente é fundamental para elucidar esses declínios. Contudo, as alterações precoces no afeto e a redução na autopercepção são elementos que podem ser úteis para distinguir a FTD e da AD (50,51). Apesar de a memória estar preservada nas fases iniciais da bv-FTD, cerca de 10% dos pacientes com FTD são acometidos pela síndrome amnésica como sintoma inicial da doença (52,53).

Com efeito, os principais sintomas da bv-FTD são: redução do *insight* (anosognosia), apatia, desinibição, desatenção, comportamento alimentar anormal, comportamento estereotipado e ritualístico, diminuição da empatia, rigidez mental, síndrome *disexecutiva* (disfunção das funções executivas), alteração da linguagem (adinamismo) e alteração na memória (11,54,55). Cada um desses sintomas será descrito a seguir:

- Anosognosia- Redução da consciência pessoal, com perda da percepção dos próprios sintomas mentais. Isso fica evidente pela franca negação da

sintomatologia ou falta de preocupação com as consequências sociais, ocupacionais e financeiras, decorrentes de estado mental do paciente (54-56).

- Apatia - Sintoma praticamente presente em todos os pacientes, manifestado por passividade, inércia e inatividade associadas com isolamento social. Paciente pode permanecer horas sentado ou deitado quieto, descarta os robes. Pode ser confundido com depressão, mas, ao contrário da depressão, não apresentam sentimento de culpa, tristeza e pessimismo (57-61). Apatia nesses pacientes está relacionada à região medial dos lobos frontais incluindo o córtex dorsal anterior do cíngulo, região medial do córtex órbita frontal medial, porção inferior dos lobos frontais, região dorsolateral direita do córtex pré-frontal e região anterior do lobo temporal (47,62).
 - Desinibição - Sintoma comum nas fases iniciais. Parece estar particularmente relacionado com a atrofia do córtex do órbita frontal medial. Contudo a porção inferior dos lobos frontais, da região anterior do lobo temporal e da região anterior do lobo temporal e do córtex dorsolateral do córtex pré-frontal esquerdo também estão afetadas (62,63). É detectada pela presença de comportamentos incongruentes com o comportamento pré-morbido do paciente. Pacientes agem de forma impulsiva, sem se preocupar com as consequências de seus atos, perdem o tato social e apresentam comportamento anômico (*faux pas*). Irritabilidade, inquietude, hiperatividade, agressividade, gestos inapropriados, violação dos espaços interpessoais, comentários rudes com conteúdos sexuais, exibicionismo e comportamentos explosivos podem ocorrer (55,64-66). O paciente pode ainda se tornar um jogador patológico (67), envolver-se em furtos ou desenvolver hiperreligiosidade (17,68).
 - Comportamento alimentar anormal - Trata-se de alteração no padrão alimentar. Os indivíduos tornam-se tipicamente gulosos, vorazes para alimentar, mudam as preferencias alimentares, com fixação por certos tipos de alimentos (carboidratos e doces por exemplo), têm dificuldade em experimentar novas comidas. Com o avançar da doença, podem surgir combinações bizarras de alimentos e hiperoralidade. Consumo excessivo de líquidos, bebidas alcoólicas e cigarro ocorrem com frequência (69-71). E, com o avançar da doença, podem aparecer ainda hiperoralidade e hipersexualidade, sintomas da síndrome de Klüver-Bucy.
-

Esta geralmente ocorre quando há lesão extensa da amígdala e pode ocorrer também nos pacientes com AD (72).

- Comportamentos estereotipados e ritualísticos - Repetições excessivas de atos motores ou verbais simples (maneirismos, bater palmas, esfregar as mãos, movimentos com lábios ou bater os pés) estão presentes em até 75% dos pacientes, mas esses atos não apresentam grande valor discriminatório no diagnóstico diferencial. Comportamentos mais complexos, por exemplo, colecionismo (lixo, pedras, selos, papéis), preocupações ritualísticas com limpeza e vestuário, ou andar no mesmo ritmo e trajeto também são comuns. Repetições do mesmo termo ou expressões nas diversas situações de linguagem também ocorrem (47,69,73,74).
- Diminuição da empatia e embotamento do afeto - Perdem a preocupação com aspectos emocionais que envolvem outras pessoas tornando-se aparentemente egoístas ou desrespeitosos. A compreensão e expressão das emoções estão reduzidas. Frequentemente, não se observa pesar diante da morte de um familiar, ou remorso após um acidente, ou período de grande violência. A falta de sentimentos pelos cuidadores (familiares ou não) é uma das principais causas de estresse para o cuidador. As respostas dos pacientes são desprovidas de emoção (robóticas). Sintomas depressivos podem ocorrer, e muitos pacientes com FTD acabam recebendo o diagnóstico de transtorno do humor, antes do quadro demencial ficar evidente. Os sintomas depressivos são geralmente atípicos podendo ser uma pista para o diagnóstico de FTD (47,75,76). Já delírios e alucinações são mais raros, mas, quando presentes, são tipicamente de grandiosidade ou bizarros (77). Já na FTD-MND, esses sintomas psicóticos são prevalentes e podem, inclusive, anteceder os sintomas motores (78,79).
- Rigidez mental - Egocentrismo e perda da capacidade mental de adaptar-se evidenciada pela falta da capacidade de perceber o ponto de vista do outro, pela aderência fixa à rotina, à falta de criatividade e incapacidade de adaptar-se diante novas circunstâncias (3). A falta de atitude abstrata, associada à redução da empatia, forma a base para a teoria da mente (ToM), que é o elemento central presente também no autismo ou na síndrome de Asperger (80,81).
- Síndrome *disexecutiva* - Ocasiona a redução dos quatro componentes da função executiva: volição, planejamento, ação objetiva (transformação de uma intenção

em uma atividade produtiva) e execução efetiva (capacidade de monitorar, corrigir, regular a intensidade, o tempo e outros aspectos qualitativos da ação) (82). Apesar de poderem ser o primeiro sintoma da FTD, esses sintomas não são úteis para discriminar de FTD de AD, mas indicam a gravidade da demência e (69,83). Estudos sugerem que pacientes com AD, em fases iniciais apresentam comprometimento do circuito dorsolateral, o que está associado com essas funções (84). Redução da capacidade de trabalho podem ocasionar demissões, busca de trabalhos progressivamente mais simples, ou até mesmo aposentadorias precoces. Tudo isso pode ter impactos financeiros importantes no paciente ou na família.

- Negligência no auto-cuidado - Declínio na capacidade de realizar as atividades de vida diária é comum tornando esses pacientes funcionalmente mais comprometidos que os pacientes com AD (85). Sem cuidados de terceiros, esses pacientes podem ficar imundos e, em casos extremos, apresentar síndrome de Diogenes (86,87).
- Alteração da linguagem - Caracteriza-se, principalmente, por redução progressiva do discurso (economia na expressão verbal e falta de espontaneidade), estereotipia de linguagem. Paciente tem dificuldade de iniciar a conversação, mesmo quando incentivado, as respostas são curtas ou expressas por uma única palavra.
- Alterações de memória - São caracteristicamente decorrentes de um comprometimento da memória de trabalho caracterizado e se expressam pela dificuldade em registrar e evocar as informações (88). Já o comprometimento da memória episódica, em fases precoces, é um bom indicativo de AD. Entretanto, há vários trabalhos mostrando que a memória episódica está comprometida em uma parcela dos pacientes com FTD (52,53).

3.2 Afasia progressiva primária

Na variante temporal da FTD, ocorre comprometimento precoce da linguagem. O comportamento, a personalidade, a função executiva, a memória episódica e as habilidades visoespaciais estão preservadas no início da doença. Esse quadro é denominado afasia progressiva primária, que se subdivide em demência semântica e afasia progressiva não-fluente.

3.3 Demência Semântica

A demência semântica é uma síndrome caracterizada pela perda progressiva do conhecimento semântico ou do conhecimento sobre as pessoas, objetos, fatos e palavras. A perda neuronal acomete a porção anterior do neocórtex temporal, bilateralmente. As queixas referem-se ao comprometimento da linguagem, descritas como perda do significado das palavras e de conceitos. O paciente geralmente está consciente da dificuldade de expressar, mas usualmente não percebe suas dificuldades de compreensão. O discurso é fluente, mas, frequentemente, ocorre parafrásias semânticas e utilização repetida de termos vagos, genéricos (coisa, negócio, trem) em substituição de termos específicos ou frases. A repetição, prosódia, sintaxe e geração de verbos estão preservadas. Nesses casos, a atrofia envolve predominantemente a porção anterior do neocórtex temporal esquerdo. Por outro lado, quando a atrofia predomina na porção anterior do neocórtex direito, o paciente apresenta déficit no reconhecimento de faces familiares (prosopagnosia) e objetos. Daí, que, geralmente, se manifesta por uso inapropriado ou incapacidade de reconhecer utensílios domésticos, por exemplo, abridor de lata.

3.4 Afasia progressiva não fluente

Na afasia progressiva não fluente, a atrofia é assimétrica e compromete a área perissylviana esquerda (ínsula, regiões frontal inferior e temporal superior). O quadro clínico é caracterizado pela presença de anomia (dificuldade para encontrar as palavras), hesitação, alteração da pronúncia e redução da fluência verbal. A anomia é mais pronunciada com relação a verbos que a nomes. Geralmente, os pacientes com AF não apresentam as anormalidades comportamentais típicas da variante frontal da FTD. O discurso torna-se progressivamente mais empobrecido e, nos estágios finais, ocorre mutismo.

4 Sistema Imune e neuroinflamação

Classicamente, inflamação é considerada uma resposta imune especializada do organismo a um agente patogênico invasor ou a um trauma, em termos gerais, um agente nocivo. Se o agente é patogênico, a resposta inflamatória torna-se necessária e crucial. Entretanto, sabe-se de respostas inflamatórias aberrantes que causam danos aos tecidos e podem provocar doenças. A inflamação envolve respostas do sistema imune inato e adaptativo (adquirido). A resposta imune inata é mediada tipicamente por macrófagos, células *natural killer*, sistema complemento, citocinas, quimiocinas e proteínas de fase aguda. Já a

resposta imunitária adaptativa utiliza os mesmos mediadores solúveis além dos linfócitos T e B e anticorpos específicos (89).

A integração entre os sistemas fisiológicos, principalmente entre os sistemas regulatórios (sistema imunológico, nervoso e endócrino), é vital para manutenção da homeostase do organismo. O sistema imune não é mais visto apenas como mecanismo de defesa. Juntos, os sistemas nervoso, o imune e o endócrino compõem um mecanismo de regulação das funções celulares de todo o organismo. A comunicação entre os sistemas imune e nervoso ocorre, principalmente, via secreção de citocinas, neurotransmissores e neuropeptídeos. Prejuízos nos processos de comunicação entre esses sistemas estão envolvidos na gênese de diversas patologias. É crescente, portanto, a importância dada, na literatura, aos mecanismos imunológicos envolvidos nas doenças crônico-degenerativas, como, por exemplo, nas síndromes demenciais (90-93).

O processo inflamatório envolvido na maioria das doenças neurodegenerativas, incluindo a doença de Alzheimer, é frequentemente denominado “neuroinflamação” basicamente, uma resposta imune inata (94-96). A micróglia ativada e os astrócitos são as principais células que participam dessa resposta. A micróglia é reconhecida como macrófagos residentes do cérebro e apresenta papel fundamental na resposta imune inata em vários distúrbios neurológicos, incluindo a doença de Parkinson (97), esclerose múltipla (98), esclerose lateral aminotrófica (99), AD (Mandrekar-Colucci e Landreth 2010), e outros. A micróglia apresenta notável capacidade de examinar vastas extensões do cérebro (saudável ou não) (Davalos et al 2005; Nimmerjahn et al 2005; Wake et al . de 2009) e expressar os mediadores pró e anti-inflamatórios, além de seus receptores (Lue et al, 2001a, b; Wyss-Coray 2006; Cameron e Landreth 2010). (100).

Já o papel da resposta imune adquirida com infiltração de linfócitos ou células polimorfonucleares é limitado nas síndromes demenciais, por exemplo, na doença de Alzheimer. Contudo, mais recentemente, tem-se demonstrado, também, crescente participação de elementos da resposta imune adquirida na doença de Alzheimer (101-103).

Considerando a importância do sistema imune nas síndromes demenciais, muitos estudiosos têm analisado os imunomoduladores nestas condições. Assim, alguns trabalhos analisaram os níveis de citocinas no líquido cefalorraquidiano de pacientes com FTD e outras demências, particularmente a AD. Nesse sentido, as moléculas classicamente consideradas como pró-inflamatórias ganharam destaque, mas, posteriormente, outras citocinas,

quimiocinas e proteínas envolvidas nas vias de sinalização intracelular também foram destacadas.

O primeiro trabalho a sugerir que mediadores inflamatórios poderiam estar envolvidos na patogenia da DFT foi da autoria de Sjögren e colaboradores (104). O objetivo deste estudo era comparar níveis de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-1 β) e anti-inflamatórias (TGF- β) no líquido cefalorraquidiano de pacientes com FTD e controles. Observou-se, então, aumento significativo de TNF- α e TGF- β nos pacientes FTD. O TNF- α é produzido no sistema nervoso central pelos macrófagos, astrócitos e micróglia, tem propriedades pró-inflamatórias e pode induzir apoptose e destruição celular. Já o TGF- β apresenta propriedades anti-inflamatórias inibindo a produção de citocinas pró-inflamatórias como, por exemplo, a TNF- β , IL-1 e a IL-6 pelos astrócitos. o TGF- β é regulado por outras citocinas, inclusive pelo TNF- α . Assim sendo, parece que o aumento de TGF- β observado possa ser decorrente da alça de retroalimentação existente. O aumento de TNF- α também já havia sido observado na AD anteriormente (105). De forma similar, Galimberti e colaboradores analisaram níveis de quimiocinas em pacientes com FTD, AD e pacientes do grupo controle. Eles verificaram que MCP-1(CCL2) e IL-8(CXCL8) estavam aumentados nos pacientes com DFT, enquanto os níveis de IP-10 não se alteraram na DFT, mas estavam aumentados nas fases iniciais da AD (106). MCP-1 parece estar envolvido em processos de proteção neuronal, pois apesar de ser um agente quimotático e estimular a proliferação da micróglia, estimula liberação de citocinas pró-inflamatórias (107).

Mais recentemente, foram publicados estudos correlacionando os níveis de citocinas ou quimiocinas com polimorfismos. MCP-1 A-2518G, um polimorfismo de peptídeo único (SNP), parece exercer um papel protetor no desenvolvimento de FTD (108). Níveis de MCP-1 aumentados foram observados nos portadores do alelo G ancestral, quando comparados com os não-portadores. Villa e colaboradores testaram polimorfismo de MCP-2(CCL8) uma vez que esta quimiocina é da mesma família da MCP-1. Esta sequência apresenta 62% de semelhança com a sequência peptídica de MCP-1 e, em culturas infectadas com HIV, induz neurodegeneração. Entretanto, diferente da correlação com MCP-1 e A-2518G, o polimorfismo CCL8/MCP-2 rs1133763 não apresentou diferença significativa entre os pacientes do grupo-controle, com FTD e AD (109).

Outra citocina muito estudada em idosos é a IL-6. Trata-se de uma citocina pró-inflamatória e está associada à síndrome de fragilidade em idosos (110,111). Já em relação

aos dados referentes a IL-6, nos pacientes com AD, os primeiros estudos demonstravam dados conflitantes (112-120). Mais recentemente, Galimberti e colaboradores, tentando elucidar essa questão, observaram que os níveis de IL-6 não diferiam entre os pacientes com AD, FTD e grupo controle. Nesse mesmo trabalho, os autores observaram que os níveis de *leukaemia inhibitory factor* (LIF) não eram detectados no liquor e os níveis de IL-11 estavam presentes nos pacientes com AD e FTD, mas reduziam-se ao avançar da doença (121).

Já no que tange à IL-12, Rentzos e colaboradores observaram que seus níveis se apresentam reduzidos nos pacientes com FTD e com AD em relação ao grupo- controle. No caso específico dos pacientes com AD, os níveis de IL-12 correlacionavam-se, positivamente, com os níveis totais de tau (122). A redução de IL-12 observada nesse trabalho se opõe ao esperado uma vez que ela é produzida pela célula apresentadora de antígeno (APC), micróglia e é responsável por estimular a diferenciação e proliferação dos linfócitos T (Th1), além de estimular a produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e INF- γ). No mesmo período, Rentzos também analisou os níveis de IL-15. IL-15 é uma citocina pró-inflamatória, produzida por monócitos, macrófagos, células dendríticas e células da glia ativadas. Ela promove a proliferação das células T, a indução das células citolíticas efetoras (células *natural killer* (NK) e células citotóxicas) e, ainda, estimula os linfócitos B a proliferarem e secretarem imunoglobulinas. Com relação ao presente estudo, os níveis de IL-15 encontraram-se aumentados nos pacientes com FTD e AD, quando comparados com pacientes com doença de Parkinson, e esclerose lateral amiotrófica (123).

Em suma, fica claro, com os trabalhos supracitados, o envolvimento do sistema imune na FTD. Por se tratar de uma entidade clínica mais rara que a AD e estudada de forma mais aprofundada, somente nos últimos anos, poucos trabalhos têm descrito a participação do sistema imune nessa síndrome, quando comparado com a doença de Alzheimer.

Quanto à ativação das células T, para que seja eficiente, é necessário haver dois sinais: um sinal antígeno específico e um sinal coestimulador. O primeiro é ocorre pelo receptor de células T (sinal 1), que é fornecido pela interação do antígeno com o complexo principal de histocompatibilidade (MHC) e receptor de células T-(TCR). O segundo sinal, o coestimulador (sinal 2), é fornecido por fatores solúveis ou moléculas pela superfície celular a célula apresentadora de antígenos (APC) (124). Na ausência do sinal 2, os linfócitos normalmente se tornam anérgicos, mas, quando esse sinal é intenso, a ativação dos linfócitos pode ocorrer. O segundo sinal pode ser de natureza estimuladora ou inibitória. O sinal

inibitório induz tolerância de células T, enquanto que um sinal estimulador promove ativação das células T (125). O equilíbrio de ambos os sinais é crucial para o sistema imunológico. O principal sinal coestimulador é a via B7-1/B7-2-CD28. B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86) localizam-se na superfície da APC e são específicos para o receptor estimulador (CD28), ou para o receptor inibitório CTLA-4 (CD152). A sinalização feita por CD28 promove a produção de citocinas (IL-2 e TNF- α), aumenta a expressão de CD40L acarretando, também, a sobrevivência de células T, através da ativação de NF- κ B e aumento da expressão de Bcl-XL (126-128). O resultado oposto é observado com o acoplamento do CTLA-4, acoplamento esse que inibe a síntese de IL-2 e o ciclo proliferativo das células T. CD28 está expresso nas células tanto em repouso quanto ativadas. Entretanto, a expressão de CTLA-4 é induzida pela ligação com TCR, particularmente pela ligação TCR-CD28. Portanto CTLA-4 exerce um papel crucial na regulação da tolerância de células T periféricas (129,130).

Afinal, vários estudos publicados ressaltam o papel das vias coestimuladoras em algumas condições clínicas. Assim, Abatacept (CTLA-4-Ig) impede não só que os linfócitos sejam ativados quando ligados, com alta afinidade, ao receptor B7 das APCs como também que as APCs gerem estímulo para células T. Seu uso é sugerido para casos de artrite reumatoide (131) e diabetes *mellitus* tipo 1 (132). O seu análogo, belatacept, é indicado em casos de nefrite lúpica, para prevenção da rejeição no transplante renal (133), ou, ainda, para tratamento de esclerose múltipla (134). Entretanto, até o momento, não há nenhum trabalho sobre o papel das vias coestimuladoras na demência de Alzheimer, ou na demência frontotemporal.

Com referência à artrite reumatoide, modulações em vias imunológicas foram capazes de alterar, por exemplo, a história natural dessa doença. Contudo, até o momento, nenhuma intervenção se mostrou efetiva em termos de alterar a história natural das síndromes demenciais. Supõe-se que entendimento maior a respeito da integração entre os sistemas nervoso, endócrino e imunológico propicie a identificação de novos alvos terapêuticos capazes de modificar o tratamento das demências (95) como, por exemplo, a demência de Alzheimer (135,136) e a afasia progressiva primária (137).

Por outro lado, a melhor compreensão da interação do sistema imune com o sistema nervoso central, além de abrir novas perspectivas terapêuticas, quebrou antigos paradigmas, como: o sistema nervoso central é provido de privilégio imunológico e, portanto, encontra-se isolado da periferia; células e moléculas deste segmento não têm acesso a ele. Apesar da

reconhecida importância de se “isolar” um órgão vital cuja capacidade regenerativa é restrita, sabe-se que esse privilégio não é absoluto (138). Sabe-se também que barreira hematoencefálica permite a interação do sistema imune com os elementos do sistema nervoso central. Isso pode ocorrer das seguintes formas: perda da integridade da barreira, transporte de citocinas por esta barreira, ativação de células endoteliais na barreira e consequente secreção de citocinas no parênquima cerebral, diapedese de células imunes pela barreira ou ativação do aferente do nervo vago e diretamente nos órgãos circumventriculares (que não possuem barreira hematoencefálica) (139). Compreende-se, assim, que alterações que ocorrem na periferia e afetam o sistema imune podem trazer consequências centrais, sendo o contrário também verdadeiro. Um bom exemplo dessa última condição é a febre. Ela decorre da ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal pela IL-1 que foi produzida na periferia. (140)

Diante do exposto, fica evidente que ainda muito pouco se sabe a cerca dos processos imunológicos envolvidos na FTD. Acredita-se que estudos que avaliem imunomediadores em sangue periférico possam ser úteis na compreensão das alterações que afetam o sistema imune, consequentemente a FTD. Nesse sentido, este trabalho exploratório da expressão de imunomediadores em sangue periférico visa a identificar potenciais candidatos a biomarcadores da demência frontotemporal que auxiliem a diferenciar FTD de AD e, sobretudo, corroborar a elucidação do papel imune na FTD.

2. OBJETIVOS

1 Objetivo Geral

- Analisar a expressão de moléculas do sistema imune no sangue periférico de pacientes portadores de FTD comparados com AD visando identificar possíveis candidatos a biomarcadores para FTD.

2 Objetivos específicos

- Avaliar a frequência da expressão de citocinas pró-inflamatórias ($\text{TNF}\alpha$, IL-6 e IL-17) em linfócitos T auxiliares (CD4^+) e linfócitos T citotóxicos (CD8^+) dos pacientes portadores de FTD e AD.
- Avaliar a frequência da expressão de citocinas anti-inflamatórias (IL-10, IL4 e $\text{TGF-}\beta$) em linfócitos T auxiliares (CD4^+), linfócitos T citotóxicos (CD8^+) e monócitos (CD14^+) dos pacientes portadores de FTD e AD.
- Avaliar a frequência da expressão da neurotrofina BDNF e GM-CSF em linfócitos T auxiliares (CD4^+) dos pacientes portadores de FTD e AD.
- Avaliar a frequência da expressão de CD80 em monócitos (CD14^+) e em linfócitos B (CD19^+) dos pacientes do grupo controle, FTD e AD.
- Avaliar a frequência da expressão de CD28, CTLA-4, CD45RA, HLA-DR e CD95 em linfócitos T auxiliares (CD4^+) dos pacientes do grupo controle, FTD e AD.
- Avaliar a frequência da expressão do receptor de quimiocina CCR5 em linfócitos T auxiliares (CD4^+) e das quimiocinas (CCL3, CXCL10, CCL2) em monócitos (CD14^+) dos pacientes portadores de FTD e AD.
- Avaliar a frequência da expressão de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 α e IL-1 β) em monócitos (CD14^+) dos pacientes portadores de FTD e AD.

3. POPULAÇÃO ESTUDADA, MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Casuística da população estudada

Valeu-se, para o desenvolvimento da presente pesquisa, dos pacientes provenientes do Centro de Referência em Atenção ao Idoso do Estado de Minas Gerais (Portaria GM/MS nº 703 /2002), com sede no Instituto Jenny de Andrade Faria. Trata-se de um serviço multiprofissional de assistência integrada a idosos, que prioriza o atendimento de idosos frágeis e portadores de síndromes demenciais. São realizados aproximadamente 1.000 atendimentos por mês. As especialidades médicas vinculadas ao Núcleo de Geriatria e Gerontologia da UFMG são geriatria, psicogeriatria, clínica médica, reumatologia, otorrinolaringologia, oftalmologia, patologia clínica, medicina paliativa e acupuntura. Também as seguintes especialidades não médicas integram o Centro: enfermagem, fisioterapia, terapia ocupacional, fonoaudiologia, serviço social, farmácia, nutrição, neuropsicologia, odontologia e musicoterapia.

Especificamente, para o presente trabalho, os pacientes selecionados para a pesquisa foram categorizados nos seguintes grupos:

- Demência Frontotemporal;
- Doença de Alzheimer;
- Controle.

Todos os pacientes foram atendidos por membros do referido Instituto e, após avaliação formal, apresentados a um dos preceptores da geriatria para esclarecimento e confirmação diagnóstica. Todos os pacientes foram submetidos ao protocolo multidimensional dos idosos, descrito por Moraes (141) por ser esse o instrumento padrão de avaliação dos idosos no supracitado centro. Tal avaliação é composta, sumariamente, dos seguintes itens:

1. Queixa principal
2. Revisão dos sistemas fisiológicos
3. Avaliação funcional:
 - a. Índice de Katz (142)
 - b. Escala de Lawton-Brody (143)
4. Mobilidade:
 - a. *Timed get up and go* (144).

5. Avaliação cognitiva:
 - a. Mine-exame do estado mental (145)
 - b. Fluência verbal (146)
 - c. Lista palavras do CERAD (147)
 - d. Reconhecimento de figuras (148)
 - e. Teste do relógio (148)
 - f. Inventário neuropsiquiátrico (149)
 - g. *Frontal Assessment Battery* (150)
6. Avaliação do humor (DSM-IV (151), Yesavage (152,153))
7. Revisão dos medicamentos
8. História pregressa
9. Exame físico completo
10. Revisão laboratorial (hemograma, glicose, TSH, sódio, potássio, vitamina B12, ácido fólico, VDRL, creatinina e transaminases)
11. Avaliação por método de imagem (tomografia computadorizada ou ressonância nuclear magnética do encéfalo)

Foram selecionados, para compor o grupo controle, pacientes encaminhados ao Instituto para avaliação médica e/ou realização de exames preventivos de rotina. Já os pacientes atendidos por qualquer membro da equipe do Instituto, com suspeita de FTD, foram encaminhados ao pesquisador, responsável pela presente pesquisa, para confirmação diagnóstica e acompanhamento do paciente até o momento da coleta da amostra de sangue para análise.

3.2 Critérios de inclusão e exclusão na pesquisa

Os pacientes incluídos neste estudo foram selecionados de acordo com os critérios de inclusão e exclusão comuns e específicos para cada grupo descritos a seguir.

3.2.1 Critérios de inclusão

Para inclusão dos pacientes no estudo obedeceram-se, rigorosamente, os seguintes critérios de inclusão:

1. Assinatura voluntária pelo paciente do termo de compromisso livre e esclarecido, aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa da UFMG, seguindo as normas internacionais de condução de pesquisa em humanos e de boas práticas clínicas (ICH-GCP), estabelecidas a partir da declaração de Helsinki;
2. Ter mais de 18 anos;
3. Preencher os critérios de inclusão específicos para cada um dos grupos de análise (controle, demência frontotemporal e doença de Alzheimer);
4. Não apresentar nenhum dos critérios de exclusão apresentados a seguir.

3.2.2 Critérios de exclusão

1. Apresentar sinais, sintomas ou evidências, nos métodos de imagem, de comprometimento vascular encefálico significativo.
2. Apresentar sinais sugestivos de demência vascular pela análise da escala isquêmica de Hachinski versão original ou modificada por Loeb (154,155).
3. Apresentar doenças agudas com repercussão sistêmica (pneumonias, diarreia aguda infecciosa, pancreatite aguda, infecções sistêmicas, traumas, queimaduras, trombose venosa profunda) que, na opinião do investigador, possam influenciar os parâmetros imunológicos analisados no momento da coleta do sangue;
4. Apresentar, no momento da coleta de sangue, quadro de descompensação aguda de algumas doenças crônicas tais como: insuficiência cardíaca, diabetes mellitus, tireoideopatias, doença pulmonar obstrutiva crônica, osteoartrose ou outras que, na opinião do investigador, possam influenciar os parâmetros imunológicos analisados;
5. Apresentar patologias que, caracteristicamente, apresentem elevada atividade inflamatória, tais como: artrite reumatóida, arterite de células gigantes, polimiosite reumática, doença de Cronh, doença inflamatória intestinal, lúpus eritematoso sistêmico ou outras patologias que, na opinião do investigador, possam influenciar os parâmetros imunológicos analisados.

3.2.3 Critérios de inclusão no grupo Controle

1. Não apresentar síndrome demência
2. Não apresentar transtorno do humor
3. Não apresentar comprometimento cognitivo leve
4. Não ser cuidador de pacientes com síndrome demencial.

3.2.4 Critérios de inclusão no grupo Doença de Alzheimer

1. Apresentar todos os critérios de demência, segundo o DSM-IV.
2. Ser portador de diagnóstico da doença de Alzheimer (provável ou possível), segundo critérios estabelecidos pelo NINCDS-ADRDA (156).
3. Não ter o diagnóstico de demência vascular como possibilidade mais plausível que a doença de Alzheimer, na opinião do investigador.

3.2.5 Critérios de inclusão no grupo Demência Frontotemporal

1. Apresentar todos os critérios de demência, segundo o CID-10.
2. Ser portador do diagnóstico de demência frontotemporal (bv-FTD, SD, ou PNFA) conforme estabelecido por Neary e colaboradores (3) e McKhann e colaboradores (18).
3. Ter feito ressonância nuclear magnética do encéfalo.
4. Apresentar diagnóstico de FTD, sugerido por mais de um profissional habilitado.
5. Ser observado por mais de um ano por um médico do estudo ou possuir relatório médico detalhado de acompanhamento por mais de um ano, com o diagnóstico de FTD.
6. Não apresentar sinais, sintomas ou evidências radiológicas de comprometimento vascular encefálico significativo.
7. Não ter diagnóstico de demência vascular ou mista como possibilidade mais possível.

Cabe ressaltar, ainda, que os pacientes com FTD foram avaliados por mais de um profissional, todos eles treinados em diagnosticar síndromes demenciais. Além disso, foram avaliados, inclusive, por profissionais de outras especialidades além da geriatria e, ainda, submetidos à avaliação neuropsicológica com neuropsicólogo especializado. Também realizou-se, nos pacientes desse grupo, durante as avaliações clínicas, a avaliação cognitiva

entitulada Addenbrooke's Cognitive Examination (157) revisada e adaptada para língua portuguesa (158).

3.3 Coleta de sangue

Amostras de sangue venoso periférico foram colhidas de cada participante do estudo. A quantidade total de sangue extraída de cada indivíduo foi de 20 mililitros (mL). As amostras foram colhidas em tubo com heparina para culturas celulares e posteriores análises de citometria de fluxo e preparadas dentro do prazo máximo de 3 horas, para extração das células mononucleares (monócitos e linfócitos) do sangue periférico (PBMC).

3.4 Cultura celulares

Do sangue proveniente dos pacientes dos grupos experimentais e de controle foram obtidas as células mononucleares do sangue periférico (PBMC) por gradiente de Ficoll-Hypaque™ (GE), a 25°C por 40 minutos. Retiradas, então, as células, estas foram “lavadas” duas vezes por centrifugação (1400 RPM, 4°C, 10 min) em solução de PBS (Sigma). Em seguida, as PBMC foram contadas em câmara hemocitométrica de Newbawer e suspendidas em meio completo RMPI (RMPI suplementado com soro fetal bovino inativado (10%), L-glutamina (1 mM) e antibiótico (penicilina 200U/mL) para atingir a concentração de 1×10^7 células/mL. As células (1.5×10^5) foram, então, incubadas em 200 μ L meio de cultura em uma placa de 96 poços, em estufa a 37°C, 5% de CO₂, por aproximadamente 18 horas. As células foram cultivadas na presença e também na ausência de estímulo. Foram utilizados os estímulos para linfócitos: anticorpos monoclonais anti-CD3 monoclonais (1 μ g/ml) (PharMingen-Becton Dickinson) e anticorpos monoclonais anti-CD28 (0,5 μ g/ml) (PharMingen-Becton Dickinson) ou para monócitos: LPS (Lipopolissacarídeo). Quatro horas antes do término da incubação em cultura, brefeldina A (1 μ L/mL concentração final 1:200) (Sigma) foi adicionada. Brefeldina A inibe o transporte de proteínas do retículo endoplasmático para Golgi, induzindo, assim, um transporte retrógrado de proteínas do complexo de Golgi para o retículo endoplasmático. Dessa forma, as proteínas se acumulam no interior da célula e facilita a sua visualização por citometria de fluxo.

Tais procedimentos descritos foram realizados seguindo os métodos padronizados por Torres e colaboradores (159).

3.5 Coloração das moléculas de superfície e intracelulares de linfócitos e monócitos

Para marcação das populações de células, utilizaram-se anticorpos de superfície monoclonais para linfócitos T (anti-CD4), linfócitos B (anti-CD19), e monócitos (anti-CD14) já acoplados aos fluorocromos fluoresceína (FITC) ou Cychrome (Cy5), ou para linfócitos T (anti-CD8) biotinilados. As células foram incubadas durante 20 minutos a 4°C, seguida de uma lavagem por centrifugação (400G por 10 minutos com a temperatura controlada em 4°C) com solução de PBS. Como os anticorpos anti-CD8 eram conjugados a biotina, foi adicionada estreptavidina PE-Cy5, durante 20 minutos, a 4°C, nas células marcadas com anti-CD8. Isso porque a estreptavidina apresenta afinidade extraordinariamente elevada para biotina. Posteriormente, realizou-se nova lavagem e centrifugação como já descrito. As células foram, então, fixadas em solução de formaldeído 2% durante 30 min, em temperatura ambiente.

Posteriormente, foram realizados os procedimentos para marcação intracelular. Para isso, incubou-se as células por 30 minutos a temperatura ambiente com uma solução de saponina 0,5%. Essa solução tem a capacidade de permeabilizar as células, ao reagirem com o colesterol da membrana celular, formando poros. A formação dos poros possibilita a marcação das citocinas citoplasmáticas com anticorpos específicos para cada molécula. Para isso, após a permeabilização das células, estas foram novamente incubadas com os anticorpos monoclonais anti-IL-1 α , anti-IL-1 β , anti-CCL2, anti-CCL3, anti-CXCL10, anti-CCR5, anti-TNF α , anti-IL-6, anti-IL-17, anti-HLA-DR, anti-IL-10, anti-IL-4, anti-TGF- β , anti-BDNF, anti-CD80, anti-CD28, anti-CTLA-4, anti-CD45RA, anti-CD95 e anti-GM-CSF. Todos os anticorpos usados para marcação das citocinas citoplasmáticas, em célula única, foram conjugados diretamente com PE. Controles de isotipos, imunoglobulinas não relacionadas a nenhum antígeno específico conjugadas a FITC, PE e Cy5 também foram adicionados como controle negativo. Após a adição dos anticorpos marcados com fluorocromo, todas as etapas foram realizadas garantindo que as células ficassem ao abrigo da luz.

Posteriormente, as células foram lavadas novamente com solução de PBS e centrifugadas (400G) durante 10 minutos. Seguiu-se, então, uma etapa onde as células foram incubadas em solução de PBS, BSA 0,5% para garantir o restabelecimento das membranas celulares. Então, as células foram novamente lavadas e homogeneizadas em solução de PBS para aquisição de amostras em citômetro de fluxo.

3.6 Citometria de fluxo

A análise da citometria de fluxo foi feita conforme descrito por Torres e colaboradores (159). Assim sendo, as amostras foram adquiridas em citômetro de fluxo GUAVA EasyCyte e analisadas pelo *software* GuavaExpressPro (GE). Foram avaliadas as frequências totais de linfócitos T (CD4 e CD8) e B (CD19) e monócitos (CD14), bem como a dos linfócitos T e B, que expressavam os variados marcadores de superfície e intracelulares, listados anteriormente. Os marcadores de superfície e intracelulares avaliados estão descritos na tabela 1 adiante.

TABELA 1
Anticorpos utilizados nos ensaios de citometria de fluxo

ANTICORPO	FUNÇÃO
CTL	Controle de isotipo
CD4	Marcador de linfócitos T auxiliares
CD8	Marcador de linfócitos T citotóxicos
CD14	Ligante de LPS exposto na superfície de macrófagos e monócitos
CD19	Marcador de linfócitos B
CCL3	Quimiocina, (MIP-1 α) envolvida na resposta inflamatória aguda recrutando e ativando leucócitos polimorfonucleares
CCR5	Receptor de quimiocina CCL3, CCL4 e CCL5
CD80	(B7-1) proteína expressa em células B ativadas e monócitos que produzem sinal coestimulador para células T
CD28	Receptor para CD80 (B7.1) e CD86 (B7.2) e expressos nas células T o qual produz sinal coestimulador para células T
CTLA-4	(CD152) receptor para moléculas B (B7.1 e B7.2) linfócitos T auxiliares o qual transmite sinal inibitório para células T.
TNF α	Fator de necrose tumoral alfa. Citocina geralmente pró-inflamatória. Regulação
IL-6	Citocina secretada por macrófagos e linfócitos T para estimular resposta imune, participa da resposta de fase aguda.
IL-10	Citocina produzida por monócitos com propriedades anti-inflamatória, reduz a expressão citocinas Th1.
IL-4	Citocina que induz diferenciação dos linfócitos auxiliares <i>naive</i> (Th0) em células Th2, reduz células Th1.
IL-17	Induz e modula resposta inflamatória, comumente associada com resposta alérgica.
BDNF	Fator neurotrófico, estimula sobrevivência, crescimento, diferenciação dos neurônios e formação de sinapses. Envolvido na neurogênese
IL-1 α	Citocina pró-inflamatória produzida principalmente por macrófagos ativados e ativa TNF- α
IL-1 β	Citocina pró-inflamatória produzida principalmente por macrófagos ativados, envolvida em várias atividades celulares.
CCL2	Quimiocina também chamada <i>monocyte chemotactic protein-1</i> (MCP-1)
CXCL10	Quimiocina também chamada <i>interferon gamma-induced protein 10</i> (IP-10)
HLA-DR	<i>Human leukocyte antigen</i> , receptor de superfície para MHC de classe II
TGF- β	Fator de transformação do crescimento beta.
CD45RA	Isoforma RA proteína tirosina fosfatase presente em células T <i>naive</i> .
CD95	Receptor FAS ou antígeno 1 da apoptose
GM-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos

Os nomes entre os parênteses representam sinônimos para as moléculas listadas.

* Anticorpos previamente testados e titulados.

3.7 Análise no CytoSoft

O primeiro passo da análise no CytoSoft (GE) foi selecionar a população de linfócitos (em azul, figura 1) no programa de análise do Guava–Cytosoft versão 5.3 em um gráfico de tamanho versus granulosidade. Constatou-se, então, um perfil muito característico dessa população, possibilitando ser facilmente identificada nos programas de análise de citometria de fluxo. O gráfico adiante visualiza essas características. Para determinação das subpopulações de linfócitos, empregaram-se marcadores populacionais específicos (tabela 1). O mesmo procedimento se repetiu com os monócitos. Selecionou-se a população de monócitos descrita no gráfico Tamanho versus Granulosidade (monócitos em vermelho, vide o gráfico) e, posteriormente, utilizaram-se as células com marcação positiva para anti-CD14 FITC (tabela 1).

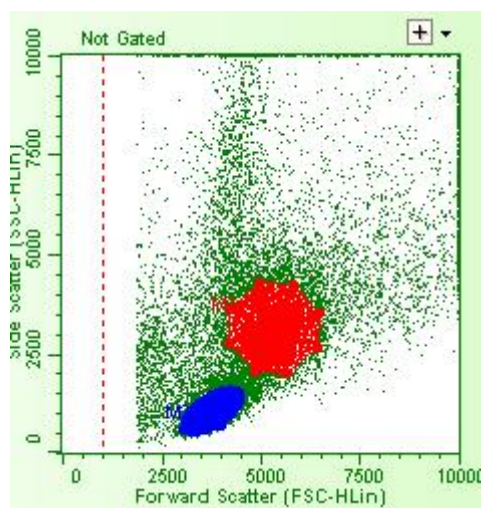


FIGURA 1: Gráfico tamanho versus granulosidade das células extraído do programa CytoSoft

Este gráfico é utilizado para selecionar as populações a serem estudadas de acordo com suas características físicas. Em azul está demarcada a seleção da população de linfócitos, e em vermelho, a população de monócitos.

Após a seleção da subpopulação de interesse, uma vez que as células também estavam marcadas com outros fluorocromos (para receptores ou imunomoléculas), obteve-se o percentual de células que apresentavam ou não as marcações de interesse. Esses dados foram obtidos nos gráficos de distribuição puntual de fluorescência 1 (marcador populacional) na abscissa versus fluorescência 2 (receptor ou imunomolécula) na ordenada, como representado na figura 2 a seguir.

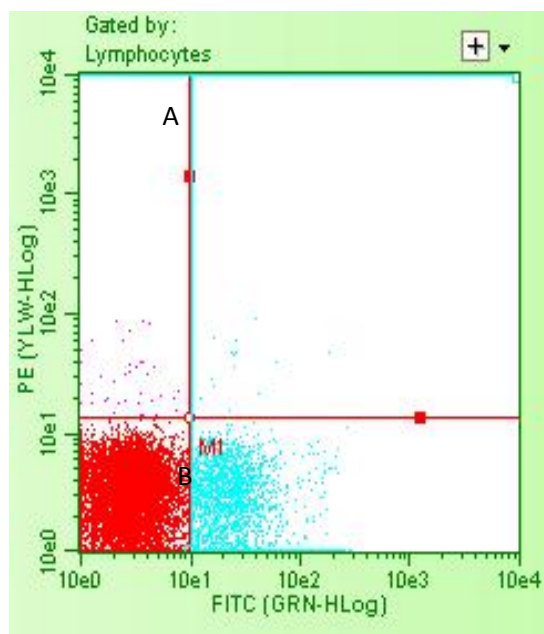


FIGURA 2: Gráfico de fluorescência 1 (abscissa) versus fluorescência 2 (ordenada) extraído do programa CytoSoft. Neste gráfico, as PBMC foram marcadas com o anticorpo monoclonal anti-CD4 (para linfócitos T auxiliares), visualizado na abscissa (Green Fluorescence) e com anticorpo anti-TNF α , visualizado no eixo da ordenada (Yellow Fluorescence). As células positivas para o anticorpo monoclonal CD4 estão em azul (A+B); as células negativas em vermelho. No quadrante A, estão as células positivas para CD4 e, simultaneamente para o TNF α .

Com base nesse gráfico, obteve-se o percentual de células em cada quadrante. Analisou-se, então, o percentual de células que apresentavam marcação positiva para o fluorocromo 2, dentro do universo de células positivas para o fluorocromo 1. Por exemplo: o percentual de células CD4 é positivo para o receptor TNF α . Assim, o cálculo da frequência de células expressando determinada molécula (citocina/quimiocina), dentro da população celular total, foi feito da seguinte maneira: Número de ocorrências no quadrante A da figura 2 dividido pela soma das ocorrências nos quadrantes A e B. Matematicamente representado então por $A/(A+B)*100$. Esse procedimento se repetiu em todas as marcações, tipos celulares e pacientes permitindo, assim, a comparação dos grupos de pacientes.

3.8 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism, versão 5.0, para Mac, novembro de 2010. Os dados foram analisados empregando os testes não-paramétricos uma vez que não se pode assegurar que os erros tenham distribuição normal e que há, também, homocedasticidade entre os tratamentos. Conforme o número de grupos analisados, foram empregados o teste Mann-Whitney (160) ou Kruskal-Wallis *one-way*

análise de variância. Mann-Whitney é menos provável do que o teste T-student para indicar significado falso, sendo, portanto, mais robusto. Entretanto, esse teste não é apropriado para analisar três ou mais grupos. Nestas situações, utilizou-se, então, o teste Kruskal-Wallis *one-way*, análise de variância (161). Quando o teste de Kruskal-Wallis gera resultados significativos, então, pelo menos uma das amostras é diferente das outras amostras. Entretanto, esse teste não identifica onde e como as diferenças ocorrem. Para suprir essa deficiência do teste Kruskal-Wallis, realizou-se análise post-hoc pelo Dunn's Multiple Comparison Test. Esse teste permite comparações de múltiplos grupos não pareados, como, por exemplo, análises dos grupos FTD, AD e grupo-controle.

Em todos os casos, o valor de $P \leq 0,05$ para as duas caudas foi considerado significativo. Os valores apresentados no texto correspondem sempre ao valor da mediana \pm erro padrão. Todos os gráficos foram plotados usando o gráfico *box-and-whisker plot* tradicional de Tukey (162,163). Qualquer observação discrepante estatisticamente determinada, com valor além do valor maior ou menor possível foi considerada como observações extremas (*outliers*) e mostradas nos gráficos por meio de pontos.

A vantagem da utilização do *box-and-whisker plot* é que, além das informações clássicas (mediana e desvio padrão), esse tipo de gráfico ainda visualiza informações sobre posição, dispersão, assimetria, caudas e valores discrepantes "outliers" com o nível superior dado pelo terceiro quartil (Q3) e o nível inferior, pelo primeiro quartil (Q1). A mediana (Q2) é representada por um traço no interior da *box* e segmentos de reta são colocados da caixa até os valores máximo e mínimo, que não sejam observações discrepantes. O critério para decidir se uma observação é discrepante pode variar; por ora, serão chamados de discrepantes os valores maiores do que $Q3 + 1,5 * (Q3 - Q1)$ ou menores do que $Q1 - 1,5 * (Q3 - Q1)$. A figura a seguir mostra os elementos que compõem o gráfico *box-and-whisker plot*.

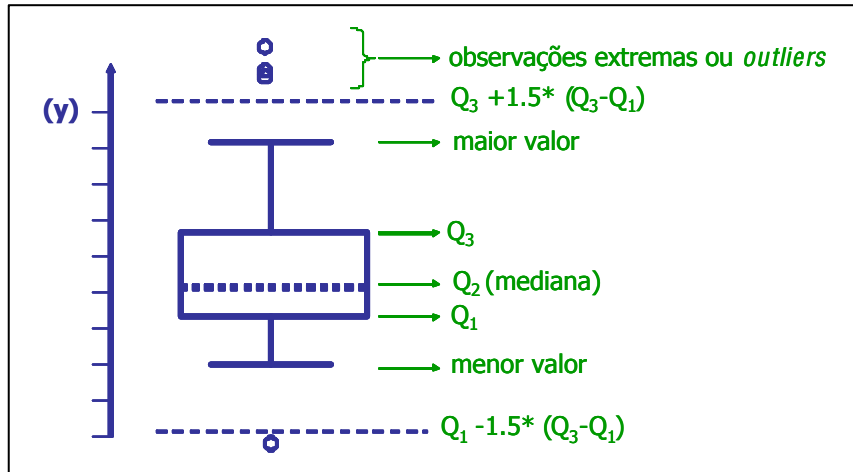


FIGURA 3: Esquema de um gráfico *box-and-whisker plot* demonstrando os elementos que o compõem

4. RESULTADOS

Foram incluídos, neste trabalho, 65 pacientes, distribuídos da seguinte forma: 22 no grupo controle, 45 no grupo AD e 14 no grupo FTD. Dentre os pacientes com FTD analisados, 10 apresentaram variante comportamental da demência frontotemporal, dois pacientes com afasia progressiva não-fluente e dois com demência semântica.

Ao analisar as características comportamentais marcantes dos pacientes com bv-FTD presentes no grupo FTD, observou-se que sintomas de apatia e abulia prevaleciam em 4 pacientes, e desinibição e impulsividade muito evidentes em 6. No grupo FTD, dois pacientes evoluíram com parkinsonismo pronunciado ao longo do curso da doença. Em todos os portadores de FTD, pesquisou-se a possibilidade da síndrome demencial apresentar caráter familiar. Em somente um caso, foram obtidas informações que justificassem a possibilidade de FTD familiar. Ressalta-se, porém, não ter sido possível prosseguir a investigação. Nos demais casos, os pacientes e seus familiares negaram a ocorrência de demência precoce, bem como a presença de transtornos psiquiátricos em outros membros da família. Portanto, a hipótese de demência familiar foi afastada dada a ausência de informação que acenasse a possibilidade de tal síndrome.

Já em relação aos pacientes com doença de Alzheimer, 28,8% deles demonstraram alterações comportamentais evidentes podendo, portanto, caracterizarem-se como portadores de *Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia* (BPSD). Basicamente, as alterações comportamentais presentes nesse grupo eram: irritabilidade, desinibição, agitação, agressividade e impulsividade. Esses sintomas tornam esses subgrupos de pacientes com AD muito semelhantes clinicamente com os pacientes com bv-FTD.

À guisa de ilustração, a Tabela 2, a seguir, apresenta a síntese das características dos pacientes então analisados.

TABELA 2
Perfil dos pacientes incluídos

	Controle (n=22)	Alzheimer (n=45)	Demência Frontotemporal (n=14)	p value
Idade Média (± DP)	76,9 (7,7)	78,0 (6,0)	65,5 (5,7)*	0,0001
Sexo (♂:♀)	11:11	10:20	6:8	
MMSE (± SD)	25,8 (2,6)	13,6 (4,3)**	17,7 (10,5)	0,0004
Escolaridade (anos)	4,5 (3,3)	3,17 (1,7)	4,1 (4,5)	NS
Tempo doença (anos)	0	3,0 (1,9)	3,5 (2,56)	NS

MMSE = minexame do estado mental. DP= desvio padrão. P foram calculados pelo método Kruskal-Wallis test seguido do teste de comparação múltipla de Dunn. *P<0.0001 vs controle ou AD. NS = Não significativo. **P<0.0004 vs controle.

Ao longo do trabalho, foram descartados 5 pacientes com FTD (não incluídos na Tabela 2) por apresentarem, pelo menos, um critério de exclusão durante o período de acompanhamento, antes da coleta de sangue para análise. Eles foram excluídos pelos seguintes motivos: desenvolvimento de acidente vascular encefálico hemorrágico (1 paciente); desenvolvimento de pneumonias de aspiração de repetição associadas à caquexia significativa (1 paciente); desenvolvimento de trombose venosa profunda e neoplasia ovariana (1 paciente); morte (2 pacientes).

Vale lembrar que, na fisiopatologia das doenças neurodegenerativas, o envolvimento do sistema imune é muito comum. Nesse caso, ganham destaque os processos mediados pelas citocinas pró-inflamatórias. Neste trabalho analisou-se a expressão dessas imunomoléculas em mononucleares obtidos no sangue periférico.

Com referência à neuroinflamação, é tradicionalmente definida como resposta do encéfalo a um agente nocivo, caracterizada por uma resposta do sistema inato, com ativação e produção de imunomoléculas. IL-1 foi a primeira citocina descrita a ter ações no encéfalo, incluindo sua participação nos processos de neurodegeneração (140). Análises da expressão de IL-1(α e β) em linfócitos CD14⁺ de pacientes com AD e FTD foram realizadas com células em repouso (estado basal) e após estímulo com lipopolissacárideos (LPS).

Apesar da análise da percentagem de linfócitos CD14⁺, os quais expressam IL-1 α , não ter apresentado diferença entre os grupos AD e FTD, em situação basal (AD 17,13 \pm 7,73; FTD 7,83 \pm 17,62; p=0,47; figura 4), quando se analisou a expressão de IL-1 α em presença de LPS, observou-se que o grupo FTD apresentava menor expressão dessa citocina pró-inflamatória. A mediana da expressão de IL-1 α no grupo AD foi 93,01 \pm 6,65 enquanto que a expressão no grupo FTD era aproximadamente um terço desse valor (34,17 \pm 12,96; p=0,02).

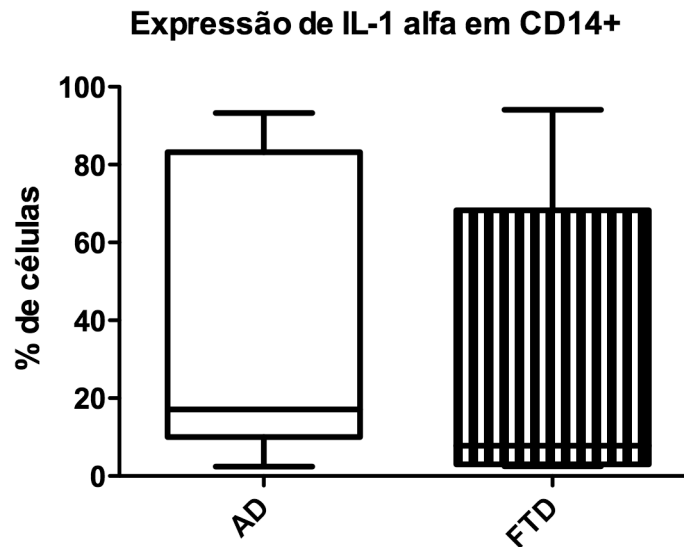


FIGURA 4: Expressão de IL-1 α em monócitos CD14⁺. As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti-CD14, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares IL-1 α , adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. O teste não paramétrico Mann-Whitney foi usado e os valores de p \leq 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

Já em relação à IL-1 β , uma outra isoforma da IL-1, não se verificou diferença estatisticamente significativa entre os grupos (AD 22,92 \pm 5,68; FTD 6,37 \pm 12,04; p=0,63).

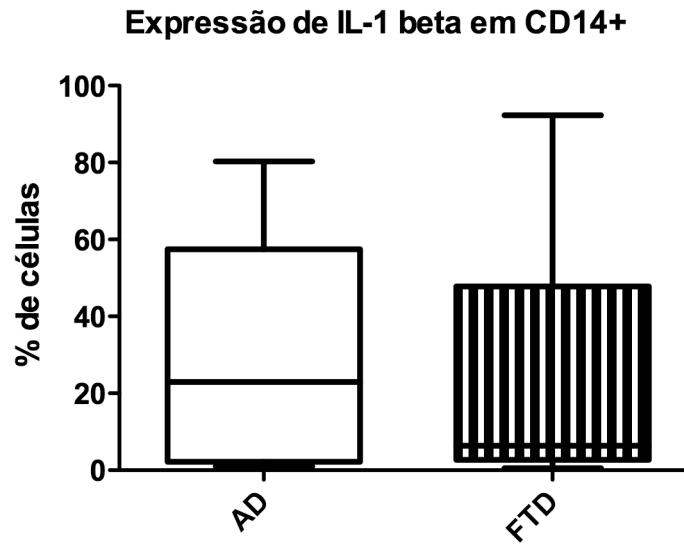


FIGURA 5: Expressão de IL-1 β em monócitos CD14 $^+$. As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti-CD14, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares IL-1 β , adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. O teste não paramétrico Mann-Whitney foi usado e os valores de p \leq 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

Durante o processo inflamatório, células são atraídas para o local da inflamação por quimiocinas, que são ou citocinas com propriedades quimiotáticas. As quimiocinas são secretadas principalmente por células do sistema imune. Muitas citocinas são consideradas pró-inflamatórias e o estímulo para sua liberação é IL-1. Nesse sentido, analisou-se, também, a expressão da quimiocina CCL3 (MIP-1 α) a qual está envolvida na resposta inflamatória aguda recrutando e ativando leucócitos polimorfonucleares. A mediana do percentual de monócitos CD14⁺ expressando essa quimiocina nos pacientes com FTD foi 5,86 \pm 2,88 e 14,4 \pm 21,10 no grupo AD; p=0,04, conforme mostrado na figura abaixo. Quando as células eram estimuladas com LPS, a diferença entre os dois grupos ficou mais significativa ainda. No grupo AD, a expressão dessa quimiocina foi 87,7 \pm 10,59 e no grupo FTD, 7,39 \pm 15,52; p=0,01. Para certificar que a diferença observada era decorrente da diminuição da expressão de CCL3 no grupo FTD e não aumento na expressão dessa quimiocina no grupo AD, realizou-se análise pelo teste Kruskal-Wallis, incluindo, então, o grupo controle. Ficou então evidente que tal redução devia à alteração no grupo FTD (p=0,01).

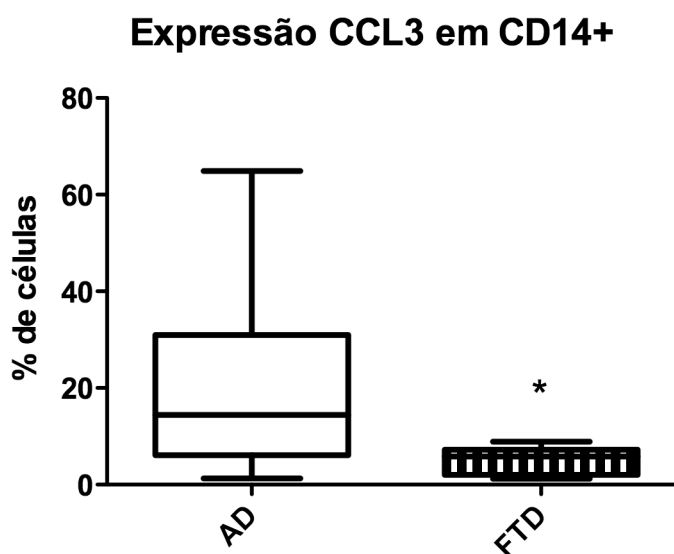


FIGURA 6: Expressão de CCL3 em linfócitos CD4⁺. As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti-CD4, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares CCL3, adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. O teste não paramétrico Mann-Whitney foi usado e os valores de p \leq 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. * p \leq 0,05

Duas outras quimiocinas foram também analisadas: CXCL10 (IP-10 – proteína 10 induzida pelo interferon gama) e CCL2 (MCP-1 – proteína 1 quimiotática de monócitos). Em ambas as análises, a expressão destas quimiocinas por monócitos não revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos avaliados. A mediana da expressão de CXCL10 nos monócitos CD14⁺ no grupo AD foi 5,19±3,74 e no grupo FTD foi 4,61±5,67; p=0,983. Já a análise de CCL2 os resultados foram 5,59±1,80 no grupo AD e 4,65±2,90 no grupo FTD; p=0,611

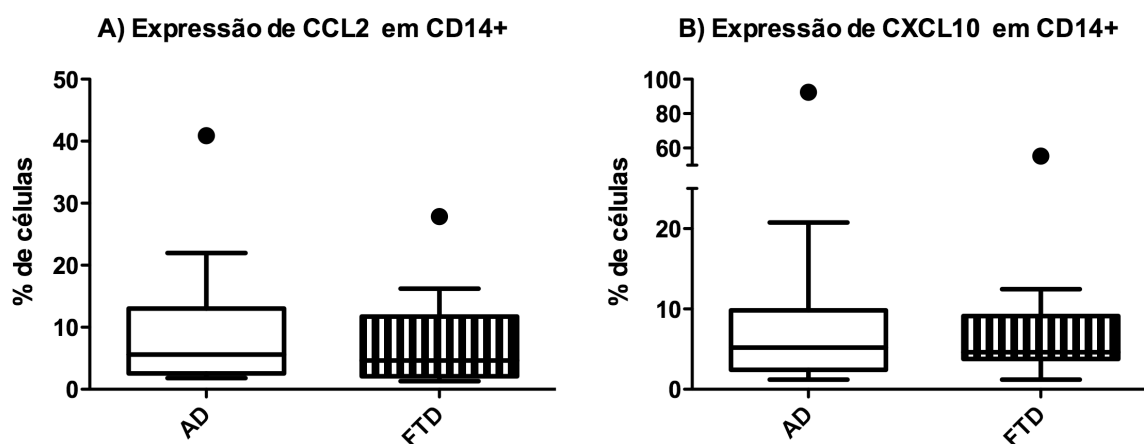


FIGURA 7: Expressão de CCL2 (A) e CXCL10 (B) em monócitos CD14⁺. As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti-CD4, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares CCL2 ou CXCL10, adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. O teste não paramétrico Mann-Whitney foi usado e os valores de p≤0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Os pontos representam as observações extremas (*outliers*).

O passo seguinte foi analisar a expressão do receptor das quimiocinas CCL3 e CCL4 – CCR5. Não se observou, então, diferença estatisticamente significativa entre os grupos (AD $1,07 \pm 0,94$; FTD $0,65 \pm 0,12$; $p=0,30$; figura 8). Entretanto, o mesmo experimento realizado com as células estimuladas revelou redução da frequência de expressão de CCR5 nos linfócitos T $CD4^+$ de pacientes com FTD. O percentual de expressão de CCR5 no grupo FTD foi $0,57 \pm 0,66$ e $1,99 \pm 0,36$ no AD; $p=0,02$.

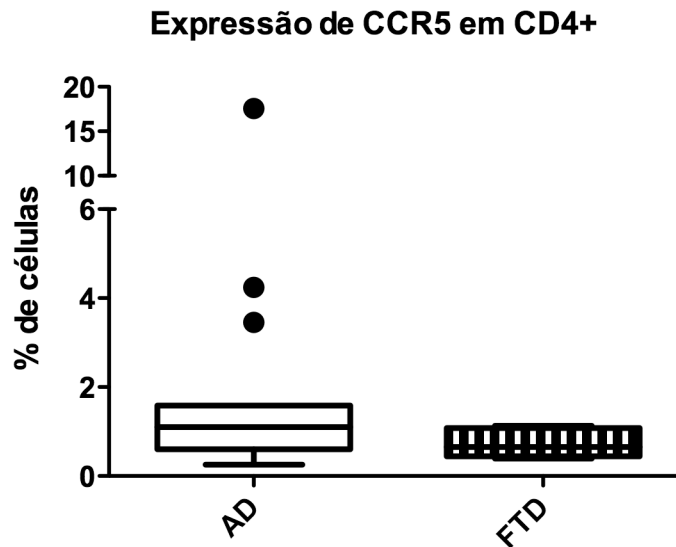


FIGURA 8: Expressão de CCR5 em linfócitos $CD4^+$. As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti- $CD4$, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares CCR5, adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. O teste não paramétrico Mann-Whitney foi usado e os valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Os pontos representam as observações extremas (*outliers*).

Dando continuidade à análise de imunomoléculas pró-inflamatórias, analisou-se a expressão da citocina TNF- α . Observou-se, então, aumento na frequência de expressão de TNF- α em linfócitos auxiliares (linfócitos T CD4⁺) de pacientes do grupo FTD em relação ao grupo AD. Essa expressão foi 6,24% \pm 7,59 erro padrão no grupo FTD e 1,06% \pm 2,11 no grupo AD (p=0,009). Resultados semelhantes foram encontrados na análise da expressão de TNF- α , nos linfócitos citotóxicos (linfócitos CD8⁺). A mediana da frequência de expressão dessa citocina nas células CD8⁺ dos pacientes com FTD foi 5,93% \pm 1,51; e 1,55% \pm 0,43, nos pacientes AD; p=0,050. Já a expressão dessa mesma citocina em monócitos não foi diferente entre os grupos avaliados. No grupo FTD, a expressão foi 8,14% \pm 14,11 e no grupo AD 9,84% \pm 18,49, p=0,54.

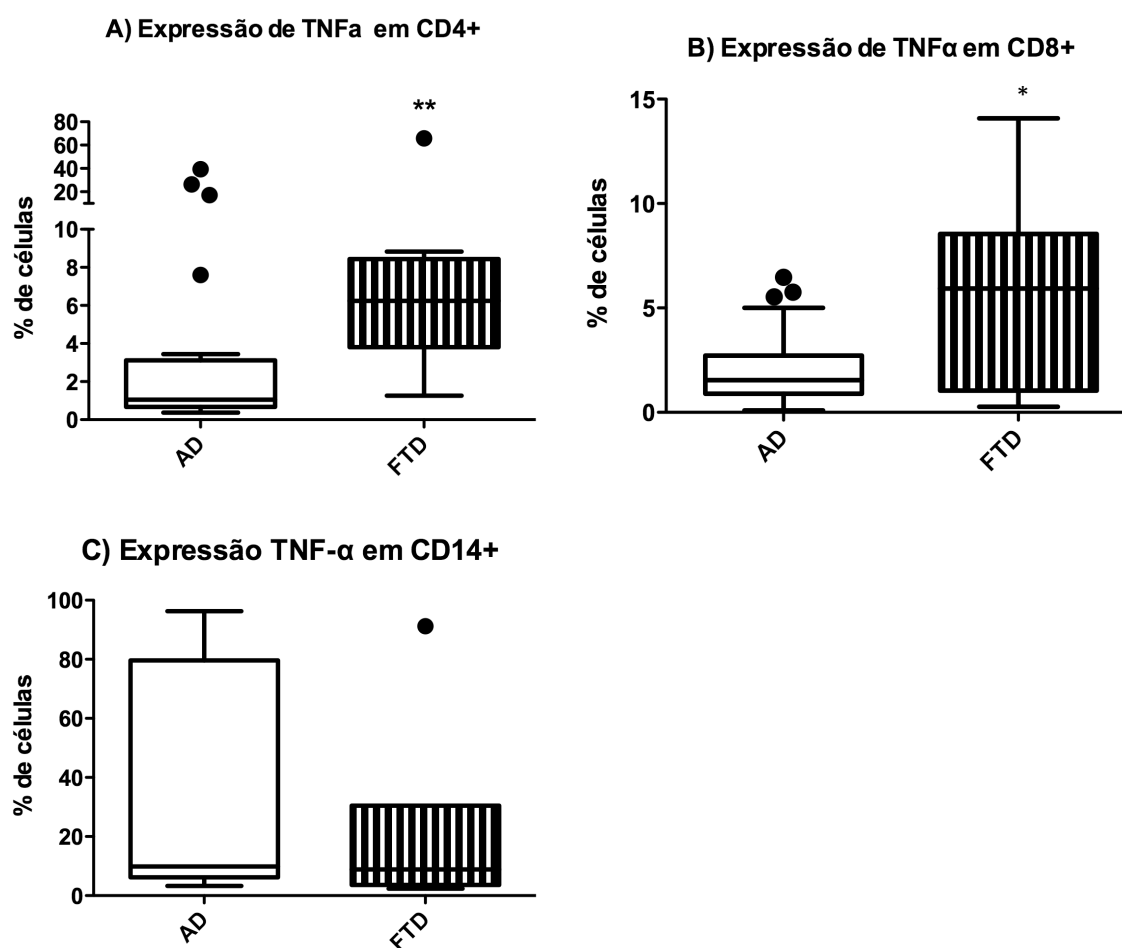


FIGURA 9: Expressão de TNF- α em linfócitos CD4⁺ (A), linfócitos CD8⁺ (B) e monócitos CD14⁺ (C). As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti-CD4, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares TNF- α , adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. O teste não paramétrico Mann-Whitney foi usado e os valores de p \leq 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Os pontos representam as observações extremas (*outliers*). * p \leq 0,05; ** p \leq 0,01

Outra citocina pró-inflamatória muito estudada em processo envolvendo idosos é a IL-6. Ao analisar a expressão dessa citocina em células T CD4⁺ e monócitos CD14⁺, constatou-se não haver diferenças entre os grupos avaliados. A mediana do percentual de expressão de IL-6, nas células CD4⁺, foi 2,39%±0,89 no grupo FTD e 1,42%±0,42 no grupo AD (p=0,528). Já nos monócitos CD14⁺ foi 18,02%±11,02 no grupo FTD e 4,78%±5,41 no grupo AD (p=0,291).

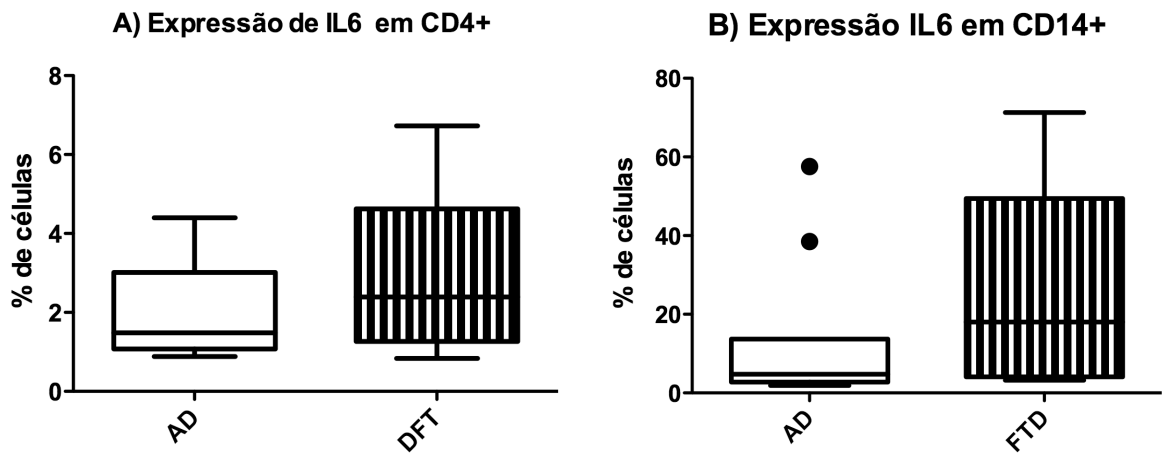


FIGURA 10: Expressão de IL-6 em linfócitos CD4⁺ (A) e monócitos CD14⁺ (B). As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti-CD4, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares IL-6, adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. O teste não paramétrico Mann-Whitney foi usado e os valores de p≤0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Os pontos representam as observações extremas (*outliers*).

Em relação à citocina IL-17, não se observou diferença na frequência de expressão dessa citocina nas células $CD4^+$ ou $CD8^+$ dos pacientes com FTD ou AD. Os resultados obtidos nos linfócitos T $CD4^+$ foram: $0,49\% \pm 0,43$ no grupo FTD, e no grupo AD $0,62\% \pm 0,40$; $p=0,822$. Já nos linfócitos T $CD8^+$, os resultados obtidos no grupo FTD foram: de $0,44\% \pm 2,10$ e $0,75\% \pm 1,88$ ($p=0,8671$).

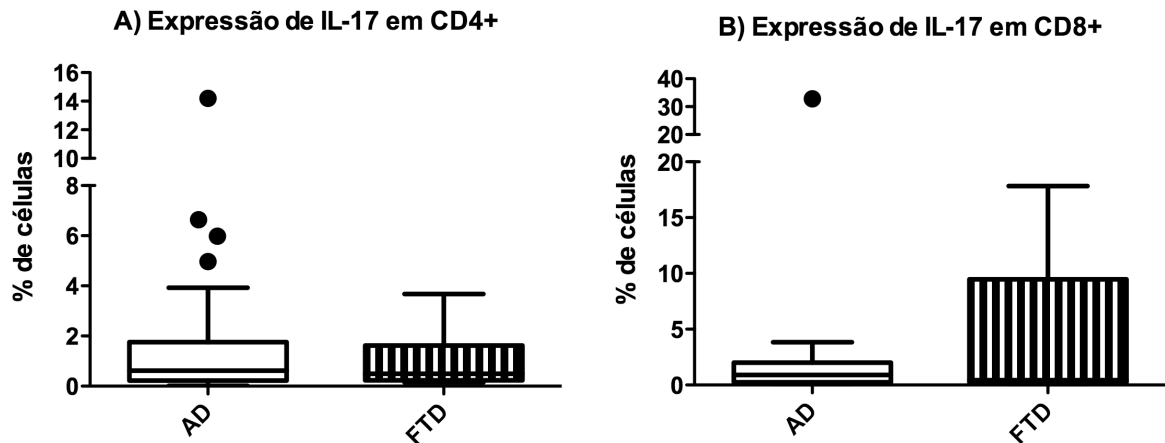


FIGURA 11: Expressão de IL-17 em linfócitos $CD4^+$ (A) e $CD8^+$ (B). As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti- $CD4$, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares IL-17, adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. O teste não paramétrico Mann-Whitney foi usado e os valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Os pontos representam as observações extremas (*outliers*).

Com intuito de estudar a imuno reatividade entre os grupos, analisou-se também, a expressão do receptor para HLA nos monócitos e linfócitos. Contatou-se, assim, que a percentagem de linfócitos que expressa CD4⁺ no grupo FTD (9.08%±3.59) era menor que no grupo AD (9.08%±3.59); p=0,008.

Também ao analisar os monócitos CD14⁺ não se verificou diferença significativa em relação à frequência de expressão HLA-DR p=0,960. A mediana da frequência de expressão de HLA-DR nas células T CD14⁺ foi 49,93%±16,41 nas células com FTD e 74,74%±10,21 nas células com AD (figure 12).

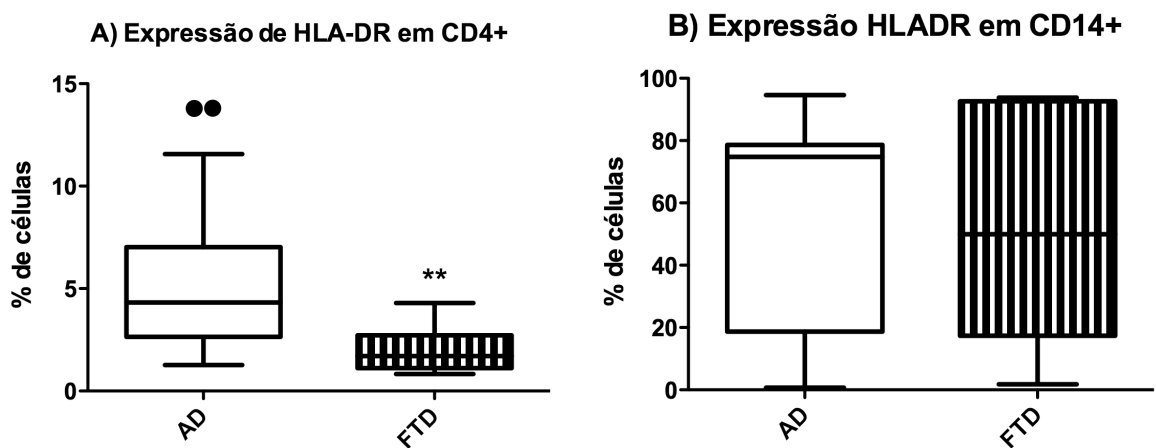


FIGURA 12: Expressão de HLA-DR em linfócitos CD4⁺ (A) e monócitos CD14⁺ (B). As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti-CD4, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares HLA-DR, adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. O teste não paramétrico Mann-Whitney foi usado e os valores de p≤0.05 foram considerados estatisticamente significativos. Os pontos representam as observações extremas (*outliers*).

** p<0,01

A resposta imune depende da complexa interação entre os processos pró-inflamatório e anti-inflamatório. Para estudar a associação dessas citocinas, envolvidas à resposta Th₂/Treg/Th3, analisaram-se as citocinas IL-4, TGF- β e IL-10. Não foi encontrado, porém, em nenhum desses casos, diferença estatisticamente significativa entre os grupos. A expressão de IL-10 foi avaliada nos linfócitos CD4⁺, CD8⁺ e em monócitos CD14⁺. Nas células CD4⁺, a mediana do percentual de expressão de IL-10, no grupo FTD, foi 1,88% \pm 1,21 erro padrão e 1,37% \pm 1,73 no AD; p=0,879. Quanto aos linfócitos CD8⁺, observou-se frequência de expressão de 1,54% \pm 0,98 para FTD; 1,84% \pm 3,81 para AD; p=0,429. No caso dos monócitos, a frequência de expressão foi 5,65% \pm 2,01 para FTD; 5,77% \pm 1,99 para AD; p=0,731. A propósito, vejam-se os gráficos abaixo:

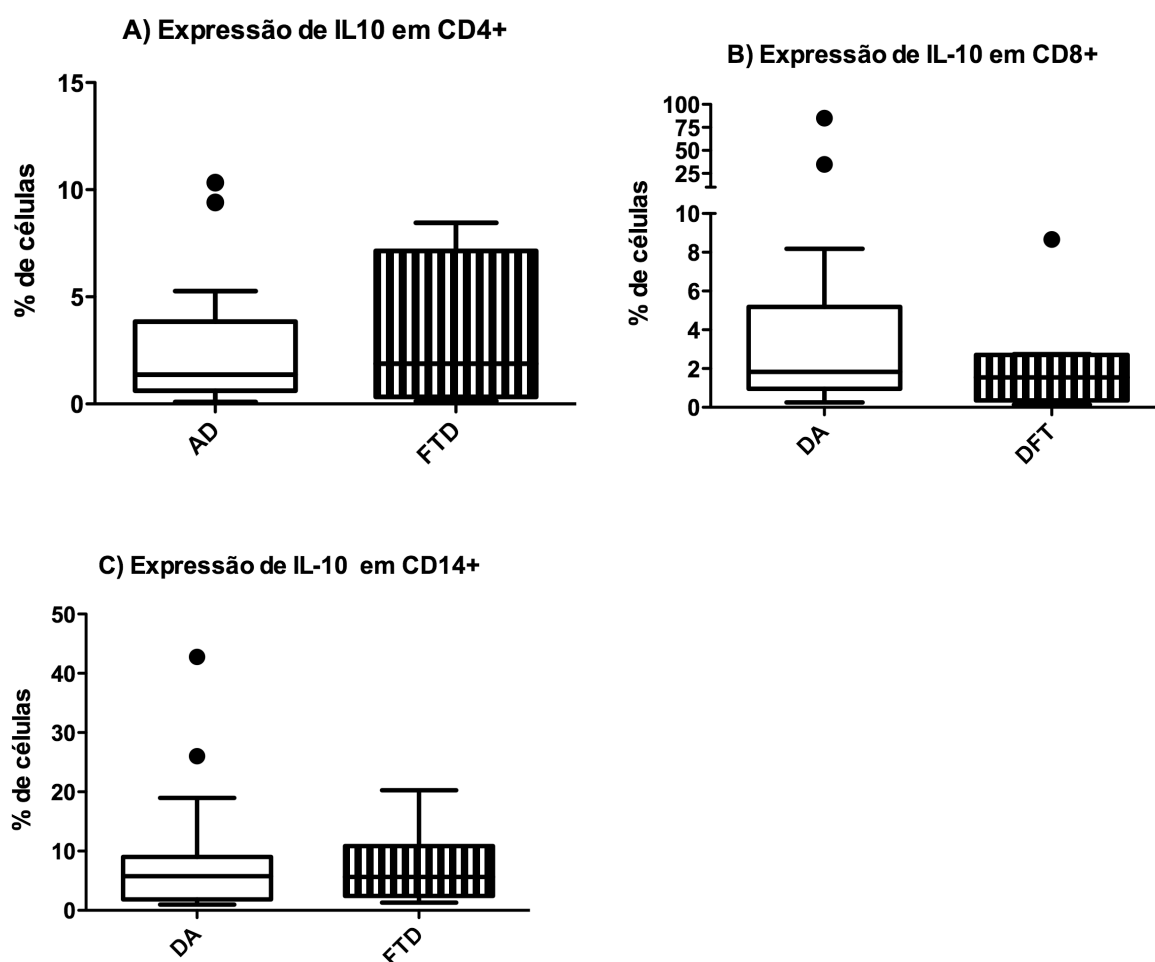


FIGURA 13: Expressão de IL-10 em linfócitos CD4⁺ (A), linfócitos CD8⁺ (B) e monócitos CD14⁺ (C). As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti-CD4, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares IL-10, adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. O teste não paramétrico Mann-Whitney foi usado e os valores de p \leq 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Os pontos representam as observações extremas (outliers).

Em relação a IL-4, citocina característica do perfil Th₂, também não se verificou diferença significativa entre os grupos. A mediana da frequência de expressão dessa citocina, nas células CD4⁺, foi 9,08%±3,59, no grupo FTD; 8.27%±3.49 no AD; p=0.613. (figura 8).

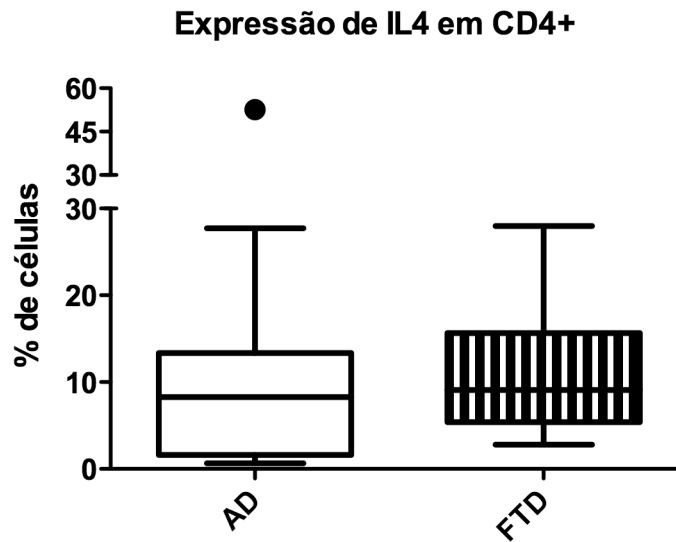


FIGURA 14: Expressão de IL-4 em linfócitos CD4⁺. As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti-CD4, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares IL-4, adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. O teste não paramétrico Mann-Whitney foi usado e os valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Os pontos representam as observações extremas (*outliers*).

Outra proteína anti-inflamatória, que também participa do processo de desenvolvimento, reparação e sobrevivência dos neurônios, é o fator de transformação do crescimento beta (TGF- β). No grupo FTD, a mediana da expressão desse fator nas células T CD4⁺ foi 3,46% \pm 6.15 e 3,87% \pm 2.32 no grupo AD ($p=0,710$), conforme se vê na figura 15 abaixo. Sabe-se que, dentre os pacientes com AD um subgrupo apresenta muita alteração comportamental. Esse subgrupo, denominado BPSD, no presente trabalho se manifesta clinicamente, de forma muito semelhante aos pacientes com a bv-FTD. A figura abaixo ilustra a expressão de TGF- β nesse grupo, nos pacientes com AD (excluídos os pacientes com BPSD) e FTD.

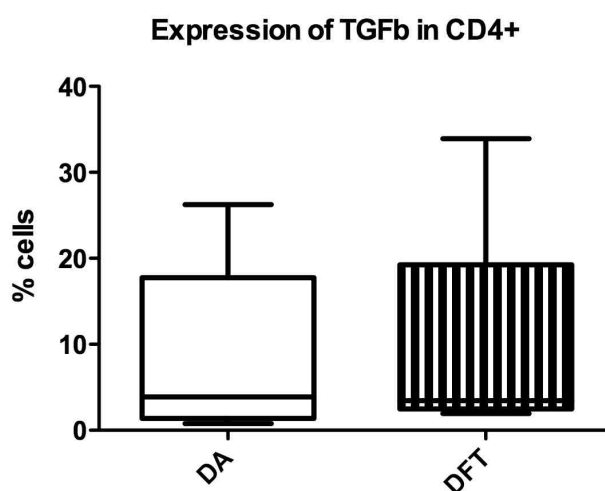


FIGURA 15: Expressão de TGF- β em linfócitos CD4⁺ em pacientes FTD e AD. As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti-CD4, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares TGF- β , adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. Os pontos representam as observações extremas (*outliers*). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism, usando o teste não paramétrico Mann-Whitney. Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. * $p \leq 0,05$

Uma característica marcante das doenças neurodegenerativas é a morte neuronal acelerada. Isso pode ocorrer por desequilíbrio nas vias que sinalizam a apoptose e sobrevivência da célula. Entre as proteínas que são capazes de estimular a sobrevivência neuronal, bem como seu crescimento ou diferenciação, incluem-se as neurotrofinas. Nesse grupo, incluiu-se o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), fator esse avaliado no presente trabalho. Observou-se aumento na frequência de expressão desse fator nos linfócitos T CD4⁺ dos pacientes com FTD. A mediana dessa expressão, nesse grupo foi 2,72%±6,58; e no grupo AD, 1,47%±2,70 (p=0.029) como mostra a figura 16 a seguir.

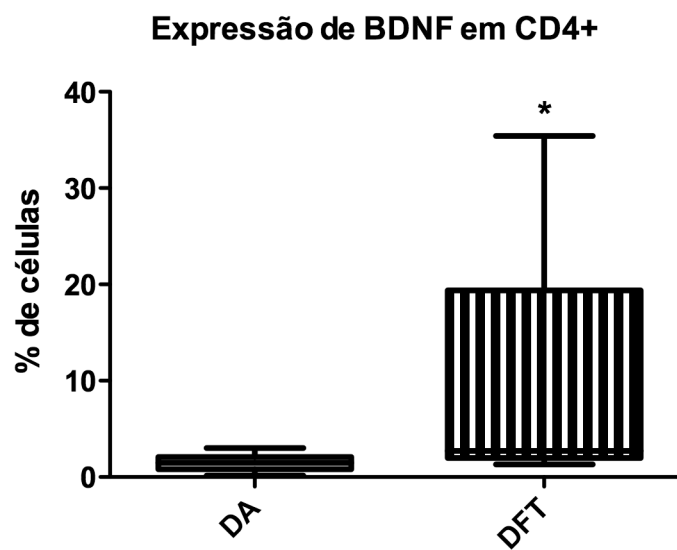


FIGURA 16: Expressão de BDNF em linfócitos T CD4⁺. As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti-CD4, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares BDNF, adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. O teste não paramétrico Mann-Whitney foi usado e os valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. * $p \leq 0,05$

Outra proteína avaliada neste trabalho foi a CD95 (receptor FAS ou antígeno 1 da apoptose). CD95 é um receptor de superfície que faz parte de uma das vias de morte programada (apoptose). A análise desse receptor não mostrou diferença entre os grupos aqui pesquisados. A mediana da expressão desse receptor foi $2,00 \pm 0,79$ no grupo AD e $1,450,47$ no grupo FTD; $p=0,669$.

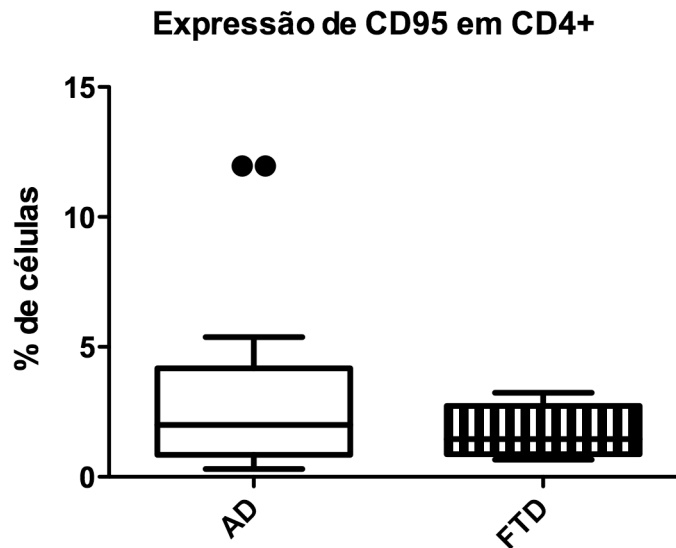


FIGURA 17: Expressão de CD95 em linfócitos CD4⁺. As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti-CD4, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares CD95, adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. O teste não paramétrico Mann-Whitney foi usado e os valores de $p \leq 0.05$ foram considerados estatisticamente significativos.

A ativação dos linfócitos não depende apenas da ligação do antígeno com o complexo TRC da superfície do linfócito. Além dessa interação, é necessária, ainda, a ocorrência de um segundo sinal pelas vias coestimuladoras. Com intuito de estudar alguns elementos dessa via, pesquisou-se a expressão de CD80, CD28 e CTLA-4.

Assim sendo, optou-se por iniciar a análise do CD80 (B7-1) o qual está presente em monócitos e células B ativadas. A mediana da expressão de CD80 no grupo AD foi $4,26 \pm 0,85$ e no grupo FTD foi $2,67 \pm 1,56$; $p=0,59$ (figura 18). A mesma expressão, analisada, então, nos linfócitos B CD19⁺, não detectou diferença entre os grupos. A mediana da frequência de expressão de CD80, nessas células, foi $6,96 \pm 1,17$ no AD; e $9,88 \pm 2,94$ no FTD; $p=0,177$ (figura 18B). Entretanto, observando, pois, a expressão de CD80 (B7-1) após estímulo com LPS, verificou-se aumento dessa proteína no grupo AD ($9,00 \pm 2,27$), quando comparada com FTD ($3,41 \pm 1,19$) e controle ($2,25 \pm 1,82$); $p=0,023$.

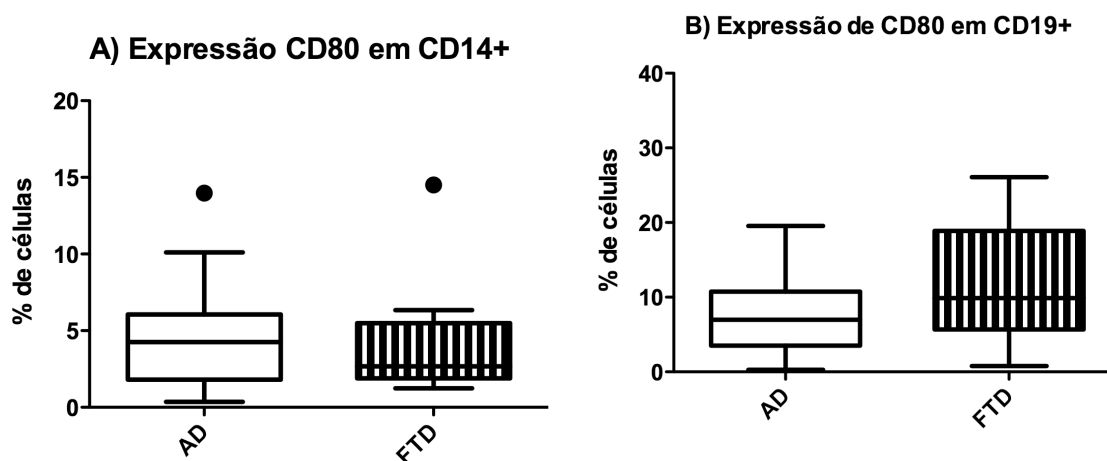


FIGURA 18: Expressão de CD80 em monócitos CD14⁺ (A), linfócitos B CD19⁺ (B). As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti-CD4, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares CD80, adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. O teste não paramétrico Mann-Whitney foi usado e os valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Os pontos representam as observações extremas (*outliers*).

Em seguida, analisou-se a expressão de CD28, que é uma das moléculas que produzem sinal coestimulador para ativação dos linfócitos T e liga-se ao CD80. Não foi detectada nenhuma diferença significativa na expressão de CD28, nos linfócitos T CD4⁺ ou CD8⁺. Sua expressão nas células CD4⁺ foi 90,43±2,75 no grupo AD e 93,71±3,29 no FTD; p=0,562. Já nas células CD8⁺, a expressão de CD28 foi 32,66 ±2,85 no grupo AD e 24,38±4,85 no FTD; p=0,281.

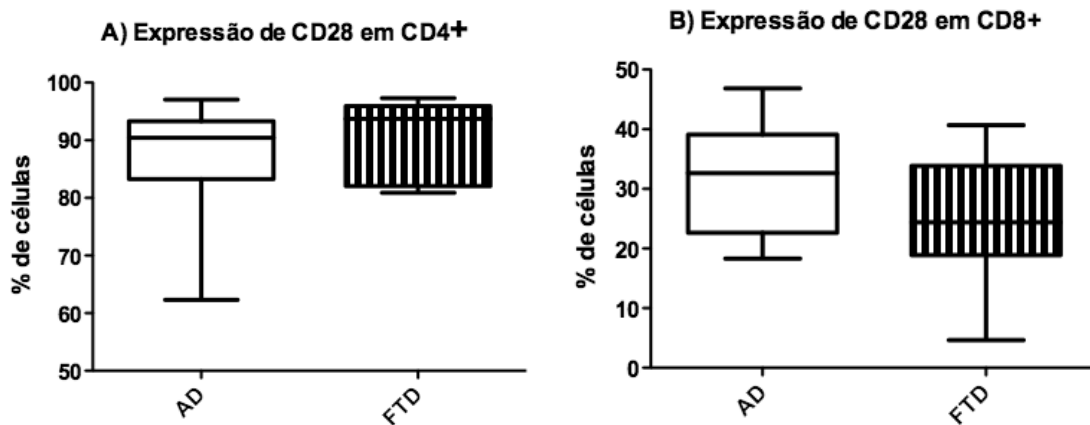


Figura 19: Expressão de CD28 em linfócitos CD4⁺ (A), linfócitos CD8⁺ (B). As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti-CD4, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares CD28, adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. O teste não paramétrico Mann-Whitney foi usado e os valores de $p \leq 0.05$ foram considerados estatisticamente significativos. Os pontos representam as observações extremas (*outliers*).

Como demonstrado na figura a seguir, a mediana da frequência de expressão de CTLA-4, nas células T CD4⁺ foi 0,43±0,12 no grupo AD; e 0,34±0,26 no FTD; p=0,470. Análise semelhante foi realizada nas células CD8⁺, também não se verificou diferença na percentagem da expressão de CTLA-4 entre os grupos (FTD=0,59%±0,24; AD=0,95%±0,22; p=0,479. Quando o estímulo inibidor CTLA-4 da via coestimuladora foi avaliado na presença de estímulo, detectou-se redução drástica da expressão de CTLA-4 nas células T CD4⁺. Nessa condição, a mediana da expressão dessa molécula foi 1,00±0,58 no grupo AD e 0,45±1,55 no grupo FTD; p=0,012.

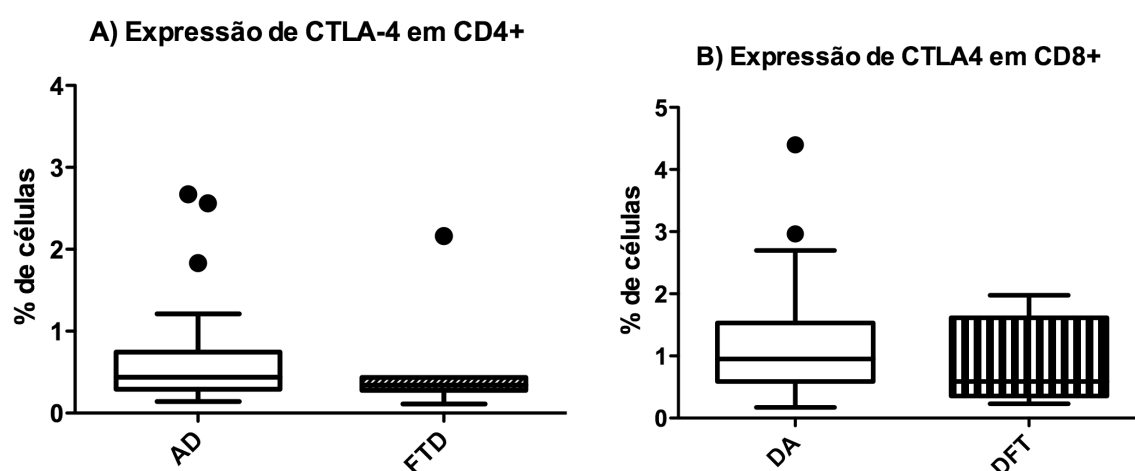


FIGURA 20: Expressão de CTLA-4 em linfócitos CD4⁺ (A), linfócitos CD8⁺ (B). As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti-CD4, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares CTLA-4, adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. O teste não paramétrico Mann-Whitney foi usado e os valores de p≤0.05 foram considerados estatisticamente significativos. Os pontos representam as observações extremas (*outliers*).

Quanto às células T ainda não entraram em contato com antígenos, elas expressão CD45 a qual é uma proteína tirosina fosfatase denominada CD45. Neste estudo, investigou-se a expressão de uma de suas isoformas, a CD45RA. Assim, a mediana da frequência de células T CD4⁺, que expressam essa tirosina fosfatase, foi 3,25±4,36 nas células com FTD e 14,84%±4,37 nas células com AD; p=0,199. Como se vê na figura abaixo.

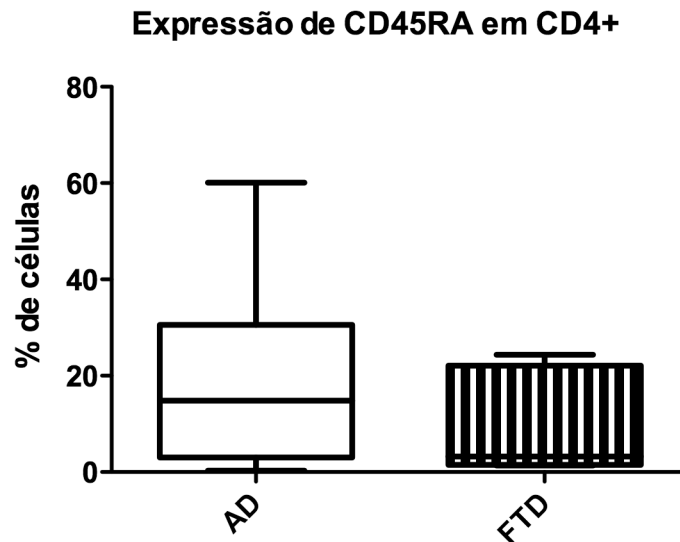


FIGURA 21: Expressão de CD45RA em linfócitos CD4⁺. As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti-CD4, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares CD45RA, adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. O teste não paramétrico Mann-Whitney foi usado e os valores de p≤0.05 foram considerados estatisticamente significativos.

Por fim, outra citocina avaliada foi o fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF). Esse fator é parte da resposta inflamatória e, quando ativado, mesmo em pequenas quantidades, provoca aumento significativo no número de macrófagos e granulócitos. Sua análise não revelou diferença entre os grupos avaliados ($6,70 \pm 1,84$ no grupo FTD e $4,43 \pm 1,42$ no AD; $p=0,746$; figura 22).

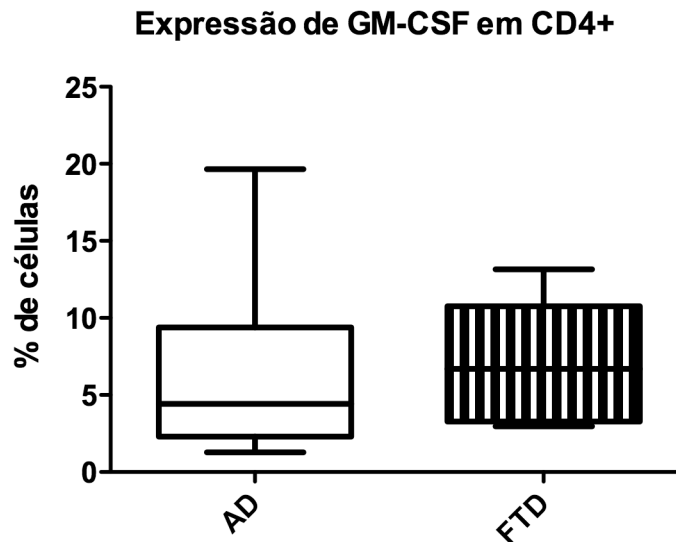


FIGURA 22: Expressão de GM-CSF em linfócitos CD4⁺. As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti-CD4, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares GM-CSF, adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. O teste não paramétrico Mann-Whitney foi usado e os valores de $p \leq 0.05$ foram considerados estatisticamente significativos.

Optou-se aqui por apresentar uma análise, ainda que parcial, para chamar a atenção da importância da continuidade deste estudo, ou seja, prosseguir a análise dos subgrupos específicos de pacientes. Os pacientes com BPSD devem ter um comprometimento dos circuitos frontais, que controlam o comportamento, mais significativos que o restante dos pacientes com AD. Dessa forma, os pacientes com BPSD são mais semelhantes com os pacientes com FTD. Averigou-se portanto, se há uma correlação entre a semelhança clínica com o perfil imunológico.

Assim sendo, a mediana da expressão de TNF- α nos linfócitos CD4⁺ foi: 0,9 \pm 2,2 no grupo AD; 6,2 \pm 7,7 no FTD; e 1,4 \pm 4,1 no BPSD; p=0,02. Já a mediana da expressão de TGF- β , nos linfócitos CD4⁺ foi: 2,0 \pm 2,2 no grupo AD; 2,5 \pm 6,1 no FTD; e 19,8 \pm 2,1 no BPSD; p=0,037.

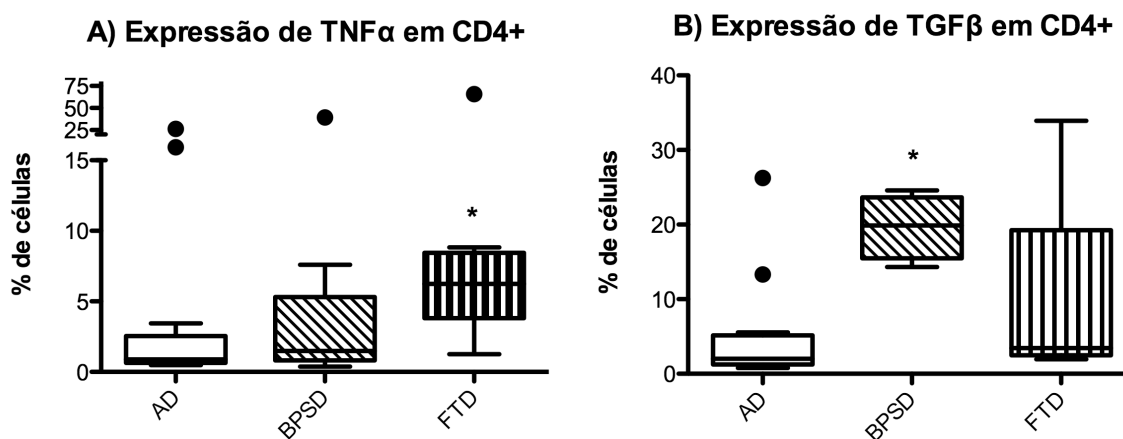


FIGURA 23: Expressão de TNF- α (A) e TGF- β (B) em linfócitos CD4⁺ após estratificação do grupo AD na presença ou ausência de BPSD (B). As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram marcadas com anticorpos de superfície anti-CD4, conjugados com FITC e anticorpos intracelulares TNF- α e TGF- β , adquiridas em citômetro de fluxo (GUAVA-GE). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism. Os pontos representam as observações extremas (*outliers*). As análises foram feitas em software Cytosoft Pro4.1 (GE) e de estatística GraphPad Prism, usando o teste não paramétrico Kruskal-Wallis. Valores de p \leq 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. * p \leq 0,05

A tabelas a seguir sumarizam os resultados estatísticos obtidos relativos à expressão das imunomoléculas nos monócitos CD14⁺ (tabela 3), nos linfócitos T CD4⁺ (tabela 4) e linfócitos T CD8⁺ (tabela 5) quando se comparou a expressão entre os três grupos: controle, FTD e AD. Utilizou-se para tal, o teste Kruskal-Wallis seguido da análise post-hoc pelo Dunn's Multiple Comparison Test.

Tabela 3: Resultados estatísticos da comparação entre os grupos Controle, AD e FTD nos monócitos CD14⁺.

Molécula	Controle	AD	FTD	Valor de p
IL-1 α	6,7 \pm 8,4	17,0 \pm 7,7	7,8 \pm 18,0	0,09
IL-1 β	4,2 \pm 9,4	23,0 \pm 5,7	6,4 \pm 12,0	0,81
CCL2	7,8 \pm 1,3	5,6 \pm 1,8	4,6 \pm 2,9	0,37
CCL3	16,6 \pm 3,8	14,0 \pm 7,0	5,9 \pm 1,2	0,08
CXCL10	5,6 \pm 1,6	5,2 \pm 3,7	4,6 \pm 5,7	0,92
TNF- α	15,3 \pm 15,6	9,8 \pm 18,5	8,9 \pm 14,1	0,46
IL-6	5,01 \pm 10,2	4,7 \pm 5,4	18,0 \pm 11,0	0,48
IL-10	4,6 \pm 1,6	5,8 \pm 2,0	5,7 \pm 2,0	0,87
CD80†	4,5 \pm 1,4	4,3 \pm 0,8	2,6 \pm 1,5	0,80
HLA-DR	62,5 \pm 20,0	74,7 \pm 10,2	49,9 \pm 16,41	0,97

† o CD80 foi avaliado em linfócitos B CD19⁺

Tabela 4: Resultados estatísticos da comparação entre os grupos Controle, AD e FTD nos linfócitos T CD4⁺.

Molécula	Controle	AD	FTD	Valor de p
CCR5	1,2±0,37	1,1±1,0	0,6±0,1	0,40
TNF- α	3,7±1,0	1,1±2,1	6,2±7,6	0,01*
IL-6	2,2±8,8	1,5±0,4	2,4±0,9	0,65
IL-10	0,5±0,4	1,4±1,7	1,9±1,2	0,06
IL-4	1,6±3,6	8,3±3,5	9,1±3,6	0,25
IL-17	1,2±0,4	0,6±0,4	0,5±0,4	0,53
CD80	8,5±6,8	7,0±1,2	9,9±2,9	0,29
CD28	96,0±1,3	90±2,8	94±3,3	0,11
CTLA-4	0,5±0,2	0,4±0,1	0,3±0,2	0,53
BDNF	2,6±0,7	1,5±0,23	2,7±15	0,07
HLA-DR	3,0±13,0	4,3±,09	1,7±,05	0,02*
TGF- β	3,2±1,7	3,9±2,3	3,5±6,1	0,77
CD45RA	9,0±3,6	15,0±4,4	3,3±4,4	0,362
CD95	1,9±1,3	2,0±0,8	1,5±0,4	0,869
GM-CSF	8,0±2,0	8,0±2,0	6,7±1,8	0,49

* p \leq 0,05

Tabela 5: Resultados estatísticos da comparação entre os grupos Controle, AD e FTD nos linfócitos T CD8⁺.

Molécula	Controle	AD	FTD	Valor de p
TNF- α	1,3±1,3	1,5±0,4	5,9±1,5	0,14
IL-10	0,8±0,4	1,8±3,8	1,5±0,9	0,19
IL-17	1,5±0,5	0,9±2,1	0,4±2,2	0,92
CD28	35,0±10,0	33,0±2,8	24±4,9	0,58
CTLA-4	0,6±0,4	0,9±0,2	0,6±0,2	0,59

5. DISCUSSÃO

Procurou-se, no presente trabalho, comparar os aspectos imunológicos entre os pacientes com FTD e AD. Entretanto, como em algumas situações, o grupo AD não constituía um grupo de comparação satisfatório, optou-se, então, por incluir, nessas situações, os dados referentes ao grupo controle. Cabe ressaltar que, do ponto de vista da prática clínica, tal inclusão não faz sentido pois o atendimento de pessoas com incapacidade cognitiva requer instrumentos ou exames que corroboram a determinação da etiologia da doença, não tendo, por objetivo, definir se se trata de pessoas doentes. Segundo a literatura, até o presente momento, não há registro de trabalhos realizados em pacientes com FTD, como o que aqui se propõe, principalmente, utilizando-se células mononucleares do sangue periférico. Ademais, ele pode ser visto, também, como um trabalho que visa a elucidar alguns elementos envolvidos no processo degenerativo da FTD e a buscar potenciais biomarcadores para FTD.

Tendo em vista o foco do estudo, realizar uma análise comparativa dos casos de FTD, a discussão sobre o próprio diagnóstico de FTD aqui se impõe. Afinal, a dificuldade em diagnosticar essa entidade clínica e a falta de um exame capaz de confirmá-lo podem não garantir, mesmo com o rigor dos critérios de inclusão do presente trabalho, a exclusão, com absoluta certeza, da presença de pacientes dementes não portadores de FTD no grupo FTD. É possível, por exemplo, que portadores de doença de Alzheimer, de início precoce e com manifestação clínica atípica estejam contaminando o grupo FTD. Isso, porém, só poderá ser elucidado caso, no futuro, o encéfalo desses pacientes forem submetidos à avaliação anatomopatológica. Estudos, por exemplo, que discutem a dificuldade diagnóstica e/ou estudos anatomopatológicos, realizados após a definição dos novos marcadores histopatológicos da FTD revelaram que alguns casos descritos em centros de referência internacional como FTD não possuíam patologia compatível com FTD (164-168).

Contudo, apesar de não fazer parte dos critérios diagnósticos de FTD iniciais e de não se incluir no presente estudo, a tomografia por emissão de fóton único (SPECT) pode ser útil na confirmação do diagnóstico (169). Ressalta-se que a não realização desse exame se deve ao fato de ele não estar disponível no Sistema Único de Saúde. Considerando a possibilidade de AD na sua forma precoce e atípica, como um dos principais diagnósticos diferenciais do grupo com FTD, a realização da tomografia por emissão de pósitron (PET), empregando o composto B de Pittsburg ¹¹C-labeled Pittsburgh Compound-B, (¹¹C-PIB) (84) também poderia aumentar a acurácia diagnóstica. Entretanto, além do elevado custo desse

procedimento, ele não é disponível em nosso meio. Hoje, somente os grandes centros de pesquisa dispõem de tal recurso.

A própria doença de Alzheimer, demência mais estudada, e com um quadro clínico muito característico nas formas clássicas, apresenta a mesma dificuldade diagnóstica. Justamente por isso que, no último consenso diagnóstico de AD, recentemente publicado, se incorporaram, pela primeira vez, os biomarcadores no processo diagnóstico da AD. Além disso, com intuito de aumentar a acurácia do diagnóstico clínico de AD, incluiu-se, também, neste consenso, o declínio cognitivo documentado como elemento capaz de aumentar a probabilidade AD (170).

Posto isso, optou-se, neste estudo, pelo acompanhamento aos pacientes dementados durante certo tempo, antes da realização da coleta de sangue para análise. Essa foi a estratégia encontrada no presente trabalho para reduzir a probabilidade de erro diagnóstico. Ao contrário de outras síndromes demenciais, no caso da FTD, esse cuidado é particularmente importante pelos seguintes motivos: existência de pacientes com fenótipo semelhante ao bv-FTD (conhecidos como *fenocópias*) (171); e no início da doença é comum o paciente não apresentar todos os sintomas necessários ao estabelecimento de um diagnóstico preciso (165). Na verdade, a doença, nos pacientes que podem ser classificados como fenocópias, apresenta, de acordo com a literatura, um curso benigno. Além disso, as avaliações do encéfalo por RNM seriadas não mostram evidências de atrofia significativas. Dessa forma, questiona-se se eles, na realidade, são portadores de doença neurodegenerativa, ou se se trata de alterações da personalidade. Nesse caso, estariam incluídos dentro do espectro dos transtornos psiquiátricos, como, por exemplo, a síndrome de Asperger, mesmo sem ter os critérios suficientes para nele serem incluídos (172).

Sabendo-se, então, que os pacientes que se enquadram no diagnóstico de *fenocópia* não apresentam atrofia significativa (173), adotou-se, como critério de inclusão no grupo FTD, a presença de atrofia cortical na tentativa de reduzir essa contaminação no grupo FTD. O acompanhamento dos pacientes, ao longo do tempo, levando a incluir, na pesquisa, somente aqueles que manifestassem declínio funcional nas atividades da vida diária, corrobora, também, a exclusão das fenocópias, haja vista as diferenças no declínio nas AVDs entre os pacientes com bv-FTD (que progride) e as bv-FTD fenocópias (174).

Em relação às características demográficas dos pacientes incluídos no grupo FTD, pode-se dizer que elas estão em absoluta concordância com os dados da literatura. As vítimas de FTD, em estudo, no momento da coleta de sangue, eram mais novos que os pacientes com Alzheimer, em média, mais de dez anos. Isso mostra que essa demência afeta, também, pacientes mais jovens. Quanto à distribuição da doença, entre os sexos, no grupo FTD, em análise, não houve diferença significativa. Praticamente o mesmo número de homens e mulheres apresentaram demência, dado esse que se assemelha aos estudos epidemiológicos realizados (35). Cumpre ressaltar, ainda, que os pacientes com síndrome demencial avançada foram excluídos desse grupo por apresentarem um grau de neurodegeneração muito avançado. Especula-se que, nessas fases, o estado do processo inflamatório seja diferente das fases iniciais. Como, na prática clínica, as fases iniciais da FTD são mais importantes, optou-se por focar as fases iniciais da doença. Contudo, acredita-se que a análise ao longo do tempo desses pacientes, repetindo as dosagens em diferentes momentos da doença, possa produzir correlações interessantes com o surgimento de sintomas específicos e corroborar a correlação da evolução da doença com seus aspectos moleculares. Ressalta-se, aqui, também, que não há padronização de critérios definidores de FTD nas diversas fases, como a da *clinical dementia rate* (CDR) (175) usada para definir a gravidade da doença de Alzheimer. Por conseguinte, utilizaram-se como critério para excluir os pacientes com FTD, em fases avançadas, os critérios do CDR=3 (demência avançada) definidos para doença de Alzheimer, acrescidos de dois elementos a saber: alterações de linguagem que tornavam o indivíduo incapaz de se comunicar e/ou alterações de comportamento suficientes para impedir o contato interpessoal bidirecional. Tais critérios se assemelham às características do CDR, modificados para aplicação nos casos de FTD, publicados recentemente (176).

Assim sendo, a maioria dos pacientes incluídos no grupo FTD era afetada pela forma bv-FTD o que era já esperado. Dado tal predomínio, especula-se que todos os resultados obtidos se apliquem, principalmente, a essa forma. A forma de elucidar essa questão de modo mais contundente seria aumentar o número de pacientes em cada um dos subtipos da FTD e compará-los com cada tipo dessa síndrome separadamente. Tal procedimento, entretanto, não é confiável dado o número reduzido de pacientes que integram os subtipos da afasia progressiva primária. Também, como se previa, a maioria dos pacientes em questão padecia de FTD esporádica.

Vale lembrar, aqui, que a suspeita de FTD familiar foi remotamente aventada em apenas um paciente. Aliás, essa proporção muito reduzida de casos dessa síndrome, associada à história familiar positiva, é muito discrepante do esperado. Há um consenso na literatura segundo o qual uma proporção muito grande de pacientes com FTD apresenta história de demência em parentes de primeiro grau. A propósito, a proporção de pacientes com história familiar positiva descrita oscila de 33% na série de Cambridge-Sydney, que tem confirmação patológica (46), a 50% em outros trabalhos (11). Ressalva-se, porém, que a suspeita da ocorrência de história familiar associada à FTD, numa parcela tão pequena como a deste estudo, não significa que, em nosso meio, a proporção de casos esporádicos seja a maioria. Acredita-se que isso se deva ao baixo nível cultural da nossa população; à carência de informações sobre as condições de saúde dos pais, principalmente dos já falecidos; ao desconhecimento de tal entidade pelos profissionais da área de saúde, inclusive, os médicos que atenderam os parentes dos pacientes com FTD, há algumas décadas.

Em última análise, revisando as estratégias utilizadas neste estudo, para garantir que os pacientes incluídos no grupo FTD fossem, de fato, muito representativos de tal condição, e analisando os novos critérios adotados para o diagnóstico de bv-FTD (17), afirma-se que todos os casos com bv-FTD, incluídos neste grupo, apresentavam o diagnóstico de demência frontotemporal provável.

No que tange às limitações práticas, como descritas anteriormente, um aspecto foi positivo e relevante neste trabalho – o uso de sangue periférico como ferramenta de análise. Assim como inúmeras outras condições neuropsiquiátricas, a falta de exame definidor do diagnóstico de FTD acarreta algumas dificuldades práticas e éticas. A busca por um biomarcador de fácil execução, baixo custo, alta sensibilidade e especificidade, além de ser um exame não invasivo, é quase um sonho. Além do mais, esse procedimento não só contribui, sobremaneira, para a prática clínica assistencial, como também desafia o pesquisador a perquirir diversos critérios necessários à determinada alteração como biomarcador. Dentre as estratégias utilizadas pela medicina, para análise das condições clínicas e diagnósticas, destaca-se a análise de sangue. Trata-se de exame minimamente invasivo, praticamente desprovido de complicações, amplamente aceito pelos pacientes, além de inúmeras outras vantagens.

Todavia, a respeito do emprego do sangue periférico, como alvo do presente estudo, algumas implicações positivas e negativas devem ser ressaltadas aqui. Como já dito, trata-se de um procedimento vantajoso por não ser invasivo (quando comparado, por exemplo, com a punção lombar para análise do líquido), ser um exame de menor custo e elevada reprodutibilidade. Dentre as críticas a esse método, merece destaque o seguinte questionamento: qual a real correlação entre as alterações presentes em células do sangue periférico e os neurônios ou micróglia central? Embora tal pergunta não possa ser completamente respondida, algumas considerações podem ser feitas. Assim sendo, estudos realizados mostram que há sim uma relação entre os dois sistemas e é possível fazer inferências sobre eventos que ocorrem no sistema nervoso central a partir de observações em sangue periférico. Por exemplo, demonstrar que a expressão gênica em PBMC de pacientes com esclerose lateral amiotrófica (ALS) se correlaciona com alterações centrais (177). A propósito, Nardo e colaboradores investigaram um painel de biomarcadores em PBMC de pacientes com ALS e demonstraram que o uso de uma combinação de biomarcadores em PBMC poderá ser útil no diagnóstico diferencial, na avaliação da gravidade da doença, na sua progressão, podendo, ainda, elucidar mecanismos patogênicos da ALS (178). Outros estudos demonstraram também a utilidade dessa técnica como ferramenta para estudar doenças psiquiátricas (179-183). Ressalta-se, ainda, além das vantagens acima apontadas, que esse procedimento pode ser repetido em várias ocasiões, no mesmo paciente.

Com referência ao emprego da citometria de fluxo, como técnica para análise dos parâmetros imunológicos, oferece, ainda, algumas vantagens ao pesquisador. Ao contrário da detecção direta dos níveis de citocinas no plasma, a citometria de fluxo permite, ao mesmo tempo, caracterizar o tipo celular e o conteúdo intracitoplasmático da citocina estudada (184). Parece ainda que os níveis de citocinas detectados pela citometria de fluxo com a técnica empregada se correlacionam com a detecção de mRNA da citocina (159).

Considerando-se que as dosagens periféricas realizadas incluem citocinas, a literatura demonstra claramente, como na revisão feita por Dantzer e colaboradores, que as citocinas periféricas influenciam o cérebro. O sistema imune inato, ao produzir citocinas pró-inflamatórias, pode gerar comportamento doentio (sickness behaviour) ou depressão ao afetar o cérebro (185).

Afinal, as doenças neurodegenerativas são caracterizadas por perda neuronal

significativa. Com relação à demência frontotemporal, é uma doença neurodegenerativa que afeta as projeções e os circuitos neuronais da camada superior do lobo frontal, na porção anterior do lobo temporal, cíngulo anterior e córtex insular anterior ocasionando efeitos devastadores nos circuitos corticocorticais. Apesar dos avanços na compreensão da fisiopatologia da FTD, muito pouco se sabe acerca dos processos moleculares nela envolvidos. Em oposição à doença de Alzheimer, cujas inúmeras evidências demonstram o papel do sistema imune na patofisiologia dessa doença, na FTD as evidências são bem restritas, como já descrito na introdução deste estudo. Contudo, não se pode desconsiderar a possibilidade do envolvimento do sistema imune na FTD, principalmente pela crescente importância dele em condições basais.

Antigamente, as citocinas eram vistas apenas como imunomoduladores que participavam diretamente das respostas inflamatórias dentro do sistema nervoso central. Atualmente, elas já são amplamente aceitas como neuromoduladores e participam de processos fisiológicos essenciais, tais como, a plasticidade sináptica (95). Além do mais, citocinas pró-inflamatórias parecem produzir efeitos deletérios na disfunção neuronal, na viabilidade e na plasticidade sináptica (186). As citocinas estão envolvidas, ainda, na apoptose neuronal, que ocorre nas síndromes demenciais (187).

Ademais, Sjögren observou níveis aumentados de anticorpos contra gangliosídeos e especula um comprometimento da autoimunidade nos pacientes com FTD (188). Dessa forma, mesmo não tendo sido descrito ainda o real envolvimento do sistema imune na FTD, acredita-se que ele esteja sim envolvido na doença neurodegenerativa. Justifica-se, assim, uma investigação acerca dos imunomoduladores presentes nessa demência.

Cumprе ressaltar, ainda, que uma das citocinas pró-inflamatórias mais estudadas no sistema nervoso central é a IL-1. IL-1 α e IL-1 β são expressas de forma constitutiva, em baixas concentrações no encéfalo mas são rapidamente *upregulated* ante um estímulo. Elas exercem efeitos biológicos similares por agir no mesmo receptor. Acredita-se que elas estão envolvidas em processos relacionados com memória (*long term potentiation, LTP*) (189). Curiosamente, foi demonstrado que, durante situações de estresse ou com o envelhecimento, níveis elevados de IL- β estão aumentados e isso se correlaciona com alteração na LTP no hipocampo (95,190). Aliás, diversos trabalhos correlacionam elevações de IL-1 com a patogênese da doença de Alzheimer. Assim, alguns relatos demonstram que o processo neuroinflamatório e

os níveis elevados de IL-1 precedem a doença clínica. Embora muitos trabalhos mostrarem efeito deletério do aumento de IL-1 na AD, muitos autores têm demonstrado que a IL-1 pode produzir efeito benéfico por estimular células que promovem fagocitose e a degradação da placa amiloide (140). No presente trabalho, não se observou diferença nos níveis de IL-1 β entre o grupo AD e FTD. Entretanto, a frequência de expressão de IL-1 α em monócitos CD14⁺ é menor nos pacientes com FTD, sendo intensificada quando as células são estimuladas. Tal observação mostra que FTD e AD apresentam envolvimento distinto no sistema imune.

Dando sequência às análises de imunomoduladores expressos em monócitos CD14⁺, pesquisou-se a expressão de quimiocinas uma vez que a participação delas nos processos neurodegenerativos tem sido demonstrada e justificada pela atividade quimiotática nos fagócitos cerebrais (191). Essas moléculas constituem uma superfamília de citocinas quimiotáticas as quais exercem papel essencial na ativação e migração de leucócitos (192). Foram avaliadas, então, as quimiocinas CCL2, CCL3, CXCL10 e o receptor de quimiocina CCR5 em linfócitos T CD4⁺. Dentre essas moléculas, chamou-se a atenção, a exemplo da IL-1 α , a redução da expressão da quimiocina CCL3 e seu receptor CCR5, este último, somente quando as células foram estimuladas. CCR5 mostrou-se aumentado em pacientes com síndrome de fragilidade (193). Apesar da predominância de estudos relativos a IL-1 β em detrimento de IL-1 α , sabe-se que os efeitos das duas isoformas são bem semelhantes. Estudos demonstram que a liberação de CCL3 é estimulada pela IL-1 β e IL-1 α (194,195). No presente trabalho, foi observada a redução de IL- α o que poderia explicar a redução na expressão de CCL3. A expressão de CCR5 parece ser regulada, de forma distinta entre as células CD14⁺ e CD4⁺, por mecanismos ainda pouco elucidados (196). Embora não se possa explicar a razão pela qual a expressão de CCR5 esteja reduzida no grupo FTD, quando as células foram estimuladas, um fato chama a atenção: seu ligante CCL3 estar reduzido. Aventa-se assim, a possibilidade da redução de CCL3, observada nos pacientes do grupo FTD, ser um estímulo para *downregulation* do CCR5 nesse grupo. A visão global desses dados sugere que alguns processos inflamatórios envolvendo citocinas produzidas por monócitos CD14⁺ se reduzam nos pacientes com FTD. Mas essas quimiocinas são produzidas, no encéfalo, pelas células da glia, a qual é considerada o principal tipo celular envolvido na resposta imune inata no encéfalo. Contudo, ainda não está claro se as moléculas e células da imunidade inata e da células da glia apresentam efeito neurodestrutivo ou neuroprotetor (197,198).

Todavia, deve-se ressaltar que, mesmo considerando-se aspectos imunes associados a AD, principalmente os ligados à resposta inata, desencadeada pela acúmulo de peptídeos A β no cérebro (96), muitos estudos têm demonstrado a importância das células T, nessa condição. Cita-se, aqui, por exemplo, a ativação de linfócitos T periféricos nos pacientes com AD (199-202) além de alterações expressivas em linfócitos T CD4⁺, em pacientes com AD leve (203).

Diante do exposto, pesquisaram-se os imunomoduladores em linfócitos T, no sangue periférico, envolvidos no processo de neuroinflamação. Ao correlacionar apoptose neuronal e citocinas, pensa-se, inicialmente, na ativação da micróglia e na liberação de citocinas do perfil Th1 (TNF- α , IL-1 β e IFN- γ). TNF tem se demonstrado importante na sinalização de diversas funções no sistema nervoso central, incluindo: ativação da micróglia e astrócitos; regulação da permeabilidade da barreira hematoencefálica; respostas febris e neurotransmissão glutamatérgica (204) e plasticidade sináptica (205,206). Ele é também um importante indutor de lesão tecidual e morte neuronal, via seu receptor (TNF-R1) (207).

Com relação ao presente estudo, a frequência de expressão de TNF- α em linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ é maior nos pacientes com demência frontotemporal. Essas observações estão em concordância com o estudo que analisa moléculas inflamatórias no líquido cerebroespinal (104). No referido trabalho, observou-se, também, aumento de TNF- α e TGF- β no líquido dos indivíduos com FTD. Outros estudos reportaram aumento de TNF- α em pacientes com Alzheimer (119,208-211). Assim, fundamentando-se na literatura e nas observações do presente trabalho, ressalta-se a importância do TNF- α , central ou sua expressão periférica, na fisiopatologia de algumas demências (212).

Como já dito, as citocinas periféricas podem ativar vias de sinalização no sistema nervoso central (213). Isso ocorre, também, mediante um mecanismo de transporte do TNF- α pela barreira hematoencefálica que permite a entrada da citocina nesse compartimento central (214). Daí a importância de estudo de eventos ocorridos na periferia que possam influenciar o sistema nervoso (212). Diante disso, o estudo de Framingham, um dos estudos longitudinais mais importantes na medicina ocidental, avaliou, também, níveis periféricos de citocinas pró-inflamatórias. Esse autor observou que níveis aumentados na produção de IL-1 e TNF- α em PBMC aumentam o risco de desenvolvimento da doença de Alzheimer (208). Adverte-se, porém, que alterações na periferia podem não refletir exatamente o que acontece no encéfalo, fato esse que poderá comprometer a análise dos resultados. Contudo, o uso das PBMC como

ferramenta de estudo já está bem estabelecido (179-183). Assim sendo, reforça-se a importância desse exame, não invasivo, custo baixo e de fácil aplicação no cenário clínico.

A propósito, TNF- α periférico pode ativar micróglia, estimular a liberação de IL-1 β e provocar lesões nos hipocampo conforme verificados em camundongos que desenvolveram declínio cognitivo após cirurgia (215). Aventa-se, assim, uma hipótese para explicar o declínio cognitivo pós-cirúrgico, baseando-se na capacidade do TNF- α de iniciar e amplificar resposta inflamatória mediada pela micróglia, aliás descrita na literatura como fator muito importante na doença de Alzheimer, há vários anos. Tal ativação, tornando-se crônica, causa lesão neuronal via liberação de moléculas, potencialmente citotóxicas, tais como: citocinas pró-inflamatórias (IL-6 and TNF- α), quimiocina (CCL4), radicais livres de oxigênio, proteinases e proteínas dos sistema de complemento (216).

Mesmo sabendo que as dosagens em sangue periférico podem sofrer alterações na presença de diversas comorbidades, julgou-se importante averiguar as citocinas em sangue periférico nos pacientes com demência. Por isso, procurou, no presente trabalho, certificar-se de que todas as coletas de sangue fossem realizadas em pacientes cujas condições clínicas não alterassem a expressão periférica das citocinas avaliadas. Dado o volume de trabalhos que avaliam citocinas em sangue periféricos de pacientes com Alzheimer, foi possível realizar uma meta-análise sobre citocinas AD. Observou-se, então, que os pacientes com AD apresentavam aumento de citocinas pró-inflamatórias IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-12, and IL-18 em sangue periférico quando comparados com os do grupo controle (211). Entretanto, há uma heterogeneidade na dosagem de citocinas em sangue periférico o que limita sua utilidade como biomarcador para fins diagnósticos.

Foram analisadas, também, no presente trabalho, algumas citocinas anti-inflamatórias para averiguar se estas citocinas estariam realizando uma alça de retroalimentação negativa sobre o aumento de TNF- α observado. Foram analisadas, então, as citocinas IL-4, IL-10 e o fator de transformação do crescimento beta (TGF- β). Verificou-se que IL-4 estimula a diferenciação das células T naíve em células T não inflamatórias, enquanto IL-10 é um potente agente supressor de TNF- α , IL-1 α , IL- β e IL-6 (217). Já o TGF- β apresenta efeito neuroprotetor contra alguns insultos (excitotoxicidade, hipóxia e isquemia, por exemplo), além de apresentar propriedades anti-inflamatórias inibindo a produção de citocinas pró-inflamatórias como, por exemplo, a TNF- β , IL-1 e a IL-6 pelos astrócitos (218-220). Ao

realizar essas análises, constatou-se que a expressão de IL-10, IL-4 e TGF- β não estava alterada. Acredita-se, portanto, que o aumento de TNF- α não estaria sendo contrabalanceado. Por conseguinte há predomínio de citocinas inflamatórias, pelo menos periféricas, nos pacientes com FTD em relação aos pacientes com AD.

Em decorrência dos efeitos neuroprotetores descritos para TGF- β , cientistas aventam a possibilidade do TGF- β 1 ser um novo alvo terapêutico para doença de Alzheimer, haja vista que se observa redução da função da via do TGF- β 1 nas células do SNC de pacientes com AD. A redução desse fator parece contribuir para formação dos emaranhados neurofibrilares os quais são decorrentes da hiperfosforilação da tau e desestabilização do citoesqueleto e constituem um dos principais marcadores histopatológicos da doença de Alzheimer (221,222). Assim como AD, FTD também é uma tauopatia, contudo, muito pouco se pesquisou sobre esse fator nessa síndrome. Uma análise do nível de TGF- β , no líquido cefalorraquidiano de paciente com FTD mostrou-o aumentado quando comparado com o grupo controle (104).

Foi também aferida, neste estudo, a expressão de IL-6 uma citocina pró-inflamatória cujos níveis mostraram-se aumentando em diversos estudos realizados com pacientes com AD (211). Essa citocina é considerada um elemento central na síndrome de fragilidade (223) mas não apresentava-se alterada no presente trabalho.

Por muitos anos, os linfócitos auxiliares eram classificados em apenas dois tipos: Th₁ e Th₂. Atualmente, já é bem sabido que isso é uma simplificação e o perfil de linfócitos Th₁₇ é reconhecido como capaz de causar lesão tecidual também (224). Ao analisar então a IL-17, citocina pró-inflamatória, não se observou alteração dessa em relação aos pacientes com Alzheimer. Por outro lado, estudos demonstram que TNF- α promove liberação de IL-17, a qual, por sua vez, é dependente de IL-23 e IL-1 (224). No entanto, mesmo tendo constatado, no presente estudo, aumento do fator de necrose tumoral, não se observou aumento de IL-17.

Pode-se dizer, portanto, que os pacientes com FTD apresentam aumento específico de TNF- α e não de todas as citocinas pró-inflamatórias. Outro elemento que reforça a importância desse achado, se deve à constatação de que o aumento de expressão de TNF- α foi observado também em outra população de linfócitos T – linfócitos T CD8⁺, reduzindo-se, portanto, a possibilidade de se tratar de um achado casual.

Quanto à progressão dessas demências para o óbito, a FTD geralmente é mais rápida que a AD (43,225), por suposição, em decorrência da progressão mais acentuada do processo degenerativo. Sustenta essa ideia a observação de que a atrofia do lobo frontal na bv-FTD e a do lobo temporal SD é mais rápida que na AD. Nenhuma região específica do cérebro dos pacientes com Alzheimer apresentou atrofia mais acelerada que de outros grupos (226). Com efeito, analisando os achados do presente em estudo, dentro do cenário de atrofia cerebral acelerada, nos pacientes com FTD, especula-se que TNF- α possa estar envolvido no processo de neurodegeneração acelerada. Em outras doenças neurodegenerativas já foi demonstrada a participação de TNF- α , por exemplo: depressão maior (227), transtorno bipolar (228), epilepsia (229), doença de Alzheimer (211) e doença de Parkinson (230).

Sabe-se, porém, que, nessas doenças citadas, o sistema imune sofre ativações diferenciadas ao longo do curso delas. O mesmo pode ser dito com referência aos paciente com FTD. Será que a expressão de TNF- α é a mesma ao longo do curso da doença? Mesmo não sendo possível responder à pergunta, neste momento, tal questionamento mostra a importância de realizar avaliações longitudinais com os imunomediadores. Diante dos inúmeros efeitos atribuídos aos TNF- α , alguns autores postulam que sua inibição possa ser uma estratégia para tratar as doenças neurodegenerativas (231-233). Especificamente no caso da FTD, existe um relato de caso isolado a respeito do uso de perispinaletanercept (uma proteína que impede a fusão do TNF reduzindo, portanto, seu efeito biológico) no tratamento de uma das variantes da FTD - a afasia progressiva não fluente (137).

Atualmente, muitos estudos são realizados visando à compreensão dos eventos primários que ocorrem na fisiopatologia da FTD. O entendimento desse processo é crucial para projetar drogas para o tratamento dessa condição. Uma das dificuldades desse projeto consiste em obter um método que seja viável na prática clínica (não invasivo, replicável e de custo efetivo) podendo ser usado para avaliar o efeito da droga. Abrem-se, assim, novas possibilidade de utilidade da análise da expressão de TNF- α em linfócitos T de pacientes com demência.

Embora o processo inflamatório via resposta imune inata com ativação da micróglia e liberação de citocinas pró-inflamatórias seja tradicionalmente visto como um processo lesivo aos tecidos e responsável pelo dano tecidual, esse fenômeno pode ser visto sobre outra ótica. Já se sabe, por exemplo, que a resposta imune inata pode ser útil na remoção de peptídeos

beta-amiloide e, por conseguinte, reduzir os danos típicos da doença de Alzheimer (234). Situação semelhante ocorre com o TNF, o qual pode induzir ativação de genes ou morte celular. Em contraste com seu efeito neurodegenerativo, acredita-se que a ativação do receptor TNF-R2 ative vias de sinalização relacionadas com a sobrevivência celular (205). Além disso, TNF-R2 promove ativação persistente de NF- κ B que protege os neurônios da excitotoxicidade (235). TNF- α também aumenta a expressão de *CREB-binding protein* (CBP) especificamente nos neurônios e que esses, após expressão aumentada de CBP mediada pelo TNF, se tornam mais tolerantes à estímulos nocivos num processo chamado de pré-condicionamento neuronal ou tolerância neuronal (236).

Outro fator que também justifica a análise de TNF- α diz respeito à sua capacidade de induzir a expressão de neurotrofina, fator neurotrófico cerebral (BDNF), em astrócitos (237). Eis outro exemplo de efeito neuroprotetor mediado pelo TNF- α . No presente estudo, além do aumento significativo na frequência de expressão de TNF- α nas células CD4⁺ de pacientes com FTD, observou-se, também, aumento também na expressão de BDNF. Por outro lado, sabe-se pouco sobre neurotrofinas, BDNF, por exemplo, na FTD. Nessa direção, cita-se um estudo avaliando, por imuno-histoquímica e Western Blotting, a expressão da proteína BDNF no córtex cerebral de pacientes com FTD, verificou-se que ela estava preservada em diferentes regiões cerebrais e não havia diferença entre o grupo controle. Previamente já havia sido demonstrado redução de BDNF nos pacientes com AD (238).

Assim sendo, considerando-se que a FTD usualmente progride mais rapidamente que as formas esporádicas de AD e, ainda, que os mecanismos que provocam neurodegeneração são diferentes entre as duas entidades nosológicas, cogita-se que o aumento de BDNF aumentado, como observado no presente trabalho, possa refletir uma tentativa de minimizar a perda neuronal, assumindo que os níveis periféricos de BDNF possam ter alguma atividade no SNC. Cabe ressaltar que a análise comparativa da frequência de expressão de BDNF em AD e controles (dados não mostrados) afasta a possibilidade da alteração dos níveis de BDNF observados no FTD ser explicada pela redução desta no grupo AD. Outro fator que poderia corroborar a progressão mais rápida da FTD é a ativação das vias de apoptose. Dentre elas, estudou-se a expressão de CD95, mas não observou-se alteração em sua expressão.

Aprofundando as análises realizadas em linfócitos T, e considerando que as moléculas do sistema imune estudadas e abordadas acima são produzidas principalmente quando os

linfócitos T estão ativados, pesquisou-se, então, outras moléculas envolvidas nesse processo de ativação dos linfócitos T. O processo de ativação dos linfócitos T é importante também para permitir que o sistema imune adaptativo responda, de forma eficiente aos diversos insultos sem, contudo, reagir com antígenos próprios do corpo. Esse processo é reconhecido como tolerância e alterações nesse podem ocasionar doenças autoimunes. No controle da ativação das células T, e no controle dos mecanismos de tolerância, ganha-se destaque a via CD28/B7 por ser a principal via coestimuladora. Quando B7-1 (CD80) se liga ao seu receptor CD28, ocorre uma resposta estimuladora com produção de TNF- α , IL-2 e a proteína antipoptótica Bcl-X_L. A IL-2, um fator de crescimento autócrino, é fundamental para a expansão clonal das células T e para sua subsequente diferenciação na célula efetora e manutenção da tolerância própria. B7 (CD86) também é um ligante para CD28 que, apesar de não ser constitutiva, é expressa quando induzida pela resposta imune (127,239,240).

Com efeito, ao averiguar na literatura o papel da via CD28/B7, na síndromes demenciais primárias verificou-se que quase não há informação sobre isso. Por conseguinte, cite-se, aqui, o trabalho recente, de Xue e colaboradores. Seus autores mostram aumento de percentagem relativa de HLA-DR e CD80, em linfócitos T, no sangue periférico, dos pacientes com Alzheimer em comparação com o grupo controle. No mesmo trabalho, os autores não observaram alteração na expressão de CD28 nos grupos estudados (241). Fato semelhante foi observado também, no presente estudo, ou seja: aumento na expressão de CD80 em linfócitos T CD4⁺ de pacientes com Alzheimer quando comparados com FTD ou grupo controle. Esse dado, além de estar em concordância com o estudo acima mencionado, corrobora a ideia do envolvimento dos linfócitos T, na doença de Alzheimer. Em discordância aos dados de Xue, a expressão de HLA-DR nos pacientes com AD e controles foram estatisticamente iguais. Já no caso dos pacientes com FTD, observou que a expressão desse receptor de classe II do MHC estava diminuída.

Todavia, CD28 não é expresso somente nos linfócitos T CD4⁺, mas também nos linfócitos T CD8⁺. Normalmente, durante o processo de envelhecimento, espera-se redução na expressão de CD28. Entretanto, essa redução ocorre principalmente nas populações de linfócitos CD8⁺ e em indivíduos susceptíveis. Os pacientes com FTD parece ter uma tendência a menor expressão de CD28 nas células CD8⁺. Uma hipótese para explicar o mecanismo de tal redução, na expressão de CD28, é mediada pelo TNF- α (242).

Contudo, além dos efeitos na produção de citocinas mencionados pela sinalização promovida pela CD28, essa expressão promove, também, um potente sinal sinérgico para transcrição de fator nuclear κ B (NF- κ B), fator nuclear de células T ativadas (NFAT), e ativador de proteína 1 (AP1) (243). Já o CTLA-4, que também participa dessa via de sinalização, desempenha seu papel inibitório inibindo a transcrição dos fatores nucleares, mediando, portanto, morte celular (244,245).

Ao analisar a percentagem relativa da expressão de CTLA-4, nos linfócitos CD4⁺ de pacientes com demência frontotemporal, constatou-se redução muito significativa dessa molécula quando comparada com Alzheimer ou controle. Nessa perspectiva, a presente pesquisa se destaca como o primeiro estudo a demonstrar alteração nos elementos envolvidos na via CD28/B7, nos portadores de FTD. Acredita-se que a redução dessa molécula inibitória poderá favorecer o predomínio dos efeitos estimuladores promovidos pelas proteínas CD80 e CD86. Contudo seria interessante que novas análises fossem realizadas com outros elementos da via, particularmente com a IL-2, pelos seus efeitos já descritos.

Cumprido, ainda, ressaltar que os mecanismos responsáveis pela regulação da expressão CD28 e CTLA-4 são distintos. CD28 é expresso de forma constitutiva nas células T CD4⁺, enquanto CTLA-4 apresenta expressão induzida, após ligação com TCR cuja maior parte do conteúdo está localizado em compartimentos intracelulares. Sabe-se, ainda, que pequenas alterações na expressão de CTLA-4 podem proporcionar efeitos potencialmente devastadores, como o desenvolvimento de doenças autoimunes ou linfoproliferativas (243,246). De fato, CTLA-4 é considerado um dos estímulos negativos mais potentes na regulação da ativação das células T. Como registra a literatura, camundongos deficientes de CTLA-4 desenvolvem doenças linfoproliferativas graves e morrem poucas semanas após o nascimento (247).

Felizmente, a via de sinalização coestimuladora das células T progrediu dos estudos *in vitro* e já alcançou a prática clínica. Exemplifica-se essa progressão, o fato de a inibição do CD28 ser hoje uma importante estratégia para bloquear rejeição a transplantes ou controlar doenças autoimunes (248,249). Recomenda-se, portanto, o uso de abatacept (porção Fc de IgG1 conjugada ao domínio extracelular do CTLA-4, que inibe indiretamente a coestimulação mediada pelo CD28) para tratar artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico e esclerose múltipla (250). Apesar da modulação da via coestimuladora das células T já estar em uso na

prática médica diária e sua influência no sistema imune já ser bem descrita, não existe relato na literatura de estudos dessa via nas demências primárias (degenerativas) incluindo a doença de Alzheimer, demência frontotemporal entre outros.

Ademais, se por um lado o presente estudo não tenha elucidado quais as vias do sistema imune estão alteradas na demência frontotemporal, por outro, ele sucitou inúmeros questionamentos dignos de outras investigações. Cita-se, por exemplo, a possibilidade de haver mecanismos imunológicos envolvidos em diferentes pacientes portadores da mesma síndrome. De fato, com certo grau de heterogeneidade na resposta imunológica de pacientes com AD já foi descrito sugerindo, inclusive, a separação deles em dois grupos distintos. (251). Isso reforça a ideia de que a questão da estratificação dos pacientes precisa ser aprofundada. Grande parte da heterogeneidade clínica apresentada pelos pacientes com FTD é explicada pelo comprometimento de seus circuitos frontais distintos. Vale lembrar que os pacientes com doença de Alzheimer e BPSD apresentam, classicamente, distúrbios de comportamento semelhantes aos portadores de FTD. E, a agressividade, desinibição, impulsividade, provavelmente, decorram do comprometimento dos circuitos frontais orbitofrontais. Esses circuitos são primariamente afetados nos pacientes com FTD, principalmente, na variante frontal. Dessa forma, os pacientes com BPSD se assemelham, clinicamente, aos pacientes FTD. A FTD pode ser vista, também, como um modelo para estudar os circuitos frontais. Para ilustrar melhor essa perspectiva da análise dos dados, após estratificação dos pacientes, apresentaram-se os dados dos pacientes com AD, com ou sem BPSD (que são mais ou menos 30% da amostra AD), e comparou-os com o grupo FTD no que diz respeito à expressão de TGF- β . Apesar de o presente estudo não ter demonstrado diferença quanto à frequência de expressão TGF- β , nos linfócitos T, entre o grupo AD e FTD, quando se realizou a análise estratificando o grupo AD (com ou sem BPSD), observou-se aumento significativo na expressão de TGF- β nos pacientes com BPSD.

Afinal, no caso do presente estudo, poder-se-iam, então, estratificar os pacientes em ambos os grupos de acordo com as características distintas. Quem sabe, em outros tempos...

6. Conclusão

Conclusão

Este estudo reforça o papel do sistema imune na demência frontotemporal destacando o aumento da expressão de TNF- α e BDNF em células CD4⁺ e a redução de IL-1 α e CCL3, em células CD14⁺ e CCR5 e HLA-DR em células CD4⁺. Além disso, demonstra, pela primeira vez diminuição de CTLA-4, nas demências primárias, ou seja, degenerativas.

Embora reconhecendo as limitações deste estudo, não se pode negar o seu potencial: apontar algumas informações úteis à elucidação dos elementos imunológicos envolvidos na FTD.

7. Bibliografia

1. Hodges JR. Frontotemporal dementia syndromes . illustrated ed. Cambridge : Cambridge University Press; 2007.
 2. Rascovsky K, Hodges JR, Kipps CM, Johnson JK, Seeley WW, Mendez MF, et al. Diagnostic criteria for the behavioral variant of frontotemporal dementia (bvftld): Current limitations and future directions. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2007;21(4):S14-8.
 3. Neary D, Snowden JS, Gustafson L, Passant U, Stuss D, Black S, et al. Frontotemporal lobar degeneration: A consensus on clinical diagnostic criteria. *Neurology* 1998, Dec;51(6):1546-54.
 4. Rabinovici GD, Miller BL. Frontotemporal lobar degeneration: Epidemiology, pathophysiology, diagnosis and management. *CNS Drugs* 2010, May 1;24(5):375-98.
 5. Berrios GE, Girling DM. Introduction: Pick's disease and the 'frontal lobe' dementias. *Hist Psychiatry* 1994, Dec;5(20 Pt 4):539-47.
 6. Pick A, Girling DM, Berrios GE. On the symptomatology of left-sided temporal lobe atrophy. Classic text no. 29. (Translated and annotated by D.M. Girling and G.E. Berrios.). *Hist Psychiatry* 1997, Mar;8(29 pt 1):149-59.
 7. Onari K, Spatz H. Anatomische beiträge zur lehre von der pick'schen umschriebenen grobackslash hirnrinden-atrophie („pick'sche krankheit “). *Zeitschrift Für Die Gesamte Neurologie Und Psychiatrie* 1926;101(1):470-511.
 8. Schneider C. Uber pick'sche krankheit. *Monatsschr Psychiatr Neurol* 1927;65:230-75.
 9. Schneider C. Weitere beiträge zur lehre von der pick'schen krankheit. *Zeitschrift Für Die Gesamte Neurologie Und Psychiatrie* 1929;120(1):340-84.
 10. Brun A. Frontal lobe degeneration of non-alzheimer type. I. Neuropathology. *Arch.Gerontol.Geriatr* 1987, Sep;6(3):193-208.
 11. Gustafson L. Frontal lobe degeneration of non-alzheimer type. II. Clinical picture and differential diagnosis. *Arch Gerontol Geriatr* 1987, Sep;6(3):209-23.
 12. Neary D, Snowden JS, Bowen DM, Sims NR, Mann DM, Benton JS, et al. Neuropsychological syndromes in presenile dementia due to cerebral atrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1986, Feb;49(2):163-74.
 13. Neary D, Snowden JS, Bowen DM, Sims NR, Mann DM, Yates PO, Davison AN. Cerebral biopsy in the investigation of presenile dementia due to cerebral atrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1986, Feb;49(2):157-62.
-

14. Knopman DS, Mastri AR, Frey WH, Sung JH, Rustan T. Dementia lacking distinctive histologic features: A common non-alzheimer degenerative dementia. *Neurology* 1990, Feb;40(2):251-6.
 15. Miller BL, Cummings JL, Villanueva-Meyer J, Boone K, Mehringer CM, Lesser IM, Mena I. Frontal lobe degeneration: Clinical, neuropsychological, and SPECT characteristics. *Neurology* 1991, Sep;41(9):1374-82.
 16. Brun A, Englund E, Gustafson L, Passant U, Mann DMA, Neary D, Snowden JS. Clinical, neuropsychological and neuropathological criteria for fronto-temporal dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1994;57:416-8.
 17. Piguet O, Hornberger M, Mioshi E, Hodges JR. Behavioural-variant frontotemporal dementia: Diagnosis, clinical staging, and management. *The Lancet Neurology* 2010;In Press, Corrected Proof:-.
 18. McKhann GM, Albert MS, Grossman M, Miller B, Dickson D, Trojanowski JQ. Clinical and pathological diagnosis of frontotemporal dementia: Report of the work group on frontotemporal dementia and pick's disease. *Arch.Neurol* 2001;58(11):1803-9.
 19. Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, Truax AC, Micsenyi MC, Chou TT, et al. Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 2006, Oct 6;314(5796):130-3.
 20. Kwong LK, Neumann M, Sampathu DM, Lee VM, Trojanowski JQ. TDP-43 proteinopathy: The neuropathology underlying major forms of sporadic and familial frontotemporal lobar degeneration and motor neuron disease. *Acta Neuropathol* 2007, Jul;114(1):63-70.
 21. Cairns NJ, Bigio EH, Mackenzie IR, Neumann M, Lee VM, Hatanpaa KJ, et al. Neuropathologic diagnostic and nosologic criteria for frontotemporal lobar degeneration: Consensus of the consortium for frontotemporal lobar degeneration. *Acta Neuropathol (Berl)* 2007, Jul;114(1):5-22.
 22. Mackenzie IRA, Munoz DG, Kusaka H, Yokota O, Ishihara K, Roeber S, et al. Distinct pathological subtypes of FTL-D-FUS. *Acta Neuropathol* 2011;121(2):207-18.
 23. Neumann M, Rademakers R, Roeber S, Baker M, Kretzschmar HA, Mackenzie IRA. A new subtype of frontotemporal lobar degeneration with FUS pathology. *Brain* 2009;132(Pt 11):2922-31.
 24. Beaglehole R, Irwin A, Prentice T. *The world health report 2003: Shaping the future.* World Health Organization; 2003.
 25. Veras RP, Coutinho E. Prevalência da síndrome cerebral orgânica em população de idosos de área metropolitana da região sudeste do brasil. *Rev. Saúde Pública* 1994;28(1).
 26. Nitrini R, Bottino CM, Albala C, Custodio N, Ketzoian C, Llibre J, et al. Prevalence of dementia in latin america: A collaborative study of population-based cohorts. *Int Psychogeriatr* 2009;21(4):622-30.
-

27. Herrera Jr E, Caramelli P, Silveira ASB, Nitrini R. Epidemiologic survey of dementia in a community-dwelling brazilian population. *Alzheimer Disease & Associated Disorders* 2002;16(2):103.
 28. Takada LT, Caramelli P, Radanovic M, Anghinah R, Hartmann AP, Guariglia CC, et al. Prevalence of potentially reversible dementias in a dementia outpatient clinic of a tertiary university-affiliated hospital in brazil. *Arq Neuropsiquiatr* 2003, Dec;61(4):925-9.
 29. Brunnström H, Gustafson L, Passant U, Englund E. Prevalence of dementia subtypes: A 30-year retrospective survey of neuropathological reports. *Arch Gerontol Geriatr* 2009;49(1):146-9.
 30. Harvey RJ, Skelton-Robinson M, Rossor MN. The prevalence and causes of dementia in people under the age of 65 years. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003, Sep;74(9):1206-9.
 31. Ikeda M, Ishikawa T, Tanabe H. Epidemiology of frontotemporal lobar degeneration. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2004;17(4):265-8.
 32. Knopman DS, Petersen RC, Edland SD, Cha RH, Rocca WA. The incidence of frontotemporal lobar degeneration in rochester, minnesota, 1990 through 1994. *Neurology* 2004, Feb 10;62(3):506-8.
 33. Pasquier F, Delacourte A. Non-Alzheimer degenerative dementias. *Curr Opin Neurol* 1998, Oct;11(5):417-27.
 34. Ratnavalli E, Brayne C, Dawson K, Hodges JR. The prevalence of frontotemporal dementia. *Neurology* 2002, Jun 11;58(11):1615-21.
 35. Rosso SM, Donker Kaat L, Baks T, Joosse M, de Koning I, Pijnenburg Y, et al. Frontotemporal dementia in the netherlands: Patient characteristics and prevalence estimates from a population-based study. *Brain* 2003, Sep;126(Pt 9):2016-22.
 36. Ikeda M, Hokoishi K, Maki N, Nebu A, Tachibana N, Komori K, et al. Increased prevalence of vascular dementia in japan: A community-based epidemiological study. *Neurology* 2001, Sep 11;57(5):839-44.
 37. Johnson JK, Diehl J, Mendez MF, Neuhaus J, Shapira JS, Forman M, et al. Frontotemporal lobar degeneration: Demographic characteristics of 353 patients. *Arch Neurol* 2005, Jun;62(6):925-30.
 38. Gislason TB, Sjögren M, Larsson L, Skoog I. The prevalence of frontal variant frontotemporal dementia and the frontal lobe syndrome in a population based sample of 85 year olds. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003, Jul;74(7):867-71.
 39. Chow TW, Miller BL, Hayashi VN, Geschwind DH. Inheritance of frontotemporal dementia. *Arch Neurol* 1999, Jul;56(7):817-22.
-

40. Ikeda K. Neuropathological discrepancy between Japanese Pick's disease without Pick bodies and frontal lobe degeneration type of frontotemporal dementia proposed by Lund and Manchester group. *Neuropathology* 2000, Mar;20(1):76-82.
 41. Chow TW, Hodges JR, Dawson KE, Miller BL, Smith V, Mendez MF, et al. Referral patterns for syndromes associated with frontotemporal lobar degeneration. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2005;19(1):17-9.
 42. Heston LL, White JA, Mastri AR. Pick's disease. Clinical genetics and natural history. *Arch Gen Psychiatry* 1987, May;44(5):409-11.
 43. Roberson ED, Hesse JH, Rose KD, Slama H, Johnson JK, Yaffe K, et al. Frontotemporal dementia progresses to death faster than Alzheimer disease. *Neurology* 2005, Sep 13;65(5):719-25.
 44. Rascofsky K, Salmon DP, Lipton AM, Leverenz JB, DeCarli C, Jagust WJ, et al. Rate of progression differs in frontotemporal dementia and Alzheimer disease. *Neurology* 2005, Aug 9;65(3):397-403.
 45. Gräsbeck A, Englund E, Horstmann V, Passant U, Gustafson L. Predictors of mortality in frontotemporal dementia: A retrospective study of the prognostic influence of pre-diagnostic features. *Int J Geriatr Psychiatry* 2003, Jul;18(7):594-601.
 46. Hodges JR, Davies R, Xuereb J, Kril J, Halliday G. Survival in frontotemporal dementia. *Neurology* 2003, Aug 12;61(3):349-54.
 47. Snowden JS, Bathgate D, Varma A, Blackshaw A, Gibbons ZC, Neary D. Distinct behavioural profiles in frontotemporal dementia and semantic dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001, Mar;70(3):323-32.
 48. Zhou J, Greicius MD, Gennatas ED, Growdon ME, Jang JY, Rabinovici GD, et al. Divergent network connectivity changes in behavioural variant frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *Brain* 2010, May;133(Pt 5):1352-67.
 49. Seeley WW, Crawford R, Rascofsky K, Kramer JH, Weiner M, Miller BL, Gorno-Tempini ML. Frontal paralimbic network atrophy in very mild behavioral variant frontotemporal dementia. *Arch Neurol* 2008, Feb;65(2):249-55.
 50. Rankin KP, Kramer JH, Miller BL. Patterns of cognitive and emotional empathy in frontotemporal lobar degeneration. *Cogn Behav Neurol* 2005;18(1):28-36.
 51. Bathgate D, Snowden JS, Varma A, Blackshaw A, Neary D. Behaviour in frontotemporal dementia, Alzheimer's disease and vascular dementia. *Acta Neurol Scand* 2001, Jun;103(6):367-78.
 52. Graham A, Davies R, Xuereb J, Halliday G, Kril J, Creasey H, et al. Pathologically proven frontotemporal dementia presenting with severe amnesia. *Brain* 2005, Mar;128(Pt 3):597-605.
-

53. Hodges JR, Davies RR, Xuereb JH, Casey B, Broe M, Bak TH, et al. Clinicopathological correlates in frontotemporal dementia. *Ann.Neurol* 2004;56(3):399-406.
 54. Neary D, Snowden J, Mann D. Frontotemporal dementia. *Lancet Neurol* 2005, Nov;4(11):771-80.
 55. Weder ND, Aziz R, Wilkins K, Tampi RR. Frontotemporal dementias: A review. *Ann Gen Psychiatry* 2007;6:15.
 56. Pijnenburg YA, Gillissen F, Jonker C, Scheltens P. Initial complaints in frontotemporal lobar degeneration. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2004;17(4):302-6.
 57. Kertesz A, Davidson W, Fox H. Frontal behavioral inventory: Diagnostic criteria for frontal lobe dementia. *Can J Neurol Sci* 1997, Feb;24(1):29-36.
 58. Mendez MF, Perryman KM. Neuropsychiatric features of frontotemporal dementia: Evaluation of consensus criteria and review. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2002;14(4):424-9.
 59. Links KA, Chow TW, Binns M, Freedman M, Stuss DT, Scott CJ, et al. Apathy is not associated with basal ganglia atrophy in frontotemporal dementia. *Am J Geriatr Psychiatry* 2009, Sep;17(9):819-21.
 60. Zamboni G, Huey ED, Krueger F, Nichelli PF, Grafman J. Apathy and disinhibition in frontotemporal dementia: Insights into their neural correlates. *Neurology* 2008, Sep 2;71(10):736-42.
 61. Chow TW, Binns MA, Cummings JL, Lam I, Black SE, Miller BL, et al. Apathy symptom profile and behavioral associations in frontotemporal dementia vs dementia of alzheimer type. *Arch Neurol* 2009, Jul;66(7):888-93.
 62. Massimo L, Powers C, Moore P, Vesely L, Avants B, Gee J, et al. Neuroanatomy of apathy and disinhibition in frontotemporal lobar degeneration. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2009;27(1):96-104.
 63. Viskontas IV, Possin KL, Miller BL. Symptoms of frontotemporal dementia provide insights into orbitofrontal cortex function and social behavior. *Ann N Y Acad Sci* 2007, Dec;1121:528-45.
 64. Boxer AL, Miller BL. Clinical features of frontotemporal dementia. *Alzheimer Dis.Assoc.Disord* 2005;19 Suppl 1:S3-6.
 65. Gustafson L. Clinical picture of frontal lobe degeneration of non-alzheimer type. *Dementia* 1993;4(3-4):143-8.
 66. Miller BL, Darby A, Benson DF, Cummings JL, Miller MH. Aggressive, socially disruptive and antisocial behaviour associated with fronto-temporal dementia. *Br J Psychiatry* 1997, Feb;170:150-4.
-

67. Manes FF, Torralva T, Roca M, Gleichgerrcht E, Bekinschtein TA, Hodges JR. Frontotemporal dementia presenting as pathological gambling. *Nat Rev Neurol* 2010, May 4.
 68. Postiglione A, Milan G, Pappatà S, De Falco C, Lamenza F, Schiattarella V, et al. Frontotemporal dementia presenting as geschwind's syndrome. *Neurocase* 2008;14(3):264-70.
 69. Bozeat S, Gregory CA, Ralph MA, Hodges JR. Which neuropsychiatric and behavioural features distinguish frontal and temporal variants of frontotemporal dementia from alzheimer's disease? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000, Aug;69(2):178-86.
 70. Ikeda M, Brown J, Holland AJ, Fukuhara R, Hodges JR. Changes in appetite, food preference, and eating habits in frontotemporal dementia and alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002, Oct;73(4):371-6.
 71. Miller BL, Darby AL, Swartz JR, Yener GG, Mena I. Dietary changes, compulsions and sexual behavior in frontotemporal degeneration. *Dementia* 1995;6(4):195-9.
 72. Kile SJ, Ellis WG, Olichney JM, Farias S, DeCarli C. Alzheimer abnormalities of the amygdala with klüver-bucy syndrome symptoms: An amygdaloid variant of alzheimer disease. *Arch Neurol* 2009, Jan;66(1):125-9.
 73. Ames D, Cummings JL, Wirshing WC, Quinn B, Mahler M. Repetitive and compulsive behavior in frontal lobe degenerations. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1994;6(2):100-13.
 74. Nyatsanza S, Shetty T, Gregory C, Lough S, Dawson K, Hodges JR. A study of stereotypic behaviours in alzheimer's disease and frontal and temporal variant frontotemporal dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003, Oct;74(10):1398-402.
 75. Lavenu I, Pasquier F, Lebert F, Petit H, Van der Linden M. Perception of emotion in frontotemporal dementia and alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 1999;13(2):96-101.
 76. Chow TW, Miller BL, Boone K, Mishkin F, Cummings JL. Frontotemporal dementia classification and neuropsychiatry. *Neurologist* 2002, Jul;8(4):263-9.
 77. Mendez MF, Shapira JS, Woods RJ, Licht EA, Saul RE. Psychotic symptoms in frontotemporal dementia: Prevalence and review. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2008;25(3):206-11.
 78. Omar R, Sampson E, Loy C, Mummery C, Fox N, Rossor M, Warren J. Delusions in frontotemporal lobar degeneration. *Journal of Neurology* 2009;256(4):600-7.
 79. Nittrini R, Rosemberg S. Psychotic symptoms in dementia associated with motor neuron diseasea pathophysiological hypothesis. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1998;10(4):456-8.
-

80. Lough S, Kipps CM, Treise C, Watson P, Blair JR, Hodges JR. Social reasoning, emotion and empathy in frontotemporal dementia. *Neuropsychologia* 2006;44(6):950-8.
 81. Adenzato M, Cavallo M, Enrici I. Theory of mind ability in the behavioural variant of frontotemporal dementia: An analysis of the neural, cognitive, and social levels. *Neuropsychologia* 2009, Aug 8.
 82. Caramelli P. Síndrome disexecutivaxecutiva. In: *Neurologia Cognitiva e do Comportamento*. Revinter; 2012. p. 136.
 83. Lindau M, Almkvist O, Kushi J, Boone K, Johansson SE, Wahlund LO, et al. First symptoms--frontotemporal dementia versus alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2000;11(5):286-93.
 84. Rabinovici GD, Furst AJ, O'Neil JP, Racine CA, Mormino EC, Baker SL, et al. 11C-PIB PET imaging in alzheimer disease and frontotemporal lobar degeneration. *Neurology* 2007, Apr 10;68(15):1205-12.
 85. Mioshi E, Kipps CM, Dawson K, Mitchell J, Graham A, Hodges JR. Activities of daily living in frontotemporal dementia and alzheimer disease. *Neurology* 2007, Jun 12;68(24):2077-84.
 86. Beauchet O, Imler D, Cadet L, Blanc P, Ramboa P, Girtanner C, Gonthier R. [Diogenes syndrome in the elderly: Clinical form of frontal dysfunction? Report of 4 cases]. *Rev Med Interne* 2002, Feb;23(2):122-31.
 87. Gálvez-Andres A, Blasco-Fontecilla H, Gonzalez-Parra S, Molina JD, Padín JM, Rodriguez RH. Secondary bipolar disorder and diogenes syndrome in frontotemporal dementia: Behavioral improvement with quetiapine and sodium valproate. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 2007;27(6):722.
 88. Pasquier F, Grymonprez L, Lebert F, Van der Linden M. Memory impairment differs in frontotemporal dementia and alzheimer's disease. *Neurocase* 2001;7(2):161-71.
 89. Medzhitov R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature* 2007;449(7164):819-26.
 90. Kelley KW, Weigent DA, Kooijman R. Protein hormones and immunity. *Brain Behav Immun* 2007;21(4):384-92.
 91. Mocchegiani E, Santarelli L, Costarelli L, Cipriano C, Muti E, Giacconi R, Malavolta M. Plasticity of neuroendocrine-thymus interactions during ontogeny and ageing: Role of zinc and arginine. *Ageing Research Reviews* 2006;5(3):281-309.
 92. Sternberg EM. Neural regulation of innate immunity: A coordinated nonspecific host response to pathogens. *Nature Reviews Immunology* 2006;6(4):318-28.
 93. Borghetti P, Saleri R, Mocchegiani E, Corradi A, Martelli P. Infection, immunity and the neuroendocrine response. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2009;130(3-4):141-62.
-

94. Glass CK, Saijo K, Winner B, Marchetto MC, Gage FH. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. *Cell* 2010, Mar 19;140(6):918-34.
 95. Filippo MD, Sarchielli P, Picconi B, Calabresi P. Neuroinflammation and synaptic plasticity: Theoretical basis for a novel, immune-centred, therapeutic approach to neurological disorders. *Trends in Pharmacological Sciences* 2008;29(8):402 - 412.
 96. Fiala M, Veerhuis R. Biomarkers of inflammation and amyloid-beta phagocytosis in patients at risk of alzheimer disease. *Exp Gerontol* 2010, Jan;45(1):57-63.
 97. Giacinto Bagetta MTC, Lipton SA. Neuroinflammation in Neuronal Death and Repair. Giacinto Bagetta MTC, Lipton SA, editors. Academic Press; 2007.
 98. Muzio L, Martino G, Furlan R. Multifaceted aspects of inflammation in multiple sclerosis: The role of microglia. *Journal of Neuroimmunology* 2007;191(1):39-44.
 99. Dewil M, Van Den Bosch L, Robberecht W. Microglia in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurologica Belgica* 2007;107(3):63.
 100. Wyss-Coray T, Rogers J. Inflammation in alzheimer disease-a brief review of the basic science and clinical literature. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012, Jan;2(1):a006346.
 101. Wyss-Coray T. Inflammation in alzheimer disease: Driving force, bystander or beneficial response? *Nat Med* 2006, Sep;12(9):1005-15.
 102. Town T, Tan J, Flavell RA, Mullan M. T-cells in alzheimer's disease. *Neuromolecular Med* 2005;7(3):255-64.
 103. Cohen RM. The role of the immune system in alzheimer's disease. *Focus* 2009;7(1):28.
 104. Sjögren M, Folkesson S, Blennow K, Tarkowski E. Increased intrathecal inflammatory activity in frontotemporal dementia: Pathophysiological implications. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004, Aug;75(8):1107-11.
 105. Tarkowski E, Blennow K, Wallin A, Tarkowski A. Intracerebral production of tumor necrosis factor-alpha, a local neuroprotective agent, in alzheimer disease and vascular dementia. *J Clin Immunol* 1999, Jul;19(4):223-30.
 106. Galimberti D, Schoonenboom N, Scheltens P, Fenoglio C, Venturelli E, Pijnenburg YA, et al. Intrathecal chemokine levels in alzheimer disease and frontotemporal lobar degeneration. *Neurology* 2006, Jan 10;66(1):146-7.
 107. Hinojosa AE, Garcia-Bueno B, Leza JC, Madrigal JL. CCL2/MCP-1 modulation of microglial activation and proliferation. *J Neuroinflammation* 2011;8:77.
 108. Galimberti D, Venturelli E, Villa C, Fenoglio C, Clerici F, Marcone A, et al. MCP-1 A-2518G polymorphism: Effect on susceptibility for frontotemporal lobar degeneration and on cerebrospinal fluid MCP-1 levels. *J Alzheimers Dis* 2009, May;17(1):125-33.
-

109. Villa C, Venturelli E, Fenoglio C, Clerici F, Marcone A, Benussi L, et al. CCL8/MCP-2 association analysis in patients with alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration. *J Neurol* 2009, Aug;256(8):1379-81.
 110. Leng SX, Xue QL, Tian J, Walston JD, Fried LP. Inflammation and frailty in older women. *J Am Geriatr Soc* 2007, Jun;55(6):864-71.
 111. Leng SX, Tian X, Matteini A, Li H, Hughes J, Jain A, et al. IL-6-independent association of elevated serum neopterin levels with prevalent frailty in community-dwelling older adults. *Age Ageing* 2011, Jul;40(4):475-81.
 112. Xia MQ, Hyman BT. Chemokines/chemokine receptors in the central nervous system and alzheimer's disease. *J Neurovirol* 1999, Feb;5(1):32-41.
 113. Yamada K, Kono K, Umegaki H, Iguchi A, Fukatsu T, Nakashima N, et al. Decreased interleukin-6 level in the cerebrospinal fluid of patients with alzheimer-type dementia. *Neurosci Lett* 1995, Feb 17;186(2-3):219-21.
 114. Wada-Isoe K, Wakutani Y, Urakami K, Nakashima K. Elevated interleukin-6 levels in cerebrospinal fluid of vascular dementia patients. *Acta Neurol Scand* 2004, Aug;110(2):124-7.
 115. Tarkowski E. Cytokines in dementias. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2002, Jun;1(2):193-200.
 116. Tarkowski E, Liljeroth AM, Minthon L, Tarkowski A, Wallin A, Blennow K. Cerebral pattern of pro- and anti-inflammatory cytokines in dementias. *Brain Res Bull* 2003, Aug 15;61(3):255-60.
 117. Taga T, Kishimoto T. Gp130 and the interleukin-6 family of cytokines. *Annu Rev Immunol* 1997;15:797-819.
 118. März P, Heese K, Hock C, Golombowski S, Müller-Spahn F, Rose-John S, Otten U. Interleukin-6 (IL-6) and soluble forms of IL-6 receptors are not altered in cerebrospinal fluid of alzheimer's disease patients. *Neurosci Lett* 1997, Dec 12;239(1):29-32.
 119. Jia JP, Meng R, Sun YX, Sun WJ, Ji XM, Jia LF. Cerebrospinal fluid tau, abeta1-42 and inflammatory cytokines in patients with alzheimer's disease and vascular dementia. *Neurosci Lett* 2005;383(1-2):12-6.
 120. Blum-Degen D, Müller T, Kuhn W, Gerlach M, Przuntek H, Riederer P. Interleukin-1 beta and interleukin-6 are elevated in the cerebrospinal fluid of alzheimer's and de novo parkinson's disease patients. *Neurosci Lett* 1995, Dec 29;202(1-2):17-20.
 121. Galimberti D, Venturelli E, Fenoglio C, Guidi I, Villa C, Bergamaschini L, et al. Intrathecal levels of IL-6, IL-11 and LIF in alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration. *J Neurol* 2008, Apr;255(4):539-44.
-

122. Rentzos M, Paraskevas GP, Kapaki E, Nikolaou C, Zoga M, Rombos A, et al. Interleukin-12 is reduced in cerebrospinal fluid of patients with alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *J Neurol Sci* 2006, Nov 15;249(2):110-4.
 123. Rentzos M, Zoga M, Paraskevas GP, Kapaki E, Rombos A, Nikolaou C, et al. IL-15 is elevated in cerebrospinal fluid of patients with alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 2006, Jun;19(2):114-7.
 124. Bretscher PA. A two-step, two-signal model for the primary activation of precursor helper T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999, Jan 5;96(1):185-90.
 125. Sharpe AH, Freeman GJ. The B7-CD28 superfamily. *Nat Rev Immunol* 2002, Feb;2(2):116-26.
 126. Boise LH, Minn AJ, Noel PJ, June CH, Accavitti MA, Lindsten T, Thompson CB. CD28 costimulation can promote T cell survival by enhancing the expression of bcl-xl. *Immunity* 1995, Jul;3(1):87-98.
 127. Sperling AI, Auger JA, Ehst BD, Rulifson IC, Thompson CB, Bluestone JA. CD28/B7 interactions deliver a unique signal to naive T cells that regulates cell survival but not early proliferation. *J Immunol* 1996, Nov 1;157(9):3909-17.
 128. Thompson CB, Lindsten T, Ledbetter JA, Kunkel SL, Young HA, Emerson SG, et al. CD28 activation pathway regulates the production of multiple t-cell-derived lymphokines/cytokines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989, Feb;86(4):1333-7.
 129. Oosterwegel MA, Mandelbrot DA, Boyd SD, Lorsbach RB, Jarrett DY, Abbas AK, Sharpe AH. The role of CTLA-4 in regulating th2 differentiation. *J Immunol* 1999, Sep 1;163(5):2634-9.
 130. Greenwald RJ, Latchman YE, Sharpe AH. Negative co-receptors on lymphocytes. *Curr Opin Immunol* 2002, Jun;14(3):391-6.
 131. Buch MH, Emery P. New therapies in the management of rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2011;23(3):245-51.
 132. Orban T. Co-stimulation modulation with abatacept in patients with recent-onset type 1 diabetes: A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet* 2011;378(9789):412-9.
 133. Vincenti F, Blanche G, Durrbach A, Friend P, Grinyo J, Halloran PF, et al. Five-year safety and efficacy of belatacept in renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2010;21(9):1587-96.
 134. Vigiotta V, Bourcier K, Buckle GJ, Healy B, Weiner HL, Hafler DA, et al. CTLA4Ig treatment in patients with multiple sclerosis: An open-label, phase 1 clinical trial. *Neurology* 2008;71(12):917-24.
 135. Cashman JR, Ghirmai S, Abel KJ, Fiala M. Immune defects in alzheimer's disease: New medications development. *BMC Neurosci* 2008;9 Suppl 2:S13.
-

136. Fiala M, Cribbs DH, Rosenthal M, Bernard G. Phagocytosis of amyloid-beta and inflammation: Two faces of innate immunity in alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2007, Jul;11(4):457-63.
 137. Tobinick E. Perispinal etanercept produces rapid improvement in primary progressive aphasia: Identification of a novel, rapidly reversible tnf-mediated pathophysiologic mechanism. *Medscape J Med* 2008;10(6):135.
 138. Galea I, Bechmann I, Perry VH. What is immune privilege (not)? *Trends in Immunology* 2007;28(1):12 - 18.
 139. Erickson MA, Dohi K, Banks WA. Neuroinflammation: A common pathway in CNS diseases as mediated at the blood-brain barrier. *Neuroimmunomodulation* 2012;19(2):121-30.
 140. Shaftel SS, Griffin WS, O'Banion MK. The role of interleukin-1 in neuroinflammation and alzheimer disease: An evolving perspective. *J Neuroinflammation* 2008;5:7.
 141. Moraes E N. Princípios básicos de geriatria e gerontologia. 1 ed. Belo Horizonte: Coopmed Editora Médica; 2008.
 142. S K, FORD AB, Moskwitz RW, JACKSON BA, JAFFE MW. Studies of illness in the aged. The index of ADL: A standardized measure of biological and psychosocial function. *JAMA* 1963;185:914-9.
 143. Lawton MP, Brody EM. Assessment of older people: Self-maintaining and instrumental activities of daily living. *Gerontologist* 1969;9(3):179-86.
 144. Podsiadlo D, Richardson S. The timed "up & go": A test of basic functional mobility for frail elderly persons. *J Am.Geriatr.Soc* 1991;39(2):142-8.
 145. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr.Res* 1975;12(3):189-98.
 146. Brucki SM, Malheiros SM, Okamoto IH, Bertolucci PH. [Normative data on the verbal fluency test in the animal category in our milieu]. *Arq Neuropsiquiatr* 1997;55(1):56-61.
 147. Morris JC, Heyman A, Mohs RC, Hughes JP, van BG, Fillenbaum G, et al. The consortium to establish a registry for alzheimer's disease (CERAD). Part I. Clinical and neuropsychological assessment of alzheimer's disease. *Neurology* 1989;39(9):1159-65.
 148. Nitrini R, Lefevre BH, Mathias SC, Caramelli P, Carrilho PE, Sauer N, et al. [Neuropsychological tests of simple application for diagnosing dementia]. *Arq Neuropsiquiatr* 1994;52(4):457-65.
-

149. Cummings JL, Mega M, Gray K, Rosenberg-Thompson S, Carusi DA, Gornbein J. The neuropsychiatric inventory: Comprehensive assessment of psychopathology in dementia. *Neurology* 1994;44(12):2308-14.
 150. Dubois B, Slachevsky A, Litvan I, Pillon B. The FAB: A frontal assessment battery at bedside. *Neurology* 2000, Dec 12;55(11):1621-6.
 151. Association AP, American PPATFO. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV-TR. American Psychiatric Publishing, Inc.; 2000.
 152. Sheikh JJ, Yesavage JA. Geriatric depression scale (GDS): Recent evidence and development of a shorter version. *Clinical Gerontologist: The Journal of Aging and Mental Health* 1986.
 153. Yesavage JA, Brink TL, Rose TL, Lum O, Huang V, Adey M, Leirer VO. Development and validation of a geriatric depression screening scale: A preliminary report. *Journal of Psychiatric Research* 1983;17(1):37-49.
 154. Hachinski VC, Iliff LD, Zilhka E, Du Boulay GH, McAllister VL, Marshall J, et al. Cerebral blood flow in dementia. *Arch Neurol* 1975, Sep;32(9):632-7.
 155. Loeb C, Gandolfo C. Diagnostic evaluation of degenerative and vascular dementia. *Stroke* 1983;14(3):399-401.
 156. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA work group under the auspices of department of health and human services task force on alzheimer's disease. *Neurology* 1984, Jul;34(7):939-44.
 157. Larner AJ. Addenbrooke's cognitive examination (ACE) for the diagnosis and differential diagnosis of dementia. *Clin Neurol Neurosurg* 2007, Jul;109(6):491-4.
 158. Carvalho VA, Caramelli P. Brazilian adaptation of the addenbrooke's cognitive examination-revised (ACE-R). *Dementia & Neuropsychologia* 2007;2.
 159. Torres KC, Antonelli LR, Souza AL, Teixeira MM, Dutra WO, Gollob KJ. Norepinephrine, dopamine and dexamethasone modulate discrete leukocyte subpopulations and cytokine profiles from human PBMC. *J Neuroimmunol* 2005, Sep;166(1-2):144-57.
 160. Mann HB, Whitney DR. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *The Annals of Mathematical Statistics* 1947;18(1):50-60.
 161. Kruskal WH, Wallis WA. Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association* 1952:583-621.
 162. McGill, R, Tukey, J W. Variations of box plots. *The American Statistician* 1978;32(1):12-6.
-

163. Tukey, John. In: Exploratory data analysis. Reading, MA: Addison-Wiley; 1977. p. 704.
 164. Brunnström H, Englund E. Clinicopathological concordance in dementia diagnostics. *Am J Geriatr Psychiatry* 2009, Aug;17(8):664-70.
 165. Piguet O, Hornberger M, Shelley BP, Kipps CM, Hodges JR. Sensitivity of current criteria for the diagnosis of behavioral variant frontotemporal dementia. *Neurology* 2009, Feb 24;72(8):732-7.
 166. Yokota O. Frontotemporal lobar degeneration and dementia with lewy bodies: Clinicopathological issues associated with antemortem diagnosis. *Psychogeriatrics* 2009, Jun;9(2):91-102.
 167. Snowden J, Neary D, Mann D. Frontotemporal lobar degeneration: Clinical and pathological relationships. *Acta Neuropathol* 2007, Jul;114(1):31-8.
 168. Mendez MF, Shapira JS, McMurtray A, Licht E, Miller BL. Accuracy of the clinical evaluation for frontotemporal dementia. *Arch Neurol* 2007, Jun;64(6):830-5.
 169. McNeill R, Sare GM, Manoharan M, Testa HJ, Mann DM, Neary D, et al. Accuracy of single-photon emission computed tomography in differentiating frontotemporal dementia from alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007, Apr;78(4):350-5.
 170. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack Jr CR, Kawas CH, et al. The diagnosis of dementia due to alzheimer's disease: Recommendations from the national institute on aging and the alzheimer's association workgroup. *Alzheimer's and Dementia* 2011.
 171. Davies RR, Kipps CM, Mitchell J, Kril JJ, Halliday GM, Hodges JR. Progression in frontotemporal dementia: Identifying a benign behavioral variant by magnetic resonance imaging. *Arch Neurol* 2006, Nov;63(11):1627-31.
 172. Kipps CM, Hodges JR, Hornberger M. Nonprogressive behavioural frontotemporal dementia: Recent developments and clinical implications of the 'bvftd phenocopy syndrome'. *Curr Opin Neurol* 2010;23(6):628.
 173. Kipps CM, Hodges JR, Fryer TD, Nestor PJ. Combined magnetic resonance imaging and positron emission tomography brain imaging in behavioural variant frontotemporal degeneration: Refining the clinical phenotype. *Brain* 2009, Sep;132(Pt 9):2566-78.
 174. Mioshi E, Kipps CM, Hodges JR. Activities of daily living in behavioral variant frontotemporal dementia: Differences in caregiver and performance-based assessments. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2009;23(1):70-6.
 175. Morris JC. The clinical dementia rating (CDR): Current version and scoring rules. *Neurology* 1993, Nov;43(11):2412-4.
-

176. Knopman DS, Kramer JH, Boeve BF, Caselli RJ, Graff-Radford NR, Mendez MF, et al. Development of methodology for conducting clinical trials in frontotemporal lobar degeneration. *Brain* 2008, Nov;131(Pt 11):2957-68.
 177. Achiron A, Gurevich M. Peripheral blood gene expression signature mirrors central nervous system disease: The model of multiple sclerosis. *Autoimmun Rev* 2006, Oct;5(8):517-22.
 178. Nardo G, Pozzi S, Pignataro M, Lauranzano E, Spano G, Garbelli S, et al. Amyotrophic lateral sclerosis multiprotein biomarkers in peripheral blood mononuclear cells. *PLoS One* 2011;6(10):e25545.
 179. Cosentino M, Colombo C, Mauri M, Ferrari M, Corbetta S, Marino F, et al. Expression of apoptosis-related proteins and of mrna for dopaminergic receptors in peripheral blood mononuclear cells from patients with alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2009;23(1):88-90.
 180. Gatta L, Cardinale A, Wannenes F, Consoli C, Armani A, Molinari F, et al. Peripheral blood mononuclear cells from mild cognitive impairment patients show deregulation of bax and sod1 mnas. *Neurosci Lett* 2009, Mar 27;453(1):36-40.
 181. Magaki S, Mueller C, Dickson C, Kirsch W. Increased production of inflammatory cytokines in mild cognitive impairment. *Exp Gerontol* 2007, Mar;42(3):233-40.
 182. Torres KC, Souza BR, Miranda DM, Nicolato R, Neves FS, Barros AG, et al. The leukocytes expressing DARPP-32 are reduced in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009, Mar 17;33(2):214-9.
 183. Gladkevich A, Kauffman HF, Korf J. Lymphocytes as a neural probe: Potential for studying psychiatric disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2004;28(3):559 - 576.
 184. Bienvenu JAD, Monneret G, Gutowski MC, Fabien N. Cytokine assays in human sera and tissues. *Toxicology* 1998;129(1):55 - 61.
 185. Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: When the immune system subjugates the brain. *Nature Reviews Neuroscience* 2008, Jan;9(1):46-56.
 186. Allan SM, Rothwell NJ. Cytokines and acute neurodegeneration. *Nat Rev Neurosci* 2001, Oct;2(10):734-44.
 187. Eikelenboom P, van Exel E, Hoozemans JJ, Veerhuis R, Rozemuller AJ, van Gool WA. Neuroinflammation - an early event in both the history and pathogenesis of alzheimer's disease. *Neurodegener Dis* 2010;7(1-3):38-41.
 188. Sjögren M, Wallin A. Pathophysiological aspects of frontotemporal dementia--emphasis on cytoskeleton proteins and autoimmunity. *Mech Ageing Dev* 2001, Nov;122(16):1923-35.
-

189. Allan SM, Tyrrell PJ, Rothwell NJ. Interleukin-1 and neuronal injury. *Nat Rev Immunol* 2005, Aug;5(8):629-40.
 190. Shaftel SS, Carlson TJ, Olschowka JA, Kyrkanides S, Matousek SB, O'Banion MK. Chronic interleukin-1beta expression in mouse brain leads to leukocyte infiltration and neutrophil-independent blood brain barrier permeability without overt neurodegeneration. *J Neurosci* 2007, Aug 29;27(35):9301-9.
 191. Luster AD. Chemokines--chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med* 1998, Feb 12;338(7):436-45.
 192. Lee KS, Chung JH, Choi TK, Suh SY, Oh BH, Hong CH. Peripheral cytokines and chemokines in alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2009;28(4):281-7.
 193. De Fanis U, Wang GC, Fedarko NS, Walston JD, Casolaro V, Leng SX. T-lymphocytes expressing CC chemokine receptor-5 are increased in frail older adults. *J Am Geriatr Soc* 2008, May;56(5):904-8.
 194. Menten P, Wuyts A, Van Damme J. Macrophage inflammatory protein-1. *Cytokine Growth Factor Rev* 2002, Dec;13(6):455-81.
 195. Lu P, Nakamoto Y, Nemoto-Sasaki Y, Fujii C, Wang H, Hashii M, et al. Potential interaction between CCR1 and its ligand, CCL3, induced by endogenously produced interleukin-1 in human hepatomas. *The American Journal of Pathology* 2003;162(4):1249-58.
 196. Ubogu EE, Callahan MK, Tucky BH, Ransohoff RM. CCR5 expression on monocytes and T cells: Modulation by transmigration across the blood-brain barrier in vitro. *Cellular Immunology* 2006;243(1):19 - 29.
 197. Rivest S. Regulation of innate immune responses in the brain. *Nat Rev Immunol* 2009, Jun;9(6):429-39.
 198. Farfara D, Lifshitz V, Frenkel D. Neuroprotective and neurotoxic properties of glial cells in the pathogenesis of alzheimer's disease. *J Cell Mol Med* 2008, Jun;12(3):762-80.
 199. Miscia S, Ciccocioppo F, Lanuti P, Velluto L, Bascelli A, Pierdomenico L, et al. A [beta] 1-42 stimulated T cells express P-PKC-[delta] and P-PKC-[zeta] in alzheimer disease. *Neurobiol Aging* 2009;30(3):394-406.
 200. Schindowski K, Eckert A, Peters J, Gorriz C, Schramm U, Weinandi T, et al. Increased t-cell reactivity and elevated levels of CD8+ memory t-cells in alzheimer's disease-patients and t-cell hyporeactivity in an alzheimer's disease-mouse model: Implications for immunotherapy. *NeuroMolecular Medicine* 2007;9(4):340-54.
 201. Liu YJ, Guo DW, Tian L, Shang DS, Zhao WD, Li B, et al. Peripheral T cells derived from alzheimer's disease patients overexpress CXCR2 contributing to its transendothelial migration, which is microglial tnf-alpha-dependent. *Neurobiol Aging* 2010, Feb;31(2):175-88.
-

202. Monsonogo A, Zota V, Karni A, Krieger JI, Bar-Or A, Bitan G, et al. Increased T cell reactivity to amyloid beta protein in older humans and patients with alzheimer disease. *J Clin Invest* 2003;112(3):415-22.
 203. Larbi A, Pawelec G, Witkowski JM, Schipper HM, Derhovanesian E, Goldeck D, Fulop T. Dramatic shifts in circulating CD4 but not CD8 T cell subsets in mild alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2009;17(1):91-103.
 204. Zou JY, Crews FT. TNF alpha potentiates glutamate neurotoxicity by inhibiting glutamate uptake in organotypic brain slice cultures: Neuroprotection by NF kappa B inhibition. *Brain Res* 2005, Feb 9;1034(1-2):11-24.
 205. McCoy MK, Tansey MG. TNF signaling inhibition in the CNS: Implications for normal brain function and neurodegenerative disease. *J Neuroinflammation* 2008;5:45.
 206. Perry VH, Cunningham C, Holmes C. Systemic infections and inflammation affect chronic neurodegeneration. *Nat Rev Immunol* 2007, Feb;7(2):161-7.
 207. Li R, Yang L, Lindholm K, Konishi Y, Yue X, Hampel H, et al. Tumor necrosis factor death receptor signaling cascade is required for amyloid-beta protein-induced neuron death. *J Neurosci* 2004, Feb 18;24(7):1760-71.
 208. Tan ZS, Beiser AS, Vasan RS, Roubenoff R, Dinarello CA, Harris TB, et al. Inflammatory markers and the risk of alzheimer disease: The framingham study. *Neurology* 2007, May 29;68(22):1902-8.
 209. Bermejo P, Martín-Aragón S, Benedí J, Susín C, Felici E, Gil P, et al. Differences of peripheral inflammatory markers between mild cognitive impairment and alzheimer's disease. *Immunol Lett* 2008, May 15;117(2):198-202.
 210. Rojo LE, Fernández JA, Maccioni AA, Jimenez JM, Maccioni RB. Neuroinflammation: Implications for the pathogenesis and molecular diagnosis of alzheimer's disease. *Arch Med Res* 2008, Jan;39(1):1-16.
 211. Swardfager W, Lanctôt K, Rothenburg L, Wong A, Cappell J, Herrmann N. A meta-analysis of cytokines in alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* 2010.
 212. Holmes C, Cunningham C, Zotova E, Woolford J, Dean C, Kerr S, et al. Systemic inflammation and disease progression in alzheimer disease. *Neurology* 2009, Sep 8;73(10):768-74.
 213. Fil D, Borysiewicz E, Konat GW. A broad upregulation of cerebral chemokine genes by peripherally-generated inflammatory mediators. *Metab Brain Dis* 2011, Jan 22.
 214. Pan W, Kastin AJ. Upregulation of the transport system for tnfa at the blood-brain barrier. *Arch Physiol Biochem* 2001, Oct;109(4):350-3.
 215. Terrando N, Monaco C, Ma D, Foxwell BMJ, Feldmann M, Maze M. Tumor necrosis factor- α triggers a cytokine cascade yielding postoperative cognitive decline. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2010, Nov 23;107:20518-22.
-

216. Lue L-F, Rydel R, Brigham EF, Yang L-B, Hampel H, Murphy GM, et al. Inflammatory repertoire of alzheimer's disease and nondemented elderly microglia in vitro. *Glia* 2001;35(1):72-9.
 217. Strle K, Zhou JH, Shen WH, Broussard SR, Johnson RW, Freund GG, et al. Interleukin-10 in the brain. *Critical Reviews in Immunology* 2001;21(5):427.
 218. Vivien D, Ali C. Transforming growth factor-beta signalling in brain disorders. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006;17(1-2):121-8.
 219. Wyss-Coray T. Tgf-Beta pathway as a potential target in neurodegeneration and alzheimer's. *Curr Alzheimer Res* 2006, Jul;3(3):191-5.
 220. Ansel KM, Djuretic I, Tanasa B, Rao A. Regulation of th2 differentiation and il4 locus accessibility. *Annu Rev Immunol* 2006;24:607-56.
 221. Caraci F, Battaglia G, Bruno V, Bosco P, Carbonaro V, Giuffrida ML, et al. TGF-beta1 pathway as a new target for neuroprotection in alzheimer's disease. *CNS Neurosci Ther* 2009, Nov 19.
 222. Caraci F, Spampinato S, Sortino MA, Bosco P, Battaglia G, Bruno V, et al. Dysfunction of tgf- β 1 signaling in alzheimer's disease: Perspectives for neuroprotection. *Cell Tissue Res* 2012, Jan;347(1):291-301.
 223. Leng S, Chaves P, Koenig K, Walston J. Serum interleukin-6 and hemoglobin as physiological correlates in the geriatric syndrome of frailty: A pilot study. *J Am Geriatr Soc* 2002, Jul;50(7):1268-71.
 224. Steinman L, Steinman L. A brief history of TH17, the first major revision in the TH1/TH2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nature Medicine* 2007, Feb 2;13(2):139.
 225. Xie SX, Forman MS, Farmer J, Moore P, Wang Y, Wang X, et al. Factors associated with survival probability in autopsy-proven frontotemporal lobar degeneration. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008, Feb;79(2):126-9.
 226. Krueger CE, Dean DL, Rosen HJ, Halabi C, Weiner M, Miller BL, Kramer JH. Longitudinal rates of lobar atrophy in frontotemporal dementia, semantic dementia, and alzheimer's disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2009, Jun 30.
 227. Dowlati Y, Herrmann N, Swardfager W, Liu H, Sham L, Reim EK, Lanctôt KL. A meta-analysis of cytokines in major depression. *Biol Psychiatry* 2010, Mar 1;67(5):446-57.
 228. Brietzke E, Kapczinski F. TNF-alpha as a molecular target in bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008, Aug 1;32(6):1355-61.
 229. Murashima YL, Suzuki J, Yoshii M. Role of cytokines during epileptogenesis and in the transition from the interictal to the ictal state in the epileptic mutant EL mouse. *Gene Regul Syst Bio* 2008;2:267-74.
-

230. Sawada M, Imamura K, Nagatsu T. Role of cytokines in inflammatory process in parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl* 2006(70):373-81.
231. Greig NH, Giordano T, Zhu X, Yu QS, Perry TA, Holloway HW, et al. Thalidomide-based tnf-alpha inhibitors for neurodegenerative diseases. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2004;64(1):1-9.
232. Tweedie D, Sambamurti K, Greig NH. TNF-alpha inhibition as a treatment strategy for neurodegenerative disorders: New drug candidates and targets. *Curr Alzheimer Res* 2007, Sep;4(4):378-85.
233. Tobinick E, Gross H, Weinberger A, Cohen H. TNF-alpha modulation for treatment of alzheimer's disease: A 6-month pilot study. *MedGenMed* 2006;8(2):25.
234. Rezai-Zadeh K, Gate D, Gowing G, Town T. How to get from here to there: Macrophage recruitment in alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2011, Feb 23.
235. Marchetti L, Klein M, Schlett K, Pfizenmaier K, Eisel UL. Tumor necrosis factor (TNF)-mediated neuroprotection against glutamate-induced excitotoxicity is enhanced by n-methyl-d-aspartate receptor activation. Essential role of a TNF receptor 2-mediated phosphatidylinositol 3-kinase-dependent nf-kappa B pathway. *J Biol Chem* 2004, Jul 30;279(31):32869-81.
236. Saha RN, Ghosh A, Palencia CA, Fung YK, Dudek SM, Pahan K. TNF-alpha preconditioning protects neurons via neuron-specific up-regulation of creb-binding protein. *J Immunol* 2009, Aug 1;183(3):2068-78.
237. Saha RN, Liu X, Pahan K. Up-regulation of BDNF in astrocytes by tnf-alpha: A case for the neuroprotective role of cytokine. *J Neuroimmune Pharmacol* 2006, Sep;1(3):212-22.
238. Ferrer I, Marín C, Rey MJ, Ribalta T. Brain-derived neurotrophic factor in patients with frontotemporal dementia. *Neurosci Lett* 2000, Jan 21;279(1):33-6.
239. Abbas AK. The control of T cell activation vs. Tolerance. *Autoimmun Rev* 2003, May;2(3):115-8.
240. Acuto O, Michel F. CD28-mediated co-stimulation: A quantitative support for TCR signalling. *Nat Rev Immunol* 2003, Dec;3(12):939-51.
241. Xue SR, Xu DH, Yang XX, Dong WL. Alterations in lymphocyte subset patterns and co-stimulatory molecules in patients with alzheimer disease. *Chin Med J (Engl)* 2009, Jun 20;122(12):1469-72.
242. Bryl E, Vallejo AN, Weyand CM, Goronzy JJ. Down-regulation of CD28 expression by tnf-alpha. *J Immunol* 2001, Sep 15;167(6):3231-8.
243. Goronzy JJ, Weyand CM. T-cell co-stimulatory pathways in autoimmunity. *Arthritis Res Ther* 2008;10 Suppl 1:S3.
-

244. Rincón M, Flavell RA. AP-1 transcriptional activity requires both t-cell receptor-mediated and co-stimulatory signals in primary T lymphocytes. *EMBO J* 1994, Sep 15;13(18):4370-81.
 245. Kane LP, Lin J, Weiss A. It's all rel-ative: NF-[kappa]B and CD28 costimulation of t-cell activation. *Trends in Immunology* 2002;23(8):413 - 420.
 246. Rudd CE, Taylor A, Schneider H. CD28 and CTLA-4 coreceptor expression and signal transduction. *Immunol Rev* 2009, May;229(1):12-26.
 247. Waterhouse P, Penninger JM, Timms E, Wakeham A, Shahinian A, Lee KP, et al. Lymphoproliferative disorders with early lethality in mice deficient in *ctla-4*. *Science* 1995;270(5238):985.
 248. Bour-Jordan H, Esensten JH, Martinez-Llordella M, Penaranda C, Stumpf M, Bluestone JA. Intrinsic and extrinsic control of peripheral t-cell tolerance by costimulatory molecules of the CD28/B7 family. *Immunol Rev* 2011, May;241(1):180-205.
 249. Driessens G, Kline J, Gajewski TF. Costimulatory and coinhibitory receptors in anti-tumor immunity. *Immunol Rev* 2009, May;229(1):126-44.
 250. Linsley PS, Nadler SG. The clinical utility of inhibiting cd28-mediated costimulation. *Immunol Rev* 2009, May;229(1):307-21.
 251. Avagyan H, Goldenson B, Tse E, Masoumi A, Porter V, Wiedau-Pazos M, et al. Immune blood biomarkers of alzheimer disease patients. *J Neuroimmunol* 2009, May 29;210(1-2):67-72.
-