

1.Introdução

1.1 Depressão/ Demência

A depressão é um prevalente problema de saúde pública associado com grande comprometimento cognitivo (Ávila e cols, 2009), piora da qualidade de vida (Chachamovic e cols, 2008), maior morbimortalidade (Alexopoulos, 2005; Andrei e cols, 2007), além de acarretar sérias repercussões sociais e individuais (Hamet, 2005), em especial nos idosos (Blazer e cols, 2001; Blazer, 2005). Estima-se que a depressão atinja 20% da população mundial (Gillespie, 2005), ou seja, espera-se que uma a cada cinco pessoas terão diagnóstico de depressão em algum momento de suas vidas (Kessler, 2003). Mundialmente, entre a população acometida por depressão estima-se uma proporção de cinco mulheres acometidas para cada dois homens, mostrando uma influência de gênero na depressão (Wong e Licinio, 2001). No Brasil, no estado da Bahia, Aguiar e Dunningham (2001) relataram prevalência de cerca de 15% de depressão em idosos na comunidade.

O crescimento da população idosa está associado a um aumento da prevalência de doenças crônico-degenerativas, entre elas aquelas que comprometem o funcionamento do sistema nervoso central, como as doenças psiquiátricas, particularmente a depressão (Krishman e cols, 1995). Em idosos, a depressão é uma síndrome heterogênea quanto à etiologia e aos aspectos relacionados ao tratamento. Assim como em adultos, sua causa é multifatorial e fatores biológicos e psicossociais desempenham papel fundamental. Os infortúnios psicossociais como o luto, dificuldades econômicas, desemprego, isolamento, institucionalização e incapacidade

contribuem para as mudanças fisiopatológicas. A depressão em idosos refere-se às síndromes depressivas definidas pela APA (*American Psychiatric Association*) no DSM-IV e na Classificação Internacional de Doenças (CID-10) que comprometem o indivíduo acima dos 65 anos. Dentre os diversos transtornos que afetam os idosos, a saúde mental merece especial atenção. Os transtornos mentais, principalmente depressão e demência, comprometem 20% da população idosa. Essas patologias levam à perda de independência e autonomia e conseqüentemente, determinam aumento das taxas de idosos incapacitados. A depressão é uma das comorbidades psiquiátricas mais frequentes na DA, com prevalência de 30 a 50%. Essa está associada a uma maior dificuldade para desempenho das atividades da vida diária o que eleva as taxas de institucionalização. Raramente a depressão ocorre de forma isolada. Essa, encontra-se, geralmente, associada a outros sintomas comportamentais ou psicológicos, como irritabilidade, ansiedade, apatia e desinibição. A depressão é habitualmente subdiagnosticada e a maioria dos pacientes com demência não é tratada ou usa doses subterapêuticas de antidepressivos (Lee e Lyketsos, 2003).

Depressão de início tardio (DIT) difere das outras por acometer idosos após os 65 anos e, conceitualmente, esses não devem ter apresentado episódio depressivos em fase anterior da vida. Essa doença está associada a incapacidade física, cognitiva e social (Hickie 2003). Brodaty e colaboradores (2001) relataram que idosos com eventos vasculares, incluindo histórico de acidente vascular cerebral, estão mais susceptíveis à depressão de início tardio, embora esta conclusão não se confirme em alguns estudos (Brodaty e cols, 2001). Além disto estudos mostram que déficits mais intensos em funções executivas são mais comuns em pacientes com DIT (Elderkin-Thompson e

cols, 2003; Elderkin-Thompson e cols, 2007). Pesquisas apontam que idosos com DIT apresentam, concomitantemente, comprometimento cognitivo ou associa-se com demência (Schweitzer e cols 2002; Amy, 2011). Indivíduos portadores de depressão maior de início precoce quando comparados com os DIT apresentam história familiar menos prevalente para transtorno do humor e mais prevalente para demência. Apresentam também, pior desempenho nos testes neuropsicológicos e maior taxa de evolução para demência (Alexopoulos e Kelly, 2010). Apesar da etiologia da depressão ainda não ser bem compreendida, um amplo espectro de fatores causais implicados no desenvolvimento deste transtorno, já foi elucidado (Kalia, 2005). Idosos portadores de transtorno depressivo maior, principalmente DIT com incapacidade cognitiva associada, apresentam maior probabilidade de evoluir para demência dentro de poucos anos após o início do quadro depressivo. Entretanto, a relação entre a depressão e a evolução para demência não está completamente elucidada (Wilson e cols., 2008).

Os mecanismos biológicos associados à depressão geriátrica não estão completamente esclarecidos. A heterogeneidade clínica dos quadros depressivos sugere que diversos mecanismos biológicos podem estar relacionados a sua fisiopatologia. Por outro lado, esta heterogeneidade clínica pode dificultar a seleção de pacientes para estudos sobre os mecanismos neurobiológicos subjacentes a depressão geriátrica, pois a definição do diagnóstico é complexa (Ownby e cols., 2006). Processos relacionados à idade, como as doenças vasculares apresentam uma associação com depressão. A agregação plaquetária encontra-se aumentada sugerindo que a depressão aumente o risco de doenças cardiovasculares (Thomas e cols., 2004). A definição de depressão vascular deve incluir a idéia de que a depressão

por si só suscita e piora a doença vascular. Estudos propõem que as doenças vasculares predisõem, precipitam ou perpetuam a depressão e esta, por sua vez, agrava as doenças vasculares, o que induz a existência de uma íntima relação entre depressão e doença vascular (Smith e cols., 2007). Indivíduos que apresentam a associação de depressão com doença vascular fazem parte de um grupo de pior prognóstico evolutivo. Estes indivíduos apresentam maior incapacidade cognitiva global, comprometimento da nomeação e da fluência verbal (Thomas e cols., 2004).

Dentre os fatores biológicos, estudos de genética mostraram herdabilidade de 40% a 50% para depressão (Fava e Kendler, 2000). Apesar dos efeitos individuais da variação genética serem relativamente pequenos, as interações entre genes e o meio ambiente podem contribuir significativamente para a vulnerabilidade à depressão (Castrén, 2005). A depressão em idosos pode ser um sintoma de demência (Skoog, 2004). Os sinais e sintomas de depressão frequentemente antecedem o declínio cognitivo e a demência. Apesar da forte evidência da relação entre depressão e o risco para DA alguns estudos ainda apontam controversas (Green, R.C., e cols., 2003; Li, Y., e cols., 2001). Os sintomas depressivos são descritos em 35 - 50% dos casos de demência (Li, Y., e cols., 2001; Harwood, D.G., 2000). Jorm, AF. (2001) desenvolveu um estudo de metaanálise para avaliar a relação entre depressão e o risco de desenvolver demência, mas não foi possível determinar se a depressão seria um pródromo ou um fator de risco.

1.2 Doença de Alzheimer.

A doença de Alzheimer (DA) é a doença neurodegenerativa mais comum (McKusick, 2004). É o tipo de demência com maior chance de se desenvolver nas idades mais avançadas, sendo que o envelhecimento constitui o principal fator de risco para o seu desenvolvimento. Além de comprometer a memória, ela afeta a orientação, atenção, linguagem, capacidade para resolver problemas além das habilidades para desempenhar as atividades da vida diária (Silva e cols, 2006). A piora ocorre de forma gradual e contínua, usualmente num período de 8 a 12 anos. Existe, todavia, grande variabilidade de progressão da doença, desde períodos tão curtos quanto 2 anos, até tão longos, quanto 25 anos (Machado, 2006). É uma importante causa de incapacidade e, apresenta um alto e crescente custo para o sistema de saúde e para a sociedade (Aprahamian e cols., 2009). A incidência da DA dobra a cada cinco anos após os 65 anos, atingindo 40 a 50% da população aos 85 anos (Querfurth e LaFerla, 2010). No Censo de 2010 divulgado pelo IBGE a população com essa faixa etária deve passar de 14,9 milhões (7,4% do total), em 2013, para 58,4 milhões (26,7% do total), em 2060. No período, a expectativa média de vida do brasileiro deve aumentar dos atuais 75 anos para 81 anos. De acordo com o IBGE, as mulheres continuarão vivendo mais do que os homens. Em 2060, a expectativa de vida delas será de 84,4 anos, contra 78,03 dos homens. Hoje, elas vivem, em média, até os 78,5 anos, enquanto eles, até os 71,5 anos. Considerando a taxa de prevalência de demência como de 7,1%, o Ministério da Saúde estima que existam no Brasil cerca de 1,1 milhões de indivíduos portadores de demência e desses 55% dos casos são atribuídos à DA. Também, foi observada maior

prevalência entre as mulheres, apresentando uma razão média masculino-feminino de 0,54 (Herrera e cols., 1998).

Apesar da idade ser apontada como o principal fator de risco para DA, outros fatores de risco como: como a carga genética, presença do alelo $\epsilon 4$ da Apolipoproteína E (*APOE*), baixa escolaridade, história familiar positiva e história de depressão maior (Arahamian e cols., 2010; Lindsay e cols., 2002; Scazufca e cols., 2009) devem ser observados. Na neuropatologia da DA são observadas perdas sinápticas, apoptose neuronal, infiltrado inflamatório, angiopatia amilóide e emaranhados neurofibrilares. Os principais mecanismos que resultam na morte neuronal são: 1) hiperfosforilação da proteína *tau*, que leva à formação de emaranhados neurofibrilares dentro dos neurônios (Gauthier, 2006); 2) formação de placas amilóides externas aos neurônios a partir da clivagem da proteína precursora da amiloide envolvidas no processo amiloidogênico (Noh MY, 2009).

1.3 Hiperfosforilação da Proteína Tau

Tau é uma proteína associada a estabilização do microtúbulo, transporte vesicular e função na estabilidade neuronal e de células da glia (Goedert, 1992).

A proteína Tau hiperfosforilada é insolúvel, o que confere a perda de afinidade pelos microtúbulos resultando em aglomerações destas proteínas (Fig. 1). A esses aglomerados dá-se o nome de emaranhados neurofibrilares que são agregados intracitoplasmáticos de filamentos helicoidais compostos pela proteína tau hiperfosforilada. Os agregados intermediários das moléculas tau anormais são citotóxicos e comprometem a cognição. Existem evidências que a formação de emaranhados na DA represente uma das várias respostas citológicas dos neurônios ao acúmulo gradual de A β e moléculas associadas a A β . O número de emaranhados é uma marca patológica da gravidade da doença (Querfurth e LaFerla, 2010).

Uma importante proteína envolvida na fosforilação de tau é a proteína Akt, também denominada Proteína Kinase B (Figura 1).

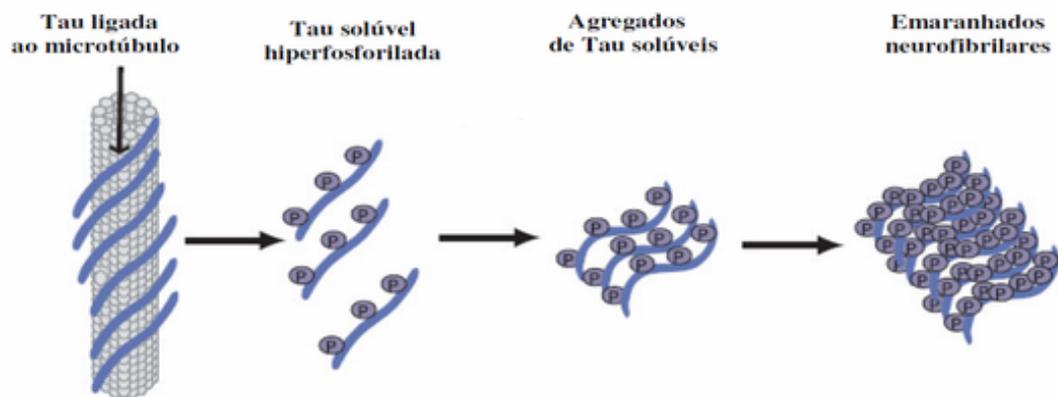


Figura1: Formação de Emaranhados Neurofibrilares. Tau ligada ao microtúbulo. Aumento gradual da fosforilação (p) da proteína Tau. Uma importante proteína responsável na fosforilação de Tau é a AKT1.

Akt tem ação de fosforilar outras proteínas e fatores de transcrição. Uma importante proteína cinase que Akt fosforila é a GSK3. GSK3 uma vez fosforilada fica inativa e aumenta a fosforilação da proteína Tau. A proteína Tau hiperfosforilada se desacopla do microtúbulo formando os emaranhados neurofibrilares consequentemente apoptose (Scheid, 2003).

Em mamíferos a Akt possui três isoformas Akt1, Akt2 e Akt3, sendo Akt1 expressa em maior quantidade (Scheid, 2003). A Akt1 está envolvida em vários processos celulares e também é um importante alvo farmacológico para medicações utilizadas no tratamento da Doença de Alzheimer (Balleza, 2009). Noh e cols. (2009) demonstraram que o mecanismo neuroprotetor do donepezil estava relacionado ao aumento de fosforilação de Akt1 e na redução de fosforilação da tau.

A morte de células neuronais observada em doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer, é extensa e ainda não se sabe o fator principal que causa essa morte. A prevenção dessa morte poderia ser a promessa para retardar os efeitos da demência (Noh, 2009). Akt1 é uma proteína que está envolvida na cascata de sinalização de sobrevivência celular, essa sobrevivência ocorre através da inibição dos processos apoptóticos ou de morte celular, além de estar envolvida em vários outros processos celulares como, por exemplo, a síntese de proteínas e crescimento celular (Brazil, 2002) e pode ser ativada por vários fatores de crescimento e também pela insulina (Song, 2006). Alguns estudos demonstram a importância de Akt1 nos processos celulares. Crowder e cols. (1998), observaram o efeito positivo desta na progressão celular neuronal, no desenvolvimento neuronal e em eventos neuroendócrinos. Outro estudo observou que o nível de expressão de Akt1 está aumentado no processo de regeneração neuronal, o que sugere seu envolvimento no processo de reestabelecimento neuronal (Sanna, 2002).

Para a ativação e fosforilação de Akt1 são necessárias várias interações com diferentes proteínas, uma delas é a AKTIP (*AKT-interacting protein*), que ao ligar-se na Akt1 aumentaria a fosforilação de Akt1 em ambos os sítios regulatórios, isso ocorreria através da promoção da interação com a proteína kinase PDK1 (Scheid, 2003).

1.4 Processo Amiloidogênico

No processo amiloidogênico o principal componente é um peptídeo de 36-43 aminoácidos altamente insolúvel, denominado *beta*-amilóide ($A\beta$) que é produto da clivagem da proteína precursora amilóide (APP; *amyloid precursor protein*) formando assim, as placas amilóides. (Figura 2)

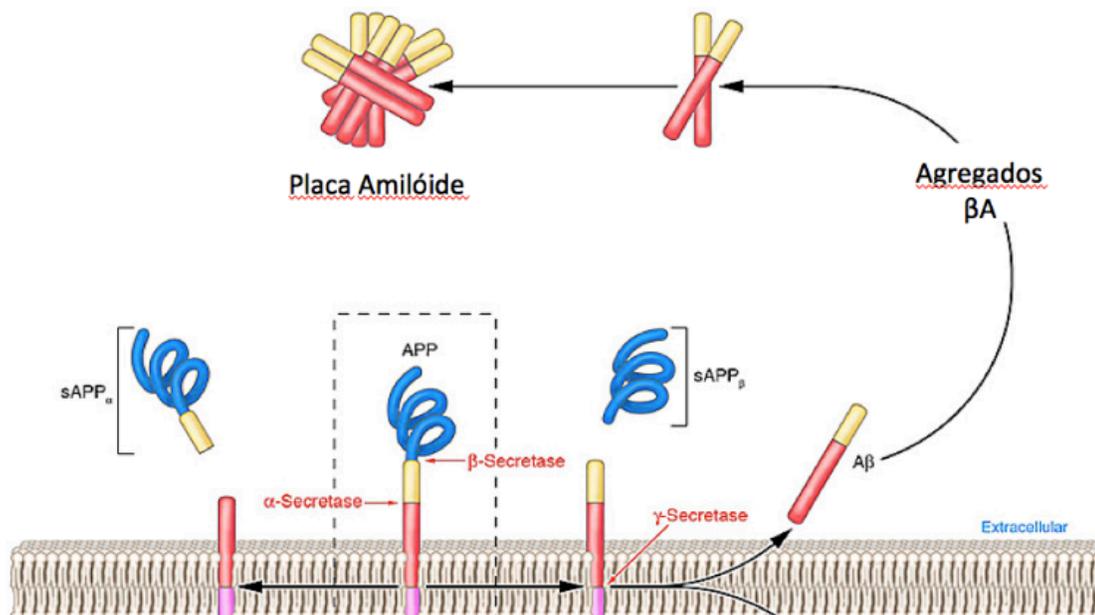


Figura 2: Processo Amiloidogênico: As vias não-amiloidogênicas e amiloidogênicas de processamento de APP. APP é clivada por uma das alfa- ou beta-secretase. A clivagem por alfa-secretase (a via não-amiloidogênica) gera sAPP-alfa (esquerda). A clivagem pela beta-secretase (a via amiloidogênica) gera sAPP-beta. (modificado de: Petra E. Spies, 2012).

Uma desarmonia entre a produção e a remoção destas placas e a agregação deste peptídeo causa o acúmulo de $A\beta$ e, o seu excesso pode ser o fator inicial da DA. A $A\beta$ pode se agrupar e formar as fibras insolúveis das placas amilóides (placas neuríticas ou placas senis). Os dímeros e trímeros de $A\beta$ conferem toxicidade para as sinapses (Querfurth e LaFerla, 2010). Além disso, $A\beta$ causa toxicidade mitocondrial.

Este efeito tóxico aumenta a formação de radicais superóxido e sua conversão em peróxido de hidrogênio que, por sua vez, produz estresse oxidativo, consequentemente apoptose celular (Querfurth e LaFerla, 2010).

1.5 Ciclo Circadiano, Sistema Orexinérgico, Depressão e Alzheimer

O Ciclo circadiano (do latim *circa* cerca de + *diem* dia) denomina um período de aproximadamente 24 horas. O ritmo circadiano influi sobre, por exemplo, os mecanismos da fome, o estado sono-vigília, a renovação das células, o controle da temperatura do organismo. O "relógio" que processa e monitora todos esses processos encontra-se localizado numa área cerebral denominada Núcleo Supraquiasmático (NSQ), localizado no hipotálamo acima da glândula pituitária.

Três sub-divisões hipotalâmicas são importantes no ciclo sono-vigília: o hipotálamo anterior (núcleos gabaérgicos e núcleos supraquiasmáticos), o hipotálamo posterior (núcleo túbero-mamilar histaminérgico) e o hipotálamo lateral (sistema hipocretinas). Os neurônios supraquiasmáticos (NSQs) do hipotálamo anterior são responsáveis pelo ritmo circadiano do ciclo sono-vigília. Os núcleos aminérgicos, histaminérgicos, as hipocretinas e núcleos colinérgicos do prosencéfalo basal apresentam-se ativos durante a vigília, inibindo o núcleo pré-óptico ventro-lateral, promovendo a vigília (Pace-Schott EF, 2013; Taheri, 2002). Como os neurônios do sistema orexinérgico inervam várias regiões cerebrais de excitação, que inclui o locus coeruleus, o dorsal da rafe além de estimularem o sistema dopaminérgico pelas projeções mesolímbicas entre a área tegmental ventral e núcleo accumbens. (Fig.3) (Taheri, 2002).

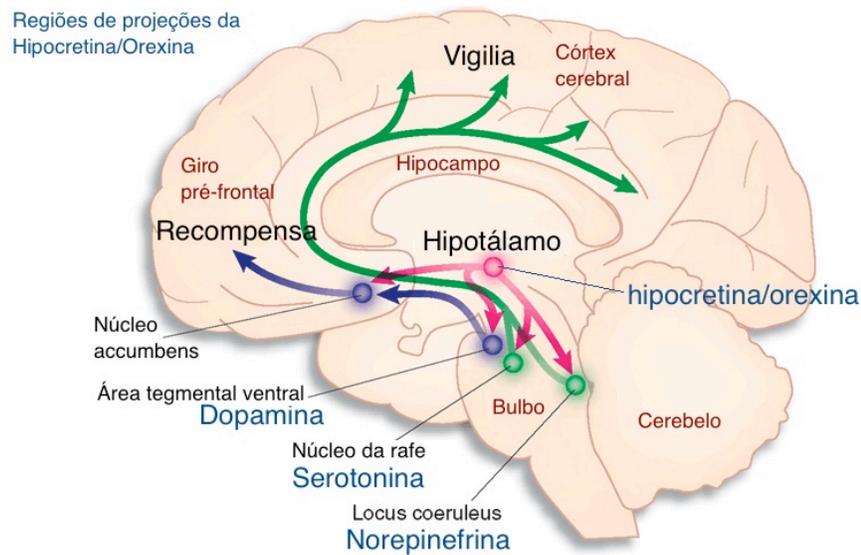


Figura 3: Sistema Orexinérgico: Neurônios produtores de orexina, localizados no Núcleo Supraquiasmático, são restritos ao hipotálamo lateral e faz projeção em todo o cérebro, em particular para as regiões do cérebro envolvidas na excitação, estresse e de recompensa do cérebro (modificada de Aloé F.).

Os neuropeptídeos se ligam a dois receptores, localizados nos núcleos associados às diversas funções cognitivas e fisiológicas. Ambas orexinas (A e B) originam-se do processo proteolítico do peptídeo precursor prepro-orexina (fig. 1) e possuem dois receptores acoplados a proteína G. O receptor da orexina 1 (Ox1r) é seletivo para a orexina A, enquanto o receptor de orexina 2 (Ox2r) apresenta afinidade igual para ambos peptídeos (Sakurai e cols., 1998).

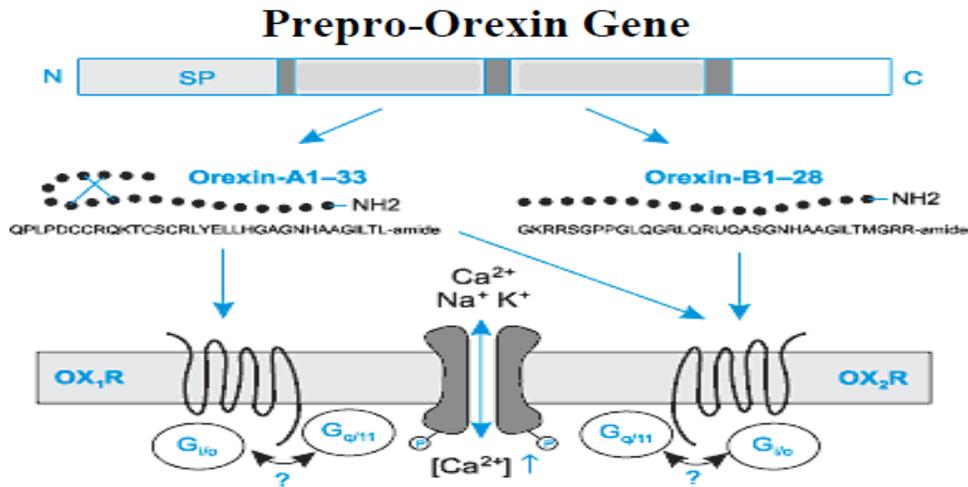


Figura 4: Peptídeo precursor prepro-orexina e possui dois receptores acoplados a proteína G. Modificado de: *Oliver Selbach, Krister S. Eriksson and Helmut L. Haas Drug News Perspect 2003, 16(10).*

Achados recentes mostram que os camundongos *knockdown* Ox1r apresentam redução da atividade locomotora, entretanto não foi observado uma diminuição dos comportamentos depressivos ou ansiosos. Por outro lado, observou-se um aumento do comportamento ansioso em camundongos *knockdown* para receptores Ox2r. A ansiedade foi medida pela redução da interação social desse e pela redução do tempo gasto no “braço” aberto do teste de labirinto em cruz elevado pelos camundongos. O labirinto em cruz elevado é um teste de ansiedade amplamente utilizado. Os autores (Handley e Mithani em 1984) do teste observaram que os animais, ao serem colocados no centro do aparato, demonstravam clara tendência a explorar os braços fechados, em detrimento dos abertos. A exposição dos ratos a situações naturalmente ameaçadoras, representadas no modelo pela altura e pelo espaço aberto, explicaria a maior aversão para explorar os braços abertos. O resultado desse experimento, *knockdown* para receptores Ox2, levanta a possibilidade de que um agonista Ox2r

pode servir como um meio eficaz para o tratamento de transtornos de ansiedade e depressão (Arendt D.H., e cols, 2014).

O controle do ritmo circadiano é um processo complexo que envolve a interação de fatores ambientais e genéticos (Wehr, 1996). O ciclo claro-escuro de 24 horas é apontado como um dos maiores exemplos da influência epigenética no processo evolutivo (Bunney, 2000). Esse mecanismo baseia-se no funcionamento integrado de um conjunto de genes que são altamente expressos no Núcleo Supraquiasmático (NSQ), denominados genes circadianos (Takahashi, 2006).

Análises genéticas demonstraram que os ritmos circadianos são controlados por um sistema interconectado consistindo de uma alça de retroalimentação negativa e outra positiva. A negativa cicla em um período de 24 horas, na qual os produtos proteicos de alguns genes acabam por inibir sua própria transcrição (Takahashi, 2006). O principal complexo ativador desse sistema de retroalimentação negativa consiste em um heterodímero formado pelas proteínas CLOCK (*Circadian Locomotor Output Cycles Kaput protein*) e BMAL1 (*Brain and Muscle ARTNLike protein 1*). Esse complexo ativador regula a expressão de vários genes, dentre os quais podemos citar os genes da família *Period* (*PER1, PER2, PER3*) e os genes *Cryptochrome* (*CRY1, CRY2*) ao se ligar na região promotora conhecida como E-box (Figura 2). Esses genes ativados sintetizam produtos proteicos que retornam ao núcleo após serem fosforilados por quinases como a CK1 e a GSK-3, e inibem a atividade do complexo CLOCK:BMAL1, constituindo a retroalimentação positiva, fechando assim a alça de retroalimentação e inibindo sua própria expressão (Takahashi 2000).

A transcrição desses genes é ativada no início do dia pelo complexo heteromérico. Ao serem ativados observa-se um acúmulo de mRNA de Per e Cry no NSQ. Posteriormente os níveis dos produtos proteicos desses genes também se acumulam no Núcleo Supraquiasmático (NSQ), mas com um atraso de algumas horas, sendo que o pico de concentração dos produtos proteicos ocorre no fim do dia (Hastings, 2007). Concomitante ao pico de concentração das proteínas Per e Cry, inicia-se uma queda nos níveis de mRNA dos mesmos genes devido ao processo de retroalimentação negativa exercida pelos produtos proteicos dos genes *PER* e *CRY* nos genes *CLOCK* e *BMAL1*. A presença da alça de retroalimentação negativa é essencial para a ritmicidade observada. Dessa forma, mutações dos genes *CLOCK* e *BMAL1*, ou em qualquer outro gene circadiano, poderiam tornar seus produtos proteicos insensíveis à inibição exercida pelas proteínas Per e Cry, conseqüentemente não seriam capazes de sustentar os ciclos circadianos de expressão gênica (Sato e cols., 2006). Figura 5.

Em um estudo recente *post-mortem*, Cermakian e col. (2011) encontraram diferenças significativas no padrão de expressão de *CLOCK* entre pacientes com Alzheimer e controles. Eles observaram uma expressão elevada de *PER1* e *PER2* no córtex cingulado ($p < 0,0001$, $p < 0,02$ respectivamente) em pacientes com DA comparado ao grupo de controle (Cermakian e cols., 2011) o que sugere uma alteração nesse sistema DA.

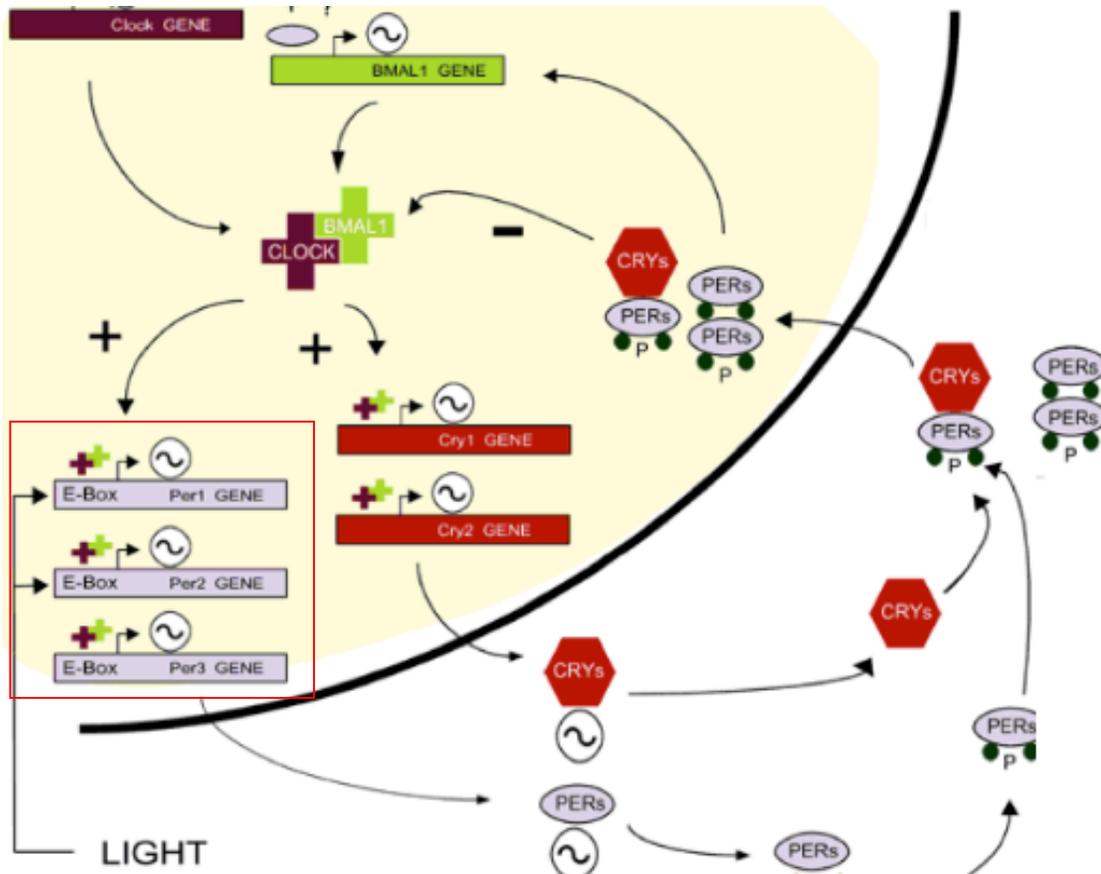


Figura 5: Retroalimentação positiva e negativa. As proteínas Clock e Bmal1 formam um heterodímero que se liga ao promotor do gene *PER1*, *PER2* e *PER3* permitindo assim sua transcrição. Esses genes fazem sua própria autoregulação quando voltam ao núcleo inibindo a ação do heterodímero concluindo assim, a retroalimentação negativa. Adaptado de: Whitmore, D. et al.: A Clockwork Organ. *Biological Chemistry* 381, 793-800 (2000).

Um estudo feito em camundongos que expressavam a proteína precursora da **A β** humana feito por Kang (2009), encontrou uma variação diurna dos níveis de **A β** no líquido cefalorraquidiano. Constatou-se uma expressão da **A β** aumenta durante o dia e diminuída durante a noite. Eles chegaram a essa conclusão com experimentos de infusão intracerebroventricular de orexina-A e observaram aumento dos níveis de **A β** . Infundiram também, o antagonista do receptor de orexina, o almorexante – por 24h e

observaram a supressão dos níveis de $A\beta$. Quando eles bloquearam o receptor de orexina, para observar a formação de placas $A\beta$ através do tratamento sistêmico de almorexante uma vez por dia durante 8 semanas, eles observaram a redução significativa da formação de placas $A\beta$ em várias regiões cerebrais (Kang, 2009), o que os fez concluir que a dinâmica cíclica da $A\beta$ é influenciada pelo peptídeo orexina. Do ponto de vista clínico, os familiares, os cuidadores e os profissionais de saúde são confrontados com graves desafios no que se refere ao cuidado dos pacientes com DA. Um desses desafios é a alteração do ritmo sono-vigília de muitos pacientes com Alzheimer, bem como pacientes com episódios depressivos graves apresentam alteração da secreção circadiana de vários hormônios, determinando níveis séricos significativamente maiores do que em indivíduos normais. Esses níveis usualmente retornam ao normal com a remissão do quadro depressivo. Alguns estudos demonstram que há uma tendência de sincronização de alguns ritmos circadianos como a temperatura corporal, a frequência cardíaca e alguns hormônios, quando os pacientes são tratados com antidepressivos (Wolf, 1975; Reynolds, 2006). Confirmando, assim, sua íntima relação não só com a DA e com a Depressão (Jun, Z., e cols., 2013) mas também, importante influência nas doenças psiquiátricas.

Pelas razões previamente discutidas, decidimos caracterizar associações genéticas em pacientes com Depressão de Início tardio ou Doença de Alzheimer nos genes *OX2R*, *AKT*, *AKT-IP*, *PER2*, *PER3* e *CLOCK*.

2. Justificativa

A constatação da existência de um relógio biológico em seres humanos, e do complexo controle dos ritmos biológicos exercido por um conjunto de genes altamente expressos no núcleo supraquiasmático, sustenta a hipótese de que alterações na função desses genes possam constituir substrato biológico das alterações dos ritmos circadianos observadas em transtornos do humor, dentre eles a Depressão de Início Tardio e doenças neurodegenerativas como o Alzheimer.

A investigação do possível papel dos genes circadianos na DIT e na DA pode levar a um melhor conhecimento sobre a neurobiologia das doenças, bem como trazer enormes benefícios para questões relacionadas ao diagnóstico e ao tratamento, contribuindo assim para um melhor controle dos sintomas e uma melhor qualidade de vida das pessoas acometidas por estas doenças.

3. Objetivos

Considerando os dados da literatura, delineamos um estudo que visa estabelecer as relações genéticas, demográficas e clínicas (qualidade do sono) envolvidas no processo de depressão-demência no idoso. Nossos objetivos foram:

- Avaliar a existência de associação entre os polimorfismos funcionais e intrônicos (TagSNPs) do gene *OX2R* em idosos brasileiros com Depressão de Início Tardio ou com Doença de Alzheimer.

- Avaliar a existência de associação entre os polimorfismos funcionais dos genes *PER2*, *PER3* e *CLOCK* em idosos brasileiros com Depressão de Início Tardio ou com Doença de Alzheimer.

- Avaliar a existência de associação entre os polimorfismos intrônicos (TagSNPs) dos genes *AKT1* e *AKTIP* em idosos brasileiros com Depressão de Início Tardio ou com Doença de Alzheimer.

4. Artigos

4.1 Artigo Publicado

4.2 Artigo Submetido

5. Materiais e Métodos

5.1 Diagnóstico e Escolha dos indivíduos

Nossa amostra foi constituída por 583 indivíduos, os participantes foram separados em três grupos: controles, pacientes portadores de depressão maior de início tardio (DIT), pacientes portadores de demência de Alzheimer (DA) de início tardio. Os grupos foram comparados com relação aos dados sócio-demográficos, variáveis clínicas e polimorfismos genéticos. Foram selecionados 222 pacientes com DIT, 249 pacientes com DA e 112 indivíduos pertencentes ao grupo controle, todos com mais de 65 anos, recrutados do Ambulatório do Instituto Jenny de Andrade Faria de Atenção à Saúde do Idoso da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) no período entre 2006 e 2011. Todos foram submetidos à avaliações geriátricas, cognitivas, funcionais e comportamentais por profissionais treinados (Quadro 1).

Quadro 1: Bateria de instrumentos de avaliação cognitivas e de transtornos psiquiátricos utilizada nos Centros de Atenção ao Idoso:

Mini mental	Folstein e cols., 1975; Brucki e cols., 2003.
Fluência verbal	Brucki e cols., 1997
Lista de palavras CERAD	Morris e cols., 1989; Bertolucci e cols., 1998.
Reconhecimento de figuras	Nitrini e cols., 1994
Teste do relógio	Nitrini e cols., 1994
Inventário neuro-psiquiátrico	Cummings e cols., 1994
Escala de demência clínica (CDR- <i>Clinical Dementia Rating</i>)	Morris e cols., 1993
<i>Frontal and Assessment Battery</i> (FAB)	Dubois e cols., 2000
Avaliação funcional Pfeffer	Pfeffer e cols., 1982
Avaliação funcional Lawton	Lawton&Brody, 1969
Avaliação funcional Katz	Katz e cols., 1963
Critérios diagnósticos para depressão	DSM IV
GDS	Almeida&Almeida, 1998
MINI PLUS	Amorim P, 2000
Escala de depressão de Hamilton	Hamilton M, 1960
Escala de Cornell	Alexopoulos GA, 1988; Carthey-Goular, 2007.

O diagnóstico de DA provável foi realizado de acordo com os critérios do *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* (NINCDS-ADRDA). Não foram incluídos casos de DA de início precoce. Os portadores de DA foram submetidos ao Inventário Neuropsiquiátrico (*NPI - Neuropsychiatry Inventory*) (Quadro 2). Foi realizado exame neurológico, exames de sangue de rotina (como hematologia, bioquímica, hormônio estimulante da tireóide, níveis de vitamina B12 e ácido fólico, sorologia para sífilis e sorologia para HIV, dependendo da história, e estudos de imagem cerebral (TC e/ou RM). Os testes de rastreio cognitivo e avaliação funcional incluíram o *Mini-Mental State Examination* (Folstein, 1975), Protocolo CERAD (teste de palavras) (Bertolucci, 1998) e teste de figuras, *Clock Drawing Test* (Nitrini, 1994), Escala de Atividades da vida Diária Katz (Katz e cols., 1963), Atividades instrumentais da vida diária Pfeffer, Lawton (Pfeffer, 1982; Lawton, 1969). Todos os pacientes foram classificados de acordo com escala de Avaliação Clínica de Demência (CDR) (Morris e cols., 1993). Para evitar os casos de inclusão Demência Vasculare excluímos pacientes que obtiveram mais de 2 pontos na Escala isquêmica Hachinski (Hachinski, 1974). Distúrbios comportamentais e psiquiátricos foram avaliados por uma avaliação direta do paciente e uma entrevista com o cuidador primário em contato diário com o paciente. A Escala de Inventário Neuropsiquiátrico (quadro 2), uma entrevista totalmente estruturada também foi realizada. Critérios de exclusão adotados foram: (a) histórico de esquizofrenia, transtorno esquizoafetivo, transtorno delirante ou transtorno de humor com características psicóticas, transtorno de uso de drogas ou retardo mental de acordo com critérios DSM-IV, (b) desordens vasculares cerebrais, demência mista,

hidrocefalia, e intra-craniana em massa, documentada por tomografia computadorizada ou ressonância magnética nos últimos 12 meses; (c) anormalidades em folato e vitamina B12 sérica, sorologia para sífilis ou HIV, ou os níveis de hormônio da tireóide, (d) histórico de lesão cerebral traumática ou outra doença neurológica (por exemplo doença Parkinson, doença de Huntington), (h) ausência de cuidador ou acompanhante, que poderia informar corretamente sobre a hipótese e o comportamento do paciente, nos casos de DA.

Quadro 2: Inventário Neuropsiquiátrico (NPI). Fonte: Protocolo de Avaliação multidimensional do Idoso – Centro de Referência Jenny de Andrade Faria.

INVENTÁRIO NEUROPSIQUIÁTRICO (NPI – CUMMINGS <i>et al.</i> , 1994)								
Intensidade: <i>1 = leve; 2 = moderado; 3 = grave;</i>		Frequência: <i>1 = ocasionalmente, menos de uma vez por semana;</i> <i>2 = pouco frequentemente, cerca de uma vez por semana;</i> <i>3 = frequentemente, várias vezes por semana, mas não todo dia;</i> <i>4 = Muito frequentemente, uma ou mais vezes por dia ou continuamente</i>						
SINTOMATOLOGIA	NÃO	SIM						
		INTENSIDADE			FREQUÊNCIA			
		1	2	3	1	2	3	4
Delusão: idéias de culpo persecutório, de furto ou infidelidade.								
Alucinações: visuais/ auditivas/ táteis/ olfativas								
Agitação/inquietude, agressividade								
Disforia: baixa de humor, tristeza								
Ansiedade								
Euforia								
Apatia: comportamento passivo, falta de iniciativa.								
Desinibição								
Irritabilidade/Labilidade emocional								
Atividade motora aberrante: perambulação,...								

Os indivíduos do grupo controle foram selecionados entre os pacientes que frequentaram o mesmo serviço e seguiram os mesmos protocolos descritos acima. Eles apresentavam cognição normal para a idade, sem história pessoal e familiar (em

parentes de primeiro grau) de doenças neuropsiquiátricas atuais ou pregressas. Eles também foram submetidos ao *Mini-international Neuropsychiatric Interview* (MINI-PLUS) (Sheeran e cols., 1998) versão em português (Amorim P, 2000) para excluir outros distúrbios psiquiátricos.

Todos os participantes assinaram um termo de consentimento que aprovado pelo Comitê de Ética local.

O diagnóstico de Transtorno Depressivo Maior de início tardio foi realizado baseado nos critérios do DSM IV e da Escala de Depressão Geriátrica (GDS) validada em português (Sheikh e Yesavage, 1986; Almeida e Almeida, 1999). Foi considerado 5/15 o ponto de corte para o diagnóstico de depressão através do GDS (Tabela 1).

Tabela 1: Perguntas da Escala de Depressão Geriátrica.

Perguntas	Sim	Não
1- Você está basicamente satisfeito com sua vida?	0	1
2- Você se aborrece com freqüência?	1	0
3- Você se sente um inútil nas atuais circunstâncias?	1	0
4- Você prefere ficar em casa a sair e fazer coisas novas?	1	0
5- Você sente que sua situação não tem saída?	1	0
6- Você tem medo que algum mal vá lhe acontecer?	1	0
7- Você acha que sua situação é sem esperança?	1	0
8- Você acha maravilhoso estar vivo?	0	1
9- Você sente que sua vida está vazia?	1	0
10- Você sente que a maioria das pessoas está melhor que você?	1	0
11- Você se sente com mais problemas de memória do que a maioria?	1	0
12- Você perdeu muitos de seus interesses e atividades?	1	0
13- Você se sente de bom humor a maior parte do tempo?	0	1
14- Você se sente cheio de energia?	0	1
15- Você se sente feliz a maior parte do tempo?	0	1
Pontuação		

Pontos de corte: 4/5.

5.2 Genotipagem

Todos os SNPs foram selecionados pelo banco de dados online *HapMap* (www.hapmap.org) e pelo banco de dados da SNPs do *PubMed* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) (Tabela 2).

Tabela 2. Descrição dos marcadores dos genes.

SNP	Polimorfismo	Alelo ancestral	Posição
rs2494731	C/G	C	AKT1 CROMOSSOMO 14
rs3803304	C/G	G	AKT1 CROMOSSOMO 14
rs3730358	C/T	C	AKT1 CROMOSSOMO 14
rs2494738	A/G	G	AKT1 CROMOSSOMO 14
rs10149779	A/G	G	AKT1 CROMOSSOMO 14
rs2494746	C/G	G	AKT1 CROMOSSOMO 14
rs1130214	A/C	A	AKT1 CROMOSSOMO 14
rs9302648	G/T	G	AKTIP CROMOSSOMO 16
rs7189819	C/T	C	AKTIP CROMOSSOMO 16
rs10462020	V[Val] ⇒ G[Gly] GTC ⇒ GGC	T	PER3 CROMOSSOMO 1
rs228697	P[Pro] ⇒ A[Ala] CCT ⇒ GCT	C	PER3 CROMOSSOMO 1
rs934945	G[Gly] ⇒ E[Glu] GGA ⇒ GAA	G	PER2 CROMOSSOMO 2
rs6855837	L [Leu] ⇒ I [Ile] CTT ⇒ ATT	C	CLOCK CROMOSSOMO 4
rs9370399	A/C	A	OX2R CROMOSSOMO 6
rs3134705	A/G	A	OX2R CROMOSSOMO 6

rs9349768	A/T	A	OX2R CROMOSSOMO 6
rs7741664	C/T	T	OX2R CROMOSSOMO 6
rs2134294	C/T	T	OX2R CROMOSSOMO 6
rs2653349	I [Ile] ⇒ V [Val] ATT ⇒ GTT	G	OX2R CROMOSSOMO 6

A discriminação genotípica foi feita através do PCR-Real Time no modo de discriminação de alelos, no equipamento Strategene Mx3005, (MxPro QPCR System, 2007 Software, La Jolla, CA). O Protocolo utilizou TaqMan® *Genotyping Master Mix* (Applied Biosystems, Foster City, CA).

TaqMan

O TaqMan® é um tipo de ensaio fornecido pela ABI (Applied Biosystems Inc., Foster, CA) nas versões assay-on-demand e assay-by-design constituído por dois pares de oligonucleotídeos: forward e reverse (oligonucleotídeos na concentração de 900 µM), um marcador - 1 VIC® dye – detecta a presença do alelo 1 (marcadores com concentração final de 200 µM), um marcador 2 FAM™ dye – detecta a presença do alelo 2 (marcadores com concentração final de 200 µM).

A figura 6 mostra o resultado de PCR em tempo real.

O eixo y representa a fluorescência FAM e o eixo x representa a fluorescência Hex (Fig 6).

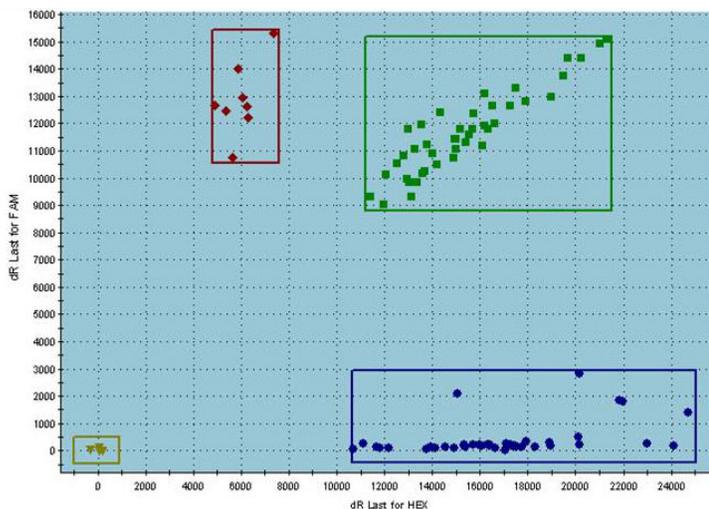


Figura 6. Exemplo de Gráfico do Real Time PCR – discriminação alélica

5.3 Análise Estatística

Freqüências de haplótipos, alelo e o genótipo foram comparados entre os grupos com o teste de χ^2 utilizando o UNPHASED software (v.3.0.13). HAPLOVIEW 4.2 software foi usado para análise do equilíbrio *Hardy-Weinberg* e *linkage disequilibrium* (LD). *Odds ratio* (OR) e o cálculo de 1000 permutações foram obtidos através do UNPHASED. Todos os testes de significância foram $P \leq 0,05$.

Com o Programa *Prisma* obtivemos resultados (ANOVA) descritivos que foram obtidos utilizando porcentagens para as características das covariáveis categóricas.

O software *Multifactor Dimensionality Reduction* (MDR) version 2.0 beta 7.2 (www.sourceforge.net/projects/mdr/) foi utilizado para aplicação da análise estatística para obter interações genéticas (epistasia) entre os SNPs, de acordo com a descrição de Moore (2004). Acurácia, sensibilidade, especificidade e precisão foram analisadas

através de um sistema de validação cruzada entre 10 modelos. Neste modelo também aplicamos a análise de permutação.

6. Resultados

6.1 Resultados Sócio-Demográficos

Nossa amostra foi constituída por 583 indivíduos, os participantes foram separados em três grupos: controles, pacientes portadores de depressão maior de início tardio (DIT), pacientes portadores de demência de Alzheimer (DA) de início tardio. Foram 222 pacientes com DIT, 249 pacientes com DA e 112 idosos do grupo controle, todos com mais de 65 anos. Realizamos análise comparativa entre os controles e cada um dos demais grupos, com relação às co-variáveis sócio-demográficas (gênero, escolaridade, idade) (Tabela 3).

A escolaridade foi avaliada por meio do levantamento do número de anos de estudo de cada participante. Desta forma, foi feito um agrupamento dos pacientes em relação a este número, sendo categorizados em inferior a quatro anos de estudo; de quatro a oito; de nove a 11 anos de estudo; acima de 11 anos de estudo, mas não obtivemos diferenças estatísticas significantes (Tabela 3).

Tabela 3: Dados sócio-demográficos.

	Controle	Pacientes DIT	Pacientes DA	P value
Total	112	222	249	
Mulher/homem (n)	76/36	173/49	170/79	0.06
Idade (média ± SD)	78.3 (± 7.3)	75.7 (± 8.1)	79 (± 7.5)	<0.01 ^a
Educação (média ± SD)	3.09 (± 2.6)	3.18 (± 2.9)	2.89 (± 3.1)	0.16

DIT: Depressão de Início Tardio; DA: Doença de Alzheimer; n: número; SD: Desvio Padrão.

^a Comparação entre DIT e DA.

6.2 Resultados Clínicos

Os dados demográficos e clínicos dos indivíduos do grupo controle são: média de idade foi de 78 ($\pm 7,8$) anos, 69% eram do sexo feminino e MMSE de 25,72 ($\pm 3,2$). Pacientes com DA apresenta 82 anos ($\pm 7,7$) anos, 64% eram do sexo feminino e MMSE de 10,3 ($\pm 5,09$). Controle e DA não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação à escolaridade (M = 3,7 SD = 3,8 anos de educação formal; M = 2,5 SD = 3,1 anos de educação formal, respectivamente). Foram estudados 222 indivíduos com DIT a média de número absoluto de anos de escolaridade foi de $3,2 \pm 2,6$ em ambos os grupos, sendo $2,43 \pm 4,0$ para o grupo controle e $2,14 \pm 2,6$ para o diagnóstico DIT ($p = 0,054$). A média foi de $9,5 \text{ GDS} \pm 3,7$ para o diagnóstico DIT e $2,3 \pm 1,4$ para o grupo controle ($p < 0,01$) (Tabela 4).

Tabela 4: Dados clínicos

	Controle	Pacientes DIT	Pacientes DA	P value
MMSE (média \pm SD)	24.3 (± 4.0)	21.36 (± 2.6)	13.16 (± 4.7)	$<0.001^b$
GDS (média \pm SD)	2.3 (± 1.4)	9.5 (± 3.7)	–	$\leq 0.05^c$
Diabetes mellitus (%)	11.8	22.6	16.3	0.1
Dislipidemia (%)	36.6	26.3	25.4	0.06
Doença coronária arterial (%)	7.2	10.7	8.3	0.61
Fibrilação Atrial (%)	9.2	4.8	5.2	0.76
Hipertensão Arterial (%)	75	77.8	67.7	0.18
Fumo (%)	30.3	33.3	27	0.3
Alcolismo (%)	7.9	5.5	7.9	0.14

Cancer (%)	2.6	8.1	6.8	0.52
^d Sono (%)	85	51	40	^e < 0.0001
Insuficiência Cardíaca (%)	3.9	10.2	8.4	0.48

MMSE: Mini-Exame do Estado Mental. GDS: Escala de Depressão Geriátrica. DIT: depressão de início tardio, DA: doença de Alzheimer, MMSE: Mini-Exame do Estado Mental. ^b entre controle e DA; ^c valor significativo ($\leq 0,05$) entre controle e DIT; ^d A pergunta foi: *Ele(a) dorme bem?*. ^e p (0,0001) entre todos grupos (fig. 7).

Os resultados da avaliação sobre a qualidade do sono (insônia, hipersônia ou sem alteração de sono) feita através do relato do próprio paciente ou cuidador.

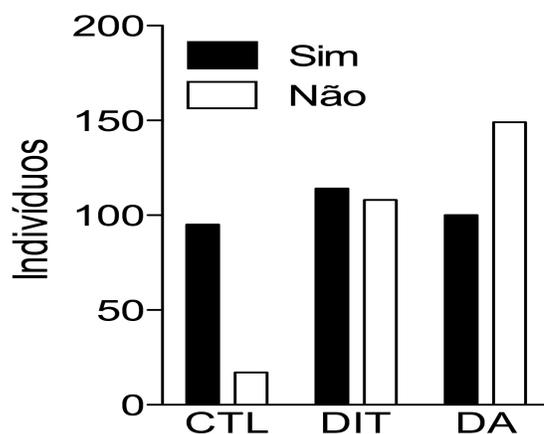


Figura 7: A pergunta foi: *Ele(a) dorme bem?*. ^e p (0,0001) entre todos grupos. Controle(ctl) vs DIT < 0.0001; ctl vs DA < 0.0001; DIT vs DA 0.0149

6.3 Resultados Genotípicos

Foram genotipados 586 indivíduos, com 19 SNPs sendo 7 de *AKT1*, 2 de *AKTIP*, 2 de *PER3*, 1 de *PER2*, 1 de *CLOCK* e 6 de *OX2R* (Tabela 2). Todos os SNPs apresentaram um alelo de menor frequência maior que 10%, que indica uma boa penetrância dos alelos na população. Todos os marcadores, com exceção do marcador rs10149779, estão em equilíbrio de *Hardy-Weinberg*, o desequilíbrio constatado com o marcador rs10149779 pode ser explicado devido à estratificação das amostras ou por características étnicas. O erro de genotipagem foi investigado com repetição de 10% de todas as amostras para todos os marcadores. Valores de *p* considerados significativos quando $\leq 0,05$.

Tabela 5: Distribuição genotípica e alélica dos tagSNPs do gene *AKT1* nos DAs e nos controles – Unphased 3.0.13 (Dudbridge F, 2008).

Alzheimer	Case (%)	Control (%)	Odds-R (OR)	95%Lo 95%Hi	x2	df	p-value
<i>AKT1</i>							
rs2494731							
G/G	64 (34)	28 (35)	1 (ref)		0.398	2	0.45
C/G	92 (48)	40 (50)	1.0	0.51 - 1.88			
C/C	32 (17)	11 (13)	1.2	0.56 - 2.95			
G*	219 (58)	96 (60)	1 (ref)		0.30	1	3.81
C	156 (41)	61 (38)	1.1	0.75 - 1.63			
rs3803304							
G/G	12(6)	5(6)	1 (ref)		0.075	2	0.35
C/G	75(39)	32(40)	0.8	0.25 - 2.89			
C/C	101(53)	42(53)	0.9	0.27 - 2.994			

G*	97(25)	41(25)	1 (ref)		0.0001	1	0.54
C	278(73)	116(73)	1.0	0.64 - 1.54			
rs3730358							
C/C	120(63)	64(81)	1 (ref)		3.81	2	0.14
T/C	61(32)	15(18)	2.0	1.06 - 3.90 4.9e+008			
T/T	7(3)	0(0)	7,25E+11	1.0e+009			
C*	299(79)	142(89)	1 (ref)		3.08	1	0.07
T	76(20)	15(9)	2.2	1.26 - 4.13			
rs2494738							
G/G	128(68)	47(59)	1 (ref)		2.316	2	0.14
A/G	52(27)	29(36)	0.6	0.35 - 1.13			
A/A	8(4)	3(3)	0.9	0.24 - 3.75			
G*	307(81)	122(77)	1 (ref)		1.29	1	0.93
A	68(18)	35(22)	0.7	0.47 - 1.21			
rs10149779							
G/G	72(38)	41(51)	1 (ref)		3.92	2	0.98
G/A	88(46)	29(36)	1.7	0.95 - 3.02			
A/A	28(14)	9(11)	1.7	0.76 - 4.16			
G*	129(34)	109(68)	1 (ref)		3.42	1	0.98
A	146(38)	48(30)	1.4	0.97 - 2.17			
rs2494746							
G/G	125(66)	43(54)	1 (ref)		2.87	2	0.45
C/G	45(23)	22(27)	0.6	0.32 - 1.49			
C/C	18(9)	14(17)	0.4	0.17 - 1.17			
G*	293(77)	107(67)	1 (ref)		3.81	1	0.30
C	82(21)	50(31)	0.5	0.35 - 0.99			
rs1130214							
C/C	69(36)	38(48)	1 (ref)		4.93	2	0.41
A/C	85(45)	36(45)	1.2	0.6629 2.49			
A/A	34(18)	5(6)	3.3	1.04 - 10.51			
C*	221(58)	110(69)	1 (ref)		4.19	1	0.87
A	154(40)	47(29)	1.6	1.01 - 2.60			

Tabela 6: Distribuição genotípica e alélica dos tagSNPs do gene *AKTIP* nos DAs e nos controles – Unphased 3.0.13 (Dudbridge F, 2008).

AKTIP

rs9302648

T/T	67(35)	38(48)	1 (ref)		2.22	2	0.32
G/T	95(50)	24(30)	2.3	0.9867 5.48			

G/G	26(13)	17(21)	0.8	0.3186	2.476		
T*	228(60)	100(63)	1 (ref)			0.17	1
G	147(39)	57(36)	1.1	0.65	1.94		
rs7189819							
T/T	26(13)	13(16)	1 (ref)			0.25	2
C/T	83(44)	31(39)	1.2	0.57	2.86		0.87
C/C	79(42)	35(44)	1.0	0.48	2.41		
T	134(35)	56(35)	1 (ref)			0.001	1
C*	241(64)	101(63)	0.9	0.66	1.47		

*Alelo Ancestral

Tabela 7: Distribuição genotípica e alélica dos SNPs do gene *PER3*, *PER2* *CLOCK* nos DAs e nos controles – Unphased 3.0.13 (Dudbridge F, 2008).

Alzheimer	Case (%)	Control (%)	Odds-R	95%Lo 95%Hi	x2	df	p-value
<i>PER3</i>							
rs10462020 GTC ⇒ GGC							
V[Val] ⇒ G[Gly]							
T/T	231.4	72.61	1 (ref)		1.95	2	0.37
T/G	65.25	16.39	1.2	0.6545 - 2.382			
G/G	3.318	0	1.2	6.803e+007 - 2.124e+008			
T*	528.1	161.6	1 (ref)		0.95	1	0.32
G	71.92	16.39	1.3	0.7323 - 2.461			
rs228697 CCT ⇒							
GCT							
P[Pro] ⇒ A[Ala]							
G/G	2.151	0	1 (ref)		1.83	2	0.39
C/G	36.56	14.46	1,73E-05	0 - 3.826e- 008			
C/C	261.3	74.54	2,39E-05	1.115e-008 - 5.143e- 008			
G	40.86	14.46	1 (ref)		0.31	1	0.57
C*	559.1	163.5	1.2	0.6281	2.332		
<i>PER2</i>							
rs934945 GGA ⇒ GAA							
G [Gly] ⇒ E [Glu]							
A/A	9.31	2.225	1 (ref)		0.11	2	0.94
A/G	82.76	25.59	0.7	0.1559	3.832		
G/G	207.9	61.19	0.8	0.1705	3.868		
A	101.4	30.04	1 (ref)		4.15e- 005	1	0.99
G*	498.6	148	0.9	0.6258	1.593		

Alzheimer	Case (%)	Control (%)	Odds-R	95%Lo 95%Hi	x ²	df	p-value
<i>CLOCK</i>							
rs6855837 CTT ⇒							
ATT							
L [Leu] ⇒ I [Ile]							
C/C	2.135	1.105	1 (ref)		1.53	2	0.46
C/A	35.22	9.942	1.8	0.1488 22.58			
A/A	184.6	83.95	1.1	0.1017 12.74			
C*	39.49	12.15	1 (ref)		1.05	1	0.30
A	404.5	177.8	0.6	0.3483 1.406			

Tabela 8: Distribuição genotípica e alélica dos SNPs do gene *OX2R* nos DAs e nos controles – Unphased 3.0.13 (Dudbridge F, 2008).

Alzheimer	Case (%)	Control (%)	Odds-R	95%Lo 95%Hi	x ²	df	p-value
<i>OX2R</i>							
rs9370399							
C/C	62.45	27.49	1 (ref)		4.31	2	0.11
A/C	165	40.63	1.7	0.9647 3.31			
A/A	129.6	29.88	1.9	0.9925 3.673			
C	289.8	95.61	1 (ref)		3.51	1	0.06
A*	424.2	100.4	1.3	0.9856 1.971			
rs3134705							
G/G	83.65	23.87	1 (ref)		2.52	2	0.28
A/G	67.16	11.31	1.6	0.7127 4.031			
A/A	206.2	62.82	0.9	0.5161 1.7			
G	234.5	59.05	1 (ref)		0.42	1	0.51
A*	479.5	136.9	0.8	0.602 1.292			
rs9349768							
T/T	12.17	2.178	1 (ref)		0.18	2	0.91
A/T	123.7	34.84	0.6	0.07129 5.663			
A/A	221.1	60.98	0.6	0.07502 5.611			
T	148.1	39.2	1 (ref)		0.02	1	0.87
A*	565.9	156.8	0.9	0.5365 1.702			
rs7741664							
T/T	199.3	47.86	1 (ref)		1.49	2	0.47
C/T	128.4	42.16	0.7	0.4431 1.206			
C/C	29.28	7.977	0.8	0.3584 2.167			

T	527.1	137.9	1 (ref)		0.81	1	0.36
C	186.9	58.12	0.8	0.5801 1.221			
rs2134294							
T/T	89.65	32.67	1 (ref)		3.88	2	0.14
C/T	172.9	50.81	1.2	0.6316 2.433			
C/C	94.45	14.52	2.3	0.9546 5.887			
T*	352.2	116.1	1 (ref)		3.45	1	0.06
C	361.8	79.85	1.4	0.9755 2.289			
rs2653349 ATT ⇒ GTT [Ile] ⇒ V [Val]							
G/G	267.7	73.22	1 (ref)		0.003	1	0.95
A/G	89.25	24.78	0.9	0.5707 1.7			
A/A	0	0	0	0			
G*	624.7	171.2	1 (ref)		0.002	1	0.95
A	89.25	24.78	0.9	0.5958 1.635			

Não foram obtidos resultados significativos entre dos genes *AKT1*, *AKTIP*, *PER3*, *PER2*, *CLOCK* e *OX2R* entre pacientes com DA e o grupo controle.

Uma análise feita com pacientes com Depressão de Início Tardio, que se caracteriza pela ocorrência da depressão somente após os 65 anos de idade e ser considerada um pródromo para a doença de Alzheimer (Alexopoulos, 2003), encontramos algumas associações. Na análise alélica, o SNP rs3730358 de *AKT1* mostrou associação do alelo T ($p=0.003$) com depressão de início tardio (DIT) (Tabela 9). Para os outros marcadores de *AKT1* nenhuma associação alélica foi encontrada. Para o mesmo polimorfismo houve uma associação com depressão de início tardio para o indivíduo homocigoto T/T ($p=0.006$) (Tabela 9). Com os demais marcadores não foram observadas associações na análise genotípica.

Tabela 9: Distribuição genotípica e alélica dos tagSNPs do gene *AKT1* nos DITs e nos controles – Unphased 3.0.13 (Dudbridge F, 2008).

DIT	Case (%)	Control (%)	Odds-R	95%Lo 95%Hi	x2	df	p-value
<i>AKT1</i>							
rs2494731							
G/G	64 (34)	28 (35)	1 (ref)		0.398	2	0.81
C/G	92 (48)	40 (50)	1.0	0.51 - 1.88			
C/C	32 (17)	11 (13)	1.2	0.56 - 2.95			
G*	219 (58)	96 (60)	1 (ref)		0.30	1	0.58
C	156 (41)	61 (38)	1.1	0.75 - 1.63			
rs3803304							
G/G	12(6)	5(6)	1 (ref)		0.075	2	0.96
C/G	75(39)	32(40)	0.8	0.25 - 2.89			
C/C	101(53)	42(53)	0.9	0.27 - 2.994			
G*	97(25)	41(25)	1 (ref)		0.0001	1	0.99
C	278(73)	116(73)	1.0	0.64 - 1.54			
rs3730358							
C/C	120(63)	64(81)	1 (ref)		10.03	2	0.006
T/C	61(32)	15(18)	2.0	1.06 - 3.90			
T/T	7(3)	0(0)	7,25E+11	$\frac{4.9e+008}{1.0e+009}$			
C*	299(79)	142(89)	1 (ref)		8.37	1	0.003
T	76(20)	15(9)	2.2	1.26 - 4.13			
rs2494738							
G/G	128(68)	47(59)	1 (ref)		2.316	2	0.31
A/G	52(27)	29(36)	0.6	0.35 - 1.13			
A/A	8(4)	3(3)	0.9	0.24 - 3.75			

G*	307(81)	122(77)	1 (ref)		1.29	1	0.25
A	68(18)	35(22)	0.7	0.47 - 1.21			
rs10149779							
G/G	72(38)	41(51)	1 (ref)		3.92	2	0.14
G/A	88(46)	29(36)	1.7	0.95 - 3.02			
A/A	28(14)	9(11)	1.7	0.76 - 4.16			
G*	129(34)	109(68)	1 (ref)		3.42	1	0.06
A	146(38)	48(30)	1.4	0.97 - 2.17			
rs2494746							
G/G	125(66)	43(54)	1 (ref)		2.87	2	0.23
C/G	45(23)	22(27)	0.6	0.32 - 1.49			
C/C	18(9)	14(17)	0.4	0.17 - 1.17			
G*	293(77)	107(67)	1 (ref)		3.81	1	0.06
C	82(21)	50(31)	0.5	0.35 - 0.99			
rs1130214							
C/C	69(36)	38(48)	1 (ref)		4.93	2	0.08
A/C	85(45)	36(45)	1.2	0.6629 2.49			
A/A	34(18)	5(6)	3.3	1.04 - 10.51			
C*	221(58)	110(69)	1 (ref)		4.19	1	0.06
A	154(40)	47(29)	1.6	1.01 - 2.60			

* Alelo Ancestral; *itálico*: resultado estatisticamente significativo.

A análise haplotípica feita utilizando-se o programa Haploview 4.1 não mostrou bloco haplotípico entre as amostras de *AKT1* e os pacientes com DIT que apresentaram um valor significativo para associação (Fig. 8).

Esta figura indica a associação entre dois marcadores, cada losango representa a recombinação entre apenas dois SNPs. As cores aumentam de intensidade conforme a diminuição de recombinação entre os marcadores, o vermelho vivo indica assim, uma baixa recombinação alélica entre os dois marcadores.

Figura 8: Desequilíbrio de ligação (*Linkage Disequilibrium - LD*).

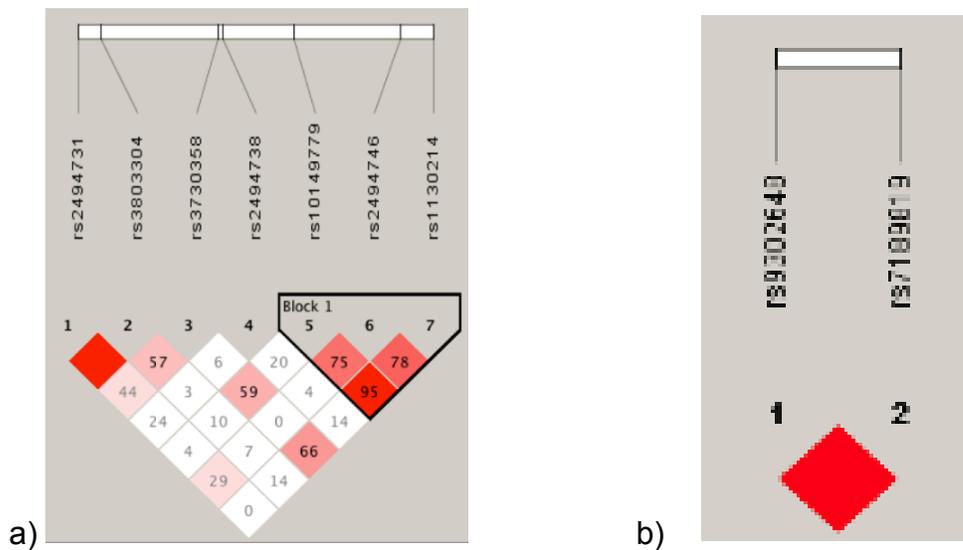


Figura 8. Análise de desequilíbrio de ligação (LD) foi realizado para cada par de tagSNPs HAPLOVIEW (v.4.1). No LD *plot*, cada losango (com valores de D' escrito dentro), representa uma relação entre os dois SNPs. Os losangos vermelhos indicam LD estatisticamente significativo entre o par de SNPs. Essa medida é feita pelo valor D' . Cores escuras de vermelho indicam maiores valores de D' , até um máximo de 1, e os losangos brancos indicam pares D' valores de <1 sem evidência estatisticamente significativa de LD. (a) LD *AKT1*. O bloco gerado sob intervalo de confiança algoritmo de HAPLOVIEW é marcado (linha preta). Este bloco é constituído por dois tagSNPs (*rs10149779* e *rs1130214*). O valor de D' e r^2 de cada par de SNPs demonstrou que os dois SNPs apresentaram $D' \geq 0,95$ e $r^2 \geq 0,9$. (b) LD *AKTIP* $D' = 1$ e $r^2 = 0,35$.

Para o SNP com valor significativo (rs3730358) a análise obtida pelo Haploview 4.1 apresentou baixo desequilíbrio de ligação. Portanto não apresenta bloco haplotípico para esse SNP (D' : 0,57; r^2 : 0,143) (Fig.8). Este programa apresenta como cofatores estatísticos o D' e o r^2 , que representam a recombinação em função do número amostral e da distância entre os marcadores com um *cutoff* de $D' \geq 0,95$ e $r^2 \geq 0,8$.

Tabela 10: Distribuição genotípica e alélica dos tagSNPs/SNPs do gene *AKTIP*, *PER3*, *PER2* e *CLOCK* nos DITs e nos controles – Unphased 3.0.13 (Dudbridge F, 2008).

DIT	Case (%)	Control (%)	Odds-R	95%Lo 95%Hi	χ^2	df	p-value
<i>AKTIP</i>							
rs9302648							
T/T	67(35)	38(48)	1 (ref)		4.95	2	0.08
G/T	95(50)	24(30)	2.3	0.9867 5.48			
G/G	26(13)	17(21)	0.8	0.3186 2.476			
T*	228(60)	100(63)	1 (ref)		0.17	1	0.67
G	147(39)	57(36)	1.1	0.65 - 1.94			
rs7189819							
T/T	26(13)	13(16)	1 (ref)		0.48	2	0.78
C/T	83(44)	31(39)	1.2	0.57 - 2.86			
C/C	79(42)	35(44)	1.0	0.48 - 2.41			
T	134(35)	56(35)	1 (ref)		0.001	1	0.96
C*	241(64)	101(63)	0.9	0.66 - 1.47			
<i>PER3</i>							
rs10462020 GTC \Rightarrow GGC							
V[Val] \Rightarrow G[Gly]							
T/T	150.6	72.39	1 (ref)		4.93	2	0.08
T/G	53.05	16.61	1.5	0.7896 2.981			
G/G	5.305	0	4,10E+11	2.623e+008 6.399e+008			
T*	354.3	161.4	1 (ref)		3.43	1	0.06

G	63.65	16.61	1.7	0.9435	3.228			
rs228697 CCT ⇒ GCT								
P[Pro] ⇒ A[Ala]								
G/G	2.212	0	1 (ref)	0	2.87e-008	3.38	2	0.18
C/G	21.01	14.65	1,26E-05					
C/C	185.8	74.35	2,19E-05	1.012e-008	4.726e-008			
G	25.43	14.65	1 (ref)			0.78	1	0.37
C*	392.6	163.4	1.3	0.6824	2.806			
<i>PER2</i>								
rs934945 GGA ⇒ GAA								
G [Gly] ⇒ E [Glu]								
A/A	5.387	2.253	1 (ref)			0.03	2	0.98
A/G	56.02	24.78	0.9	0.1703	5.248			
G/G	147.6	61.96	0.9	0.1877	5.29			
A	66.79	29.29	1 (ref)			0.01	1	0.89
G*	351.2	148.7	1.0	0.6278	1.709			
<i>CLOCK</i>								
rs6855837 CTT ⇒ ATT								
L [Leu] ⇒ I [Ile]								
C/C	2.125	1.105	1 (ref)			0.26	2	0.87
C/A	32.94	9.942	1.7	0.1396	21.25			
A/A	236.9	83.95	1.4	0.1312	16.41			
C*	37.19	12.15	1 (ref)			0.04	1	0.84
A	506.8	177.8	0.9	0.4621	1.876			

Não foram obtidos resultados significativos dos genes *AKTIP*, *PER3*, *PER2* e *CLOCK* entre pacientes com DIT e o grupo controle.

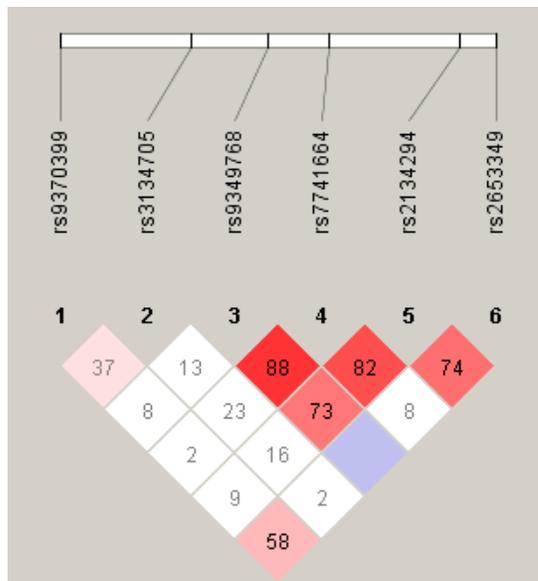
Tabela 11: Distribuição genotípica e alélica dos tagSNPs/SNP do gene OX2R nos DITs e nos controles – Unphased 3.0.13 (Dudbridge F, 2008).

DIT	Case (%)	Control (%)	Odds-R	95%Lo 95%Hi	χ^2	df	Valor p (permut.)
OX2R							
rs9370399							
C/C	57.73	37.59	1 (ref)		1.22	2	0.54
A/C	152	72.76	1.3	0.78 - 2.34			
A/A	81.29	43.65	1.2	0.66 - 2.21			
C	267.4	147.9	1 (ref)		0.29	1	0.58
A*	314.6	160.1	1.0	0.80 - 1.47			
rs3134705							
G/G	71.24	35.44	1 (ref)		0.16	2	0.92
A/G	57.96	33	0.8	0.45 - 1.67			
A/A	161.8	85.56	0.9	0.55 - 1.59			
G	200.4	103.9	1 (ref)		0.03	1	0.84
A*	381.6	204.1	0.9	0.70 - 1.33			
rs9349768							
T/T	16.17	6.696	1 (ref)		0.38	2	0.82
A/T	87.76	53.57	0.6	0.12 - 3.62			
A/A	187.1	93.74	0.8	0.16 - 4.21			
T	120.1	66.96	1 (ref)		0.04	1	0.82
A*	461.9	241	1.0	0.59 - 1.91			
rs7741664							
T/T	179.3	77	1 (ref)		4.78	2	0.09
C/T	95.45	65.51	0.6	0.40 - 0.97			
C/C	16.3	11.49	0.6	0.25 - 1.44			
T*	454	219.5			4.22	1	0.03
C	128	88.49	0.6	0.49 - 0.98			
rs2134294							
T/T	80.49	46.95	1 (ref)		8.49	2	0.06
C/T	113	80.76	0.8	0.44 - 1.49			
C/C	97.52	26.29	2.1	1.02 - 4.58			
T*	274	174.7	1 (ref)		4.2	1	0.03
C	308	133.3	1.4	1.01 - 2.13			
rs2653349 ATT ⇒ GTT / [Ile] ⇒ V [Val]							
G/G	225.9	119.1	1 (ref)		0.004	1	0.94
A/G	65.06	34.89	0.9	0.58 - 1.63			
A/A	0	0	0	0			

G*	516.9	273.1	1 (ref)			0.003	1	0.95
A	65.06	34.89	0.9	0.61	1.58			

Na análise alélica, o tagSNPs rs7741664 e rs2134294 de *OX2R* mostraram associação dos alelos C ($p=0,03$) para ambos polimorfismos entre DIT e o grupo controle (Tabela 11). O rs2134294 mostrou também, associação genotípica C/C ($p=0,01$) para risco de desenvolver DIT em comparação com o grupo controle com um *odds ratio* de 2,1. Após teste estatístico para verificação da confiabilidade (*post hoc*) de 1000 permutações os valores obtidos foi de 0,06 (Genotipo). Para os outros marcadores de *OX2R* nenhuma associação foi encontrada.

Figura 9: LD dos gene *OX2R* e pacientes com DIT.



Para os tagSNPs com valor significativo (rs7741664 e rs2134294) a análise obtida pelo Haploview 4.1 apresentou um desequilíbrio de ligação ($D': 0,82$; $r^2: 0,6$) considerando nosso ponto de corte de $D': 0,95$; $r^2: 0,8$.

Na análise de interação entre os genes através do *Multifactor Dimensionality Reduction* (Moore e cols., 2006; Ritchie e cols., 2001) o dendrograma, apresenta uma relação de sinergia que denota situação na qual a interação, baseada em entropia, entre os dois SNPs prove mais informação do que a correlação entre o par. E, redundância refere-se à situação na qual a interação, baseada em entropia, entre os dois SNP promove menos informação do que a correlação entre os pares.

Quando a combinação dos polimorfismos provocar uma perda de informação, ou seja, diminui o poder de predição da doença, sugere-se uma correlação ou redundância (coloração verde e azul no dendrograma) (Fig. 10)

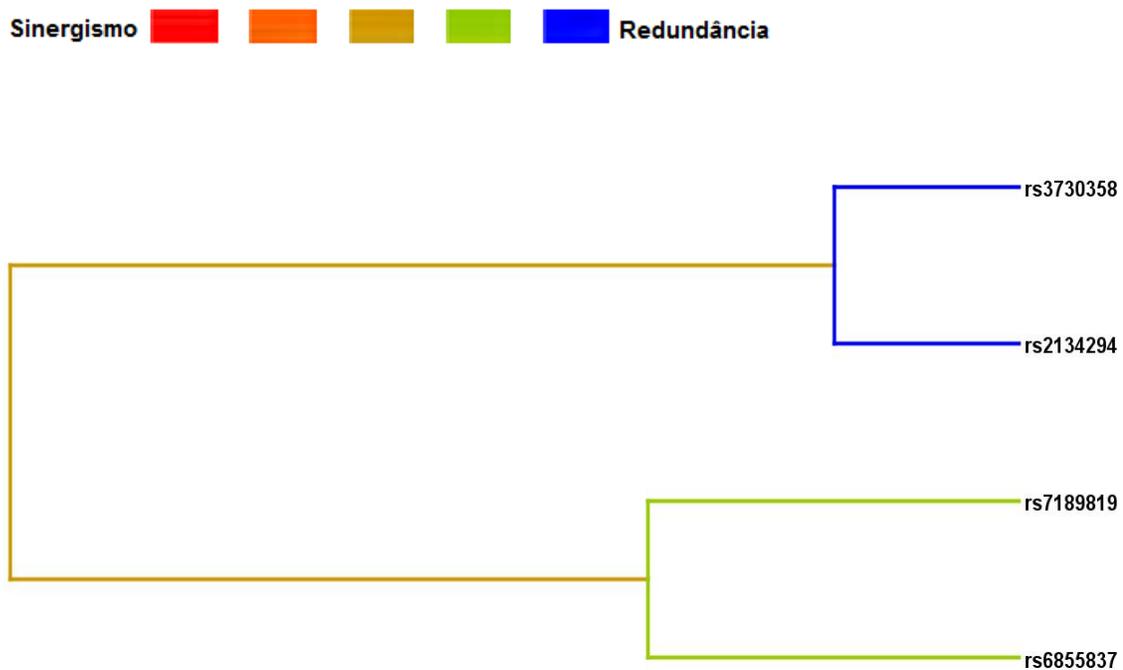


Figura 10: Dendrograma da interação gene-gene dos pacientes DIT e controles. As cores da legenda compreendem um espectro representando a transição de sinergismo para redundância. Observam-se as seguintes interações: redundante entre rs3730358 (*AKT1*) e rs2134294 (*OX2R*); também redundância entre rs7189819 (*AKTIP*) e rs6855837 (*CLOCK*) e não apresentou significância sinérgica.

Admite-se que ocorreu sinergismo (representado no dendograma pelas cores vermelha e laranja), por exemplo em casos de epistasia (Fig. 11).

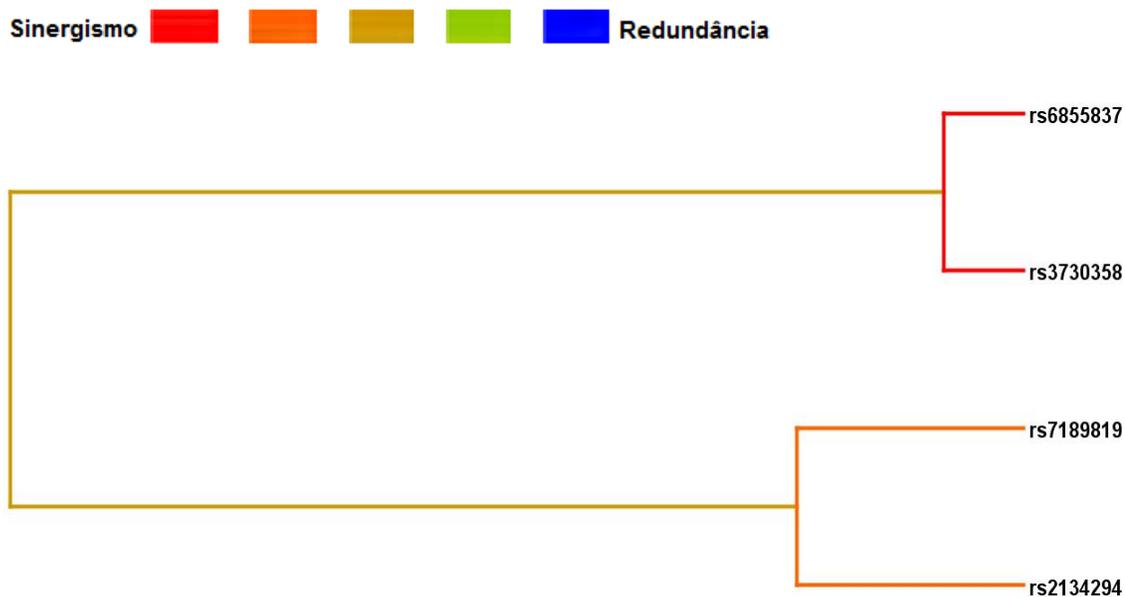


Figura 11: Dendrograma da interação gene-gene dos pacientes DA e controles. As cores da legenda compreendem um espectro representando a transição de sinergismo para redundância. Observam-se as seguintes interações: sinergismo entre *rs6855837* (*CLOCK*) e *rs3730358* (*AKT1*); também sinergismo entre *rs7189819* (*AKTIP*) e *rs2134294* (*OX2R*) e não apresentou significância de redundância.

O programa MDR analisa também o valor de p após a permutação, para certificar que os testes são válidos.

Tabela 12: Resultados das interações genéticas pelo MDR, após análise de permutação.

Interação genética	Acurácia (%)	Consistência	Valor de p (após permutação)
DIT <i>rs3730358, rs7189819,</i> <i>rs2134294</i>	0,69	10/10	0,001
DA <i>rs6855837, rs3730358</i>	0,64	10/10	0,03

DA: doença de Alzheimer; DIT: depressão de início tardio. Valores de p representam significância estatística que comprova teste validado.

7. Discussão

Com o crescimento do número de idosos, torna-se cada vez mais urgente o conhecimento da doença de forma que permita a criação de ações que garantam a saúde física, psicológica e social dos idosos. Mesmo que a Doença de Alzheimer tenha sido descrita há mais de um século, ainda precisamos de diagnósticos confiáveis da doença. Dessa forma, é necessário conhecer as bases genéticas e os processos fisiopatológicos que culminam no desenvolvimento do mal de Alzheimer (Jellinger, 2009).

Uma das formas de entender quais são os processos que antecedem o início da DA é identificar os fatores de risco associados. Dentre esses fatores, a depressão de início tardio merece um destaque especial pois está constantemente ligada a um déficit cognitivo e pode apresentar-se como uma manifestação inicial de demência (Alexopoulos, 2005; Alexopoulos e Kelly, 2009; Korczyn e Halperin, 2009).

Uma meta-análise dos dados sobre a história da depressão como um fator de risco para demência foi realizada por Jorm em 2001. Nesse estudo, as análises apontam para uma associação entre sintomas depressivos e DA tanto em estudos de caso-controle (risco relativo de 2,01) como estudos tendência (risco relativo de 1,87). As duas hipóteses mais prováveis para essa associação são de que a depressão pode ser um pródromo de demência e a depressão antecipa a manifestação clínica da demência. Schweitzer e cols. (2002) argumentam que os estudos de DIT e demência oferecem evidências convincentes de que DIT é frequentemente uma doença prodrômica de demência (Schweitzer e cols., 2002).

Antes negligenciados, os transtornos de sono associados à depressão têm sido alvo de estudos recentes. Em torno de 80% dos pacientes com diagnóstico de depressão

relatam mudanças nos padrões circadianos (Guerra, 2004). Em estudos epidemiológicos longitudinais, insônia parece ser um importante preditor do aumento do risco de depressão no seguimento de um a três anos (Riemann D., 2003). Além disso, a insônia persistente *per se* está associada à recorrência de episódio depressivo (Ohayon M.M., 2002). A ocorrência de uma redução do tempo total e da eficiência do sono (Montplaisir J., 1995), bem como, o adiantamento de fases com tendência a deitar-se mais cedo e o despertar precocemente (Richardson G.S., 1982;) estariam relacionados com a redução da amplitude de diversos ciclos circadianos, tais como o de secreção hormonal, temperatura corporal, redução do sono de ondas lentas (estágios 3, 4) e do sono REM (*rapid eye movement*) (Montplaisir J., 1995; Zhang L., 2013; Shong, S.Y., 2012).

Além disso, os pacientes com doença de Alzheimer apresentam episódios de agitação noturna, alucinações hipnagógicas e deambulação sem finalidade. Algumas dessas disfunções podem ser atribuídas à crescente desorganização nos ciclos circadianos, possivelmente associada à atrofia do Núcleo Supraquiasmático que tende a aumentar de acordo com a gravidade da doença (Gerritsen, D.L., 2013). Quando os pacientes recebem drogas que potencializam a condução colinérgica, ocorre um aumento da percentagem de indivíduos com melhora no sono paralelamente à melhora cognitiva (Martorana A., 2010).

Neste estudo de associação, usamos a estratégia de analisar polimorfismos de genes relacionados ao ciclo circadiano que possivelmente estão associados a doença a partir de hipóteses neurobiológicas da Depressão de Início Tardio e da Doença de Alzheimer. O modelo de estudo de genes candidatos, assim como o de polimorfismos

candidatos, é um dos tipos de estudo de associação, que pode ser feito baseado em estudos de caso-controle (Teare e Barrett, 2005). Nesses estudos, temos como problemas a estratificação da população e o pareamento adequado (Evangelou, 2006).

Com relação aos dados clínicos, obtivemos significância estatística entre a média da idade dos pacientes DA em relação aos DIT, o que não ocorreu entre a média dos controles e DA ou controles e pacientes com DIT (Tab. 4). Ressaltamos que consideramos como idade do indivíduo aquela relacionada à data do diagnóstico de DA ou DIT, e não a idade cronológica. No grupo controle, foi considerada a idade baseada na data de inclusão dos participantes no estudo.

Apesar de ainda não ser unânime a direta relação entre maior escolaridade e menor risco de demência, Caamano-Isorba e cols. (2006) demonstraram em meta-análise que o baixo nível de escolaridade pode ser um fator de risco para demência, especialmente na DA. Entretanto nossos resultados não confirmam a associação entre baixa escolaridade e DA. Na estratificação por gênero, também não obtivemos associação das médias entre os controles e pacientes com DIT ou DA. O que pode ser resultado de pouca variabilidade da amostra.

Com relação aos resultados da genotipagem, obtivemos algumas associações interessantes com DIT. Não observamos nesse estudo associação de nenhum gene com DA apesar de alguns valores limítrofes que devem ser observados com cuidado.

Observamos que os genes *AKT1* e *OX2R* estão associados a DIT. A presença de dois marcadores com valor de p significativo nos fez analisar a interação com o desequilíbrio de ligação que resultou em uma representação de desequilíbrio de

ligação não significativa, segundo os nossos parâmetros, o que significa uma alta taxa de recombinação entre os marcadores (Fig. 8 e 9).

As análises de epistasia através do MDR mostraram interação redundante entre rs3730358 (*AKT1*) e rs2134294 (*OX2R*); também redundância entre rs7189819 (*AKTIP*) e rs6855837 (*CLOCK*) e não apresentou significância sinérgica na depressão de início tardio. Importante ressaltar que o uso do MDR reduz índice de falsos positivos, em função da estratégia de validação cruzada utilizada pelo método (Moore e cols., 2006; Ritchie e cols, 2001). Os resultados de associação significativa entre os genes *AKT1*, *OX2R* e *DIT* corroboram com dados bem descritos e já consolidados na literatura em relação a sinalização da proteína G acoplada ao receptor transmembrana. O receptor de orexina acoplado a proteína G, uma vez ativado, desencadeia uma cascata de sinalização intracelular fosforilando várias proteínas como, por exemplo, ERK, GSK3 β , CREB e Akt1 (Yang Guo, 2012). Yang e cols., observaram que a fosforilação de CREB induzida pela ativação do Ox2r pode ser um importante alvo farmacológico para o tratamento da depressão. A proteína Akt1 controla o crescimento celular, ciclo celular e proliferação celular, atuando direta ou indiretamente sobre algumas cascatas e inibidores. É também um importante mediador da sobrevivência celular inibindo diferentes sinais pró-apoptóticos. Akt1 fosforilada fica ativa que por sua vez fosforila GSK-3 β e CDK5, que são as quinases responsáveis pela fosforilação da tau (Bain, 2007).

A depressão pode configurar um fator de risco para a demência, podendo atuar na fisiopatologia desta através da influência do ciclo circadiano na secreção de diversos hormônios, determinando alteração da liberação dos mesmos (Cardinali e cols., 2011).

Além disso, na DIT, ocorrem alterações sistêmicas importantes que incluem alterações vegetativas, hipercortisolemia, aumento da gordura abdominal, redução da massa óssea e aumento do risco de Diabetes tipo 2 e Hipertensão Arterial Sistêmica. Nesses pacientes, as anormalidades no funcionamento dos sistemas neurais, disfunções das vias fronto-estriatais, amígdalas e hipocampo são acompanhadas por incapacidade cognitiva (Alexopoulos, 2005; Alexopoulos e cols., 2005; Blazer & Hybels, 2005).

Embora esse estudo não mostre uma associação estatística entre os genótipos de *AKT1/AKTIP* e DA, o sistema *PI3K-Akt-GSK3* tem um papel importante para a fisiopatologia da doença de Alzheimer, o que é confirmado pelos dados de sinergismo entre *CLOCK*, *AKT1/AKTIP* e *OX2R*. Estudos recentes feitos utilizando um banco de tecidos cerebrais observaram que Akt e fosfo-Akt, possuem maior ativação global em cérebro de pacientes com DA em comparação com os controles (Rebecca e cols., 2005). As alterações nos níveis de fosfo-Akt e Akt aparecem nas fases iniciais das patologias neurofibrilares, e uma correlação estatisticamente positiva entre os níveis de fosfo-Akt que irão fosforilar *GSK3β* pode causar a hiperfosforilação de tau (Lovestone e Reynolds, 1997). Além do mais estratégias para inibir *GSK3β* estão sendo desenvolvidas como potenciais tratamentos na DA (Bhat e cols., 2004).

Estudos de genômica funcional e amostras maiores e definidas demograficamente podem trazer novas e interessantes perspectivas para o entendimento dos transtornos do humor na senescência. Há vários outros genes chamados *circadianos* que podem ser investigados (*TIM*, *BMAL1*, *CRY*, *CKI*, *WC1*, *AVP*, *DBP*, *CREM*). Apesar de os efeitos individuais da variação genética serem relativamente pequenos, as interações entre genes e o meio ambiente podem contribuir significativamente para desvendar a

vulnerabilidade à doença. Além do mais, a não associação dos genótipos entre os pacientes com DA e os controles podem associar-se especificamente a uma das comorbidades relacionadas a DA como, por exemplo, presença de (*Behavioural and Psychological Symptoms of Dementia*), BPSD, como: apatia, irritabilidade, ansiedade e outros. Em relação aos nossos dados clínicos e sócio-demográficos a população estudada apresenta um baixo nível educacional e não obtivemos diferenças significativas entre os grupos o que pode ser decorrente da homogeneidade da amostra. Apesar de algumas pesquisas apresentarem que o risco de depressão seria maior para as mulheres em relação os homens (Weissman e cols., 1996) não obtivemos significância estatística separando por sexo os grupos. Já para o fator clínico sono, obtivemos um expressivo valor estatístico entre todos os grupos. Apesar de estudos mostrarem que a idade *per se*, poderia ser um fator de risco para a qualidade do sono (Furuta, 2009), nosso estudo mostrou que a qualidade de sono era boa em 85% dos indivíduos do grupo controle, isso poderia ser relacionado ao fato de alguns desses pertencerem ao Programa de Atividade Física supervisionada para idosos saudáveis na escola de Educação Física da Universidade Federal de Minas Gerais, o que mostra uma importante relação entre o ciclo circadiano, que inclui o sono, e DIT e DA.

8. Limitações

Algumas limitações devem ser levadas em consideração como: a diferença entre número de casos e o número de controles devido à grande dificuldade de obtenção de controles idosos que preenchessem os requisitos de não terem história na família de alcoolismo nem apresentarem nenhuma doença mental em parentes de primeiro grau. Os dados de sono foram obtidos após alguns anos da data da coleta do material biológico.

Nossos achados necessitam de replicação em outras populações, pois este é o primeiro estudo a avaliar 19 polimorfismos intrônicos e exônicos nos genes *AKT1*, *AKTIP*, *PER3*, *PER2*, *CLOCK* e *OX2R* e a susceptibilidade a DIT e DA. Mais pesquisas são necessárias, especialmente em relação aos genes circadianos e seu exato papel dentro da cascata patológica da DA que envolve, fatores patogênicos como amilóide, emaranhados neurofibrilares, estresse oxidativo, modulação imunológica, a excitotoxicidade, e assim por diante. Estes genes podem ser cruciais para a integração de fatores exógenos e nocivos (como o estresse) e fatores genéticos. Além de não ter estudos das alterações do ciclo sono-vigília.

9. Conclusão

Nossos dados, analisados juntamente, apresentam uma relação significativa entre os genes do ciclo circadiano e a Depressão de Início Tardio mas não apresenta associação entre os mesmos genes e a Doença de Alzheimer. O que, neste estudo não corrobora com a hipótese de que a DIT seria um pródromo para a Doença de Alzheimer, mas talvez um fator de risco. Algumas justificativas para isso poderiam ser que a DIT faça parte do processo de envelhecimento de alguns indivíduos que talvez possam desenvolver ou não DA. A alteração do ciclo circadiano, com por exemplo, uma má higiene do sono poderia desenvolver Depressão em idosos. Já no caso da DA, os processos que envolvem a doença, como a perda neuronal, diminuição sináptica e toxicidade causada pela fisiopatologia da doença poderiam causar as alterações em todo o organismo o que inclui o distúrbio do sono. Dessa forma, a alteração do sono em pacientes DIT poderia ser um sintoma anterior a depressão, já a alteração do sono em pacientes com DA surgiria depois da identificação do diagnóstico, devido ao seu grau de complexidade.

Finalmente, este estudo contribui para o conhecimento de algumas relações entre os genes circadianos, DIT e DA e nos mostra o grande desafio para melhorar a qualidade de vida dos idosos.

10. Referências Bibliográficas

Adeoye OM, Ferrell RE, Kirshner MA, Mulsant BH, Seligman K, Begley AE, Reynolds CF 3rd, Pollock BG. Alpha1- acid glycoprotein in late-life depression: relationship to medical burden and genetics. *J Geriatr Psychiatry Neurol.* 2003 Dec;16(4):235-9.

Aguiar WM, Dunningham W. Depressão geriátrica: aspectos clínicos e terapêuticos. *Arq Bras Med.* 1993;67(Supl 4):291-310.

Akiskal, H.S. (2000). Mood disorders: introduction and overview. In *Comprehensive Textbook of Psychiatry*, B.J. Sadock and V.A. Sadock, eds. (New York: Lippincott, Williams & Wilkins), pp. 1284–1298.

Alexopoulos GS (2005) Depression in the elderly. *Lancet* 365: 1961-1970.

Alexopoulos GS, Glatt CE, Hoptman MJ, Kanellopoulos D, Murphy CF, Kelly RE Jr, Morimoto SS, Lim KO, Gunning FM. [BDNF val66met polymorphism, white matter abnormalities and remission of geriatric depression.](#) *J Affect Disord.* 2010 Sep;125(1-3):262-8.

Alexopoulos GS, Kelly RE (2009) Research advances in geriatric depression. *World Psychiatr* 4:140-149.

Alexopoulos GS, Schultz SK, Lebowitz BD. 2005. Late-life depression: a model for medical classification. *Biol Psychiatry* 58: 283–289.

Alexopoulos GS. Clinical and biological findings in late-onset depression. In: Tasman A, Goldfinger SM, Kaufman CA. *Review of Psychiatry*. Washington, DC: American Psychiatric Press; 1990:9.

Almeida OP, Almeida SA. 1999. Reliability of the Brazilian version of the abbreviated form of Geriatric Depression Scale (GDS) short form. *ArqNeuropsiquiatr* 57(2B): 421.

Alóe F, Azevedo AP, Hasan R. [\[Sleep-wake cycle mechanisms\]](#). *Rev Bras Psiquiatr.* 2005 May;27 Suppl 1:33-9.

American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 4th edition. Washington: American Psychiatric Association, 1994.

Amorim P (2000) MINI International Neuropsychiatric Interview (MINI): validation of a short structured diagnostic psychiatric interview. *Rev Bras Psiquiatr* 22, 106-115.

Amy L. Byers & Kristine Yaffe. (2011). Depression and risk of developing dementia. *Nature Reviews Neurology* 7, 323-331.

Anarte MT, Cuadros JL, Herrera J. [Hormonal and psychological treatment: therapeutic alternative for menopausal women?](#) *Maturitas.* 1998 Jun 17;29(3):203-13.

Andersen I, Thielen K, Bech P, Nygaard E, Diderichsen F. 2011. Increasing prevalence of depression from 2000 to 2006. *Scand J Public Health* 39: 857–863.

Andersen K, Lolk A, Kragh-Sorensen P, Petersen NE, Green A. Depression and the risk of Alzheimer disease. *Epidemiology.* 2005;16:233-238.

Andrei AM, Fraguas R Jr, Telles RM, Alves TC, Strunz CM, Nussbacher A, Rays J, Iosifescu DV, Wajngarten M. Major depressive disorder and inflammatory markers in elderly patients with heart failure. *Psychosomatics*. 2007 Jul-Aug;48(4):319-24.

Annerbrink K, Westberg L, Olsson M, Andersch S, Sjödin I, Holm G, Allgulander C, Eriksson E. Panic disorder is associated with the Val308Ile polymorphism in the hypocretin receptor gene. *Psychiatr Genet*. 2011 Apr;21(2):85-9.

Anttila, S., Viikki, M., Huuhka, K., [Huuhka, M.](#), [Huhtala, H.](#), [Rontu, R.](#), [Lehtimäki, T.](#), [Leinonen, E.](#) (2009) TPH2 polymorphisms may modify clinical picture in treatment-resistant depression [Neuroscience Letters](#) 464 (1), pp. 43-46.

Aprahamian I¹, [Martinelli JE](#), [Neri AL](#), [Yassuda MS](#). The accuracy of the Clock Drawing Test compared to that of standard screening tests for Alzheimer's disease: results from a study of Brazilian elderly with heterogeneous educational backgrounds. [Int Psychogeriatr](#). 2010 Feb;22(1):64-71.

Handley SL, Mithani S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 1984 Aug;327(1):1-5.

Arendt DH, Hassell J, Li H, Achua JK, Guarnieri DJ, Dileone RJ, Ronan PJ, Summers CH. Anxiolytic function of the orexin 2/hypocretin A receptor in the basolateral amygdala. *Psychoneuroendocrinology*. 2014 Feb;40:17-26 Epub 2013 Oct 30.

Atkinson M, Kripke DF, Wolf SR. Autorhythmometry in manic-depressives. [Chronobiologia](#). 1975 Oct-Dec;2(4):325-35.

Avila R, Moscoso MA, Ribeiz S, Arrais J, Jaluul O, Bottino CM. Influence of education and depressive symptoms on cognitive function in the elderly. *Int Psychogeriatr*. 2009 Jun;21(3):560-7.

[Bain J](#), [Plater L](#), [Elliott M](#), [Shapiro N](#), [Hastie CJ](#), [McLauchlan H](#), [Klevernic I](#), [Arthur JS](#), [Alessi DR](#), [Cohen P](#). The selectivity of protein kinase inhibitors: a further update. [Biochem J](#). 2007 Dec 15;408(3):297-315.

[Balleza-Tapia H](#), [Peña F](#). Pharmacology of the intracellular pathways activated by amyloid beta protein. [Mini Rev Med Chem](#). 2009 Jun;9(6):724-40.

Barnes DE, Yaffe K, Byers AL, et al. 2012. Midlife vs late-life depressive symptoms and risk of dementia: differential effects for Alzheimer disease and vascular dementia. *Arch Gen Psychiatry* 69: 493–498.

Beaulieu JM, Gainetdinov RR, Caron MG. 2009. Akt/GSK3 signaling in the action of psychotropic drugs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 49: 327–347.

Bedrosian TA, Weil ZM, Nelson RJ: Chronic dim light at night provokes reversible depression-like phenotype: possible role for TNF. *Mol Psychiatry*.

Benedetti F, Bernasconi A, Lorenzi C, et al. 2004. A single nucleotide polymorphism in glycogen synthase kinase 3-beta promoter gene influences onset of illness in patients affected by bipolar disorder. *Neurosci Lett* 355: 37–40.

Bertolucci PM (1998) Desempenho da população brasileira na bateria neuropsicológica do Consortium to Establish a Registry for Alzheimer Disease (CERAD). *Rev Psiquiatr* 2: 80-83.

Bhat R. V., Budd Haeberlein S. L. and Avila J. (2004) Glycogen synthase kinase3: a drug target for CNS therapies. *J. Neurochem.* 89, 1313–1317.

Blazer DG, Hybels CF (2005) Origins of depression in later life. *Psychol Med* 35: 1241-1252.

Blazer DG, Hybels CF, Pieper CF. (2001) [The association of depression and mortality in elderly persons: a case for multiple, independent pathways.](#) *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* Aug;56(8):M505-9.

Blazer, D. G., Kessler, R. C., McGonagle, K. A. & Swartz, M. S. (1994) The prevalence and distribution of major depression in a national community sample: the National Comorbidity.

Blier, P., Ward, N.M., (2003). Is there a role for 5-HT1A agonists in the treatment of depression? *Biol. Psychiatry* 53 (3), 193– 203.

Brazil DP, Park J, Hemmings BA. [PKB binding proteins. Getting in on the Akt.](#) *Cell.* 2002 Nov 1;111(3):293-303. Review.

Brodaty H, Luscombe G, Parker G, Wilhelm K, Hickie I, Austin MP, Mitchell P. (2001) [Early and late onset depression in old age: different aetiologies, same phenomenology.](#) *J Affect Disord.* Oct;66(2-3):225-36.

Brommelhoff JA, Gatz M, Johansson B, et al. 2009. Depression as a risk factor or prodromal feature for dementia? Findings in a population-based sample of Swedish twins. *Psychol Aging* 24: 373–384.

Bunney WE, Bunney BG. [Molecular clock genes in man and lower animals: possible implications for circadian abnormalities in depression.](#) *Neuropsychopharmacology.* 2000 Apr;22(4):335-45. Review.

C P Hughes, L Berg, W L Danziger, L A Coben and R L Martin A new clinical scale for the staging of dementia. *The British Journal of Psychiatry* (1982) 140: 566-572.

C. Peyron, D.K. Tighe, A.N. van den Pol, L. de Lecea, H.C. Heller, H.G. Sutcliffe, H.F. Kilduff Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems *J. Neurosci.*, 18 (1998), pp. 9996–10015.

C.L. White, Y. Ihij, T. Mendoza, N. Upton, L.P. Stasi, G.A. Bray, D.A. York *Peptides*, 26 (2005), p. 2331.

Campos SB, Miranda DM, Souza BR, Pereira PA, Neves FS, Bicalho MA, Melillo PH, Tramontina J, Kapczinski F, Romano-Silva MA, Correa H. [Association of polymorphisms of the tryptophan hydroxylase 2 gene with risk for bipolar disorder or suicidal behavior.](#) *J Psychiatr Res.* 2009 Sep 30.

Cardinali DP, Furio AM, Brusco LI [The use of chronobiotics in the resynchronization of the sleep/wake cycle. Therapeutical application in the early phases of Alzheimer's disease.](#) Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov. 2011 May;5(2):80-90. Review.

Castrén, E., (2005) Is mood chemistry? Nature Reviews Neuroscience 6, 241-246

Cermakian N, Lamont EW, Boudreau P, Boivin DB. [Circadian clock gene expression in brain regions of Alzheimer 's disease patients and control subjects.](#) J Biol Rhythms. 2011 Apr;26(2):160-70.

Chachamovich [E](#), [Fleck M](#), [Laidlaw K](#), [Power M](#) Impact of major depression and subsyndromal symptoms on quality of life and attitudes toward aging in an international sample of older adults. [Gerontologist.](#) 2008 Oct;48(5):593-602.

Chen L, McKenna JT, Bolortuya Y, Brown RE, McCarley RW Knockdown of orexin type 2 receptor in the lateral pontomesencephalic tegmentum of rats increases REM sleep. Eur J Neurosci.

Chen LM, Xiong YS, Kong FL, et al. 2012. Neuroglobin attenuates Alzheimer-like tau hyperphosphorylation by activating Akt signaling. J Neurochem 120: 157–164.

Cheng A, Wang S, Yang D, Xiao R, Mattson MP. 2003. Calmodulin mediates brain-derived neurotrophic factor cell survival signaling upstream of Akt kinase in embryonic neocortical neurons. J Biol Chem 278: 7591–7599.

Chong SY, Ptáček LJ, Fu YH. Genetic insights on sleep schedules: this time, it's PERSONal. Trends Genet. 2012 Dec;28(12):598-605.

Cichon S; Winge I; Mattheisen M; Georgi A; Karpushova A; Freudenberg J; Bogaert AVD; Nothen MM.(2008) -Brain-specific tryptophan hydroxylase 2 (TPH2): a functional Pro206Ser substitution and variation in the 5'-region are associated with bipolar affective disorder. Human molecular Genetics,vol.17:87-97.

Claes, S., (2009). Glucocorticoid Receptor Polymorphisms in Major Depression Ann. N.Y. Acad. Sci. 1179: 216–228.

Comings, D.E., MacMurray, J.P., (2000) Molecular heterosis: A review, Molecular Genetics Metabolism 71 19 –31.

Correa H, Campi-Azevedo AC, De ML, et al. 2004. Familial suicide behaviour: association with probands suicide attempt characteristics and 5-HTTLPR polymorphism. Acta Psychiatr Scand 110: 459–464.

Cote, F., Thevenot, E., Fligny, C., Fromes, Y., Darmon, M., Ripoche, M.A., Bayard, E., Hanoun, N., Saurini, F., Lechat, P., et al. (2003). Disruption of the nonneuronal tph1 gene demonstrates the importance of peripheral serotonin in cardiac function. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100, 13525–13530.

Daniel P. Cardinali, Analía M. Furio and Luis I. Brusco The Use of Chronobiotics in the Resynchronization of the Sleep/Wake Cycle. Therapeutical Application in the Early Phases of

Alzheimer's Disease Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery 2011, 5, 80.

[de Lara, C.L.](#), [Brezo, J.](#), [Rouleau, G.](#), [Lesage, A.](#), [Dumont, M.](#), [Alda, M.](#), [Benkelfat, C.](#), [Turecki, G.](#) (2007) Effect of Tryptophan Hydroxylase-2 Gene Variants on Suicide Risk in Major Depression [Biological Psychiatry](#) 62 (1), pp. 72-80.

Devanand DP, Kim MK, Paykina N, Sackeim HA. (2002) [Adverse life events in elderly patients with major depression or dysthymic disorder and in healthy-control subjects.](#) Am J Geriatr Psychiatry. May-Jun;10(3):265-74.

Dijk DJ, Archer SN. PERIOD3, circadian phenotypes, and sleep homeostasis. Sleep Med Rev. 2010;14:151–160.

Diniz BS, Nunes PV, Hado-Vieira R, Forlenza OV. 2011. Current pharmacological approaches and perspectives in the treatment of geriatric mood disorders. Curr Opin Psychiatry 24: 473–477.

Drapeau, A., Boyer, R., Lesage, A., (2009) The Influence of Social Anchorage on the Gender Difference in the Use of Mental Health Services The Journal of Behavioral Health Services & Research 36:3 July.

Drevets WC: (2001) Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive-emotional features of mood disorders. Curr Opin Neurobiol; 11:240–249.

DSM-IV – Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais- 4ª edição (1995). Porto Alegre : ARTMED.

Dudbridge F (2008) Likelihood-based association analysis for nuclear families and unrelated subjects with missing genotype data. Human Heredity 66:87-98.

Elderkin-Thompson V, Mintz J, Haroon E, Lavretsky H, Kumar A. [Executive dysfunction and memory in older patients with major and minor depression.](#) Arch Clin Neuropsychol. 2007 Feb;22(2):261-70.

Elderkin-Thompson V¹, [Kumar A](#), [Bilker WB](#), [Dunkin JJ](#), [Mintz J](#), [Moberg PJ](#), [Meshulam RI](#), [Gur RE](#). Neuropsychological deficits among patients with late-onset minor and major depression. [Arch Clin Neuropsychol](#). 2003 Jul;18(5):529-49.

Evangelou E, Trikalinos TA, Salanti G, Ioannidis JP. (2006) [Family-based versus unrelated case-control designs for genetic associations.](#) PLoS Genet. 2006 Aug;2(8):e123. Epub Jun 26.

Fava, M., and Kendler, K.S. (2000). Major depressive disorder. Neuron 28, 335–341.

Fitch TE, Benvenga MJ, Jesudason CD, Zink C, Vandergriff AB, Menezes MM, Schober DA, Rorick-Kehn LM. LSN2424100: a novel, potent orexin-2 receptor antagonist with selectivity over orexin-1 receptors and activity in an animal model predictive of antidepressant-like efficacy. Front Neurosci. 2014 Jan 28;8:5.

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.

G. S. Rai, I. Blackman, Dementia Diagnosis, Clinical Gerontologist, 1998, 19, 4, 68.

G. Telegdy, A. Adamik The action of orexin A on passive avoidance learning. Involvement of transmitters.

Gaspar P, Cases O, Maroteaux L (2003) The developmental role of serotonin: news from mouse molecular genetics. *Nat Rev Neurosci* 4: 1002-1012.

Gauthier S, Vellas B, Burn D. Aggressive course of disease in dementia. *Alzheimer's & Dementia*. 2006;2:210-17.

Gerritsen DL, Kuin Y, Nijboer J. Dementia in the movies: the clinical picture. *Aging Ment Health*. 2013 Sep 24.

Gillespie, C. F. & Nemeroff, C. B. (2005). Hypercortisolemia and depression. *Psychosom. Med.* 67 (Suppl.), S26–S28.

Goedert M, Spillantini MG, Cairns NJ, Crowther RA. [Tau proteins of Alzheimer paired helical filaments: abnormal phosphorylation of all six brain isoforms.](#) *Neuron*. 1992 Jan;8(1):159-68.

Green RC, Cupples LA, Kurz A et al. (2003), Depression as a risk factor for Alzheimer disease: the MIRAGE Study. *Arch Neurol* 60(5):753-759.

Grossman H, Bergmann C, Parker S. Dementia: a brief review. *Mt Sinai J Med*. 2006;73(7):985-92.

Guerra ABG, Calil HM. Depressão. In: Hetem LAB, Graeff FG, editores. *Transtornos de ansiedade*. São Paulo: Atheneu; 2004. p. 371-88.

[Guo Y, Feng P.](#) OX2R activation induces PKC-mediated ERK and CREB phosphorylation. [Exp Cell Res.](#) 2012 Oct 1;318(16):2004-13.

Hachinski VC, Lassen NA, Marshall J. Multi-infarct dementia: a cause of mental deterioration in the elderly. *Lancet* 1974;2:207-210.

Hachinski VC, Lassen NA, Marshall J. [Multi-infarct dementia. A cause of mental deterioration in the elderly.](#) *Lancet*. 1974 Jul 27;2(7874):207-10.

Hamet P, Tremblay J. (2005) [Genetics and genomics of depression.](#) *Metabolism*. May;54(5 Suppl 1):10-5.

Hanger DP, Noble W. 2011. Functional implications of glycogen synthase kinase-3-mediated tau phosphorylation. *Int J Alzheimers Dis* 2011, 352805.

Hannon J, Hoyer D. (2008) [Molecular biology of 5-HT receptors.](#) *Behav Brain Res*. Dec 16;195(1):198-213. Epub 2008 Mar 25.

Harwood DG, Barker WW, Ownby RL, Bravo M, Aguero H, Duara R. [Depressive symptoms in Alzheimer's disease. An examination among community-dwelling Cuban American patients.](#) *Am J Geriatr Psychiatry*. 2000 Winter;8(1):84-91.

Hastings M, O'Neill JS, Maywood ES. [Circadian clocks: regulators of endocrine and metabolic rhythms](#). J Endocrinol. 2007 Nov;195(2):187-98. Review.

Hatfield CF, Herbert J, van Someren EJ, Hodges JR, Hastings MH: Disrupted daily activity/rest cycles in relation to daily cortisol rhythms of homedwelling patients with early Alzheimer's dementia. Brain 2004, 127 (Pt 5):1061-1074.

Hensler, J.G., (2003). Regulations of 5-HT_{1A} receptor function in brain following agonist or antidepressant administration. Life Sci. 72, 1665– 1682.

Herbert, J. Goodyer IM, Grossman AB, Hastings MH, de Kloet ER, Lightman SL, Lupien SJ, Roozendaal B, Seckl JR.(2006) Do corticosteroids damage the brain? J.Neuroendocrinol. 18, 393–411.

Hibar DP, Jahanshad N, Stein JL, Kohannim O, Toga AW, Medland SE, Hansell NK, McMahon KL, de Zubicaray GI, Montgomery GW, Martin NG, Wright MJ, Thompson PM. Alzheimer's disease risk gene, GAB2, is associated with regional brain volume differences in 755 young healthy twins. Twin Res Hum Genet. 2012 Jun;15(3):286-95.

Hickie I, Simons L, Naismith S, Simons J, McCallum J, Pearson K. (2003) [Vascular risk to late-life depression: evidence from a longitudinal community study](#). Aust N Z J Psychiatry. Feb;37(1):62-5.

[Horikawa Y](#), [Oda N](#), [Cox NJ](#), [Li X](#), [Orho-Melander M](#), [Hara M](#), [Hinokio Y](#), [Lindner TH](#), [Mashima H](#), [Schwarz PE](#), [del Bosque-Plata L](#), [Horikawa Y](#), [Oda Y](#), [Yoshiuchi I](#), [Colilla S](#), [Polonsky KS](#), [Wei S](#), [Concannon P](#), [Iwasaki N](#), [Schulze J](#), [Baier LJ](#), [Bogardus C](#), [Groop L](#), [Boerwinkle E](#), [Hanis CL](#), [Bell GI](#). (2000) Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus. [Nat Genet](#). Oct;26(2):163-75.

Hoyer D, Hannon JP, Martin GR. 2002. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. Pharmacol Biochem Behav 71: 533–554.

Hsiung SC, Adlersberg M, Arango V, et al. 2003. Attenuated 5-HT_{1A} receptor signaling in brains of suicide victims: involvement of adenylyl cyclase, phosphatidylinositol 3-kinase, Akt and mitogen-activated protein kinase. J Neurochem 87: 182–194.

Ito n., t. Yabe, y. Gamo, t. Nagai, t. Oikawa, h. Yamada and t. Hanawa i.c.v. Administration of orexin-a induces an antidepressivelike effect through hippocampal cell proliferation.

J. A. Yesavage, A. Noda, B. Hernandez et al., "Circadian clock gene polymorphisms and sleep-wake disturbance in Alzheimer disease," American Journal of Geriatric Psychiatry, vol. 19, no. 7, pp. 635–643, 2011.

J. L. Cummings, MD, M. Mega, MD, K. Gray, MD, S. Rosenberg-Thompson, RN, MN, D. A. Carusi, BS and J. Gornbein, DrPH *Neurology* The Neuropsychiatric Inventory Comprehensive assessment of psychopathology in dementia. December 1994 vol. 44 no. 12 2308.

J.-E. Kang, M.M. Lim, R.J. Bateman, J.J. Lee, L.P. Smyth, J.R. Cirrito, N. Fujiki, S. Nishino, D.M. Holtzman *Science*, 326 (2009), p. 1005 Jenck, F. Tetrahydroisoquinoline Derivatives to Enhance Memory Function. WO2007/105177(A1).

Jellinger KA (2009) Alzheimer's disease: a challenger for modern neuropathology. *Acta Neuropathol* 118:1-3.

Jorm AF Aust N Z J Psychiatry. 2001 Dec;35(6):776-81. History of depression as a risk factor for dementia: an updated review.

Judd LL, Akiskal HS, Paulus MP. 1997. The role and clinical significance of subsyndromal depressive symptoms (SSD) in unipolar major depressive disorder. *J Affect Disord* 45: 5–17.

Jun Z, Li Z, Fang W, Fengzhen Y, Puyuan W, Wenwen L, Zhi S, Bondy SC. [Melatonin decreases levels of S100 \$\beta\$ and NF \$\kappa\$ B, increases levels of synaptophysin in a rat model of Alzheimer's disease.](#) *Curr Aging Sci.* 2013 Jul;6(2):142-9.

Jun Z. Lia,1, Blynn G. Bunneyb, Fan Mengc, Megan H. Hagenauerc, David M. Walshb, Marquis P. Vawterb, Simon J. Evansc, Prabhakara V. Choudaryd, Preston Cartagenab, Jack D. Barchase, Alan F. Schatzbergf, Edward G. Jonesd,2, Richard M. Myersg, Stanley J. Watson, Jr.c, Huda Akilc,1, and William E. Bunneyb Circadian patterns of gene expression in the human brain and disruption in major depressive disorder. *PNAS*, Contributed by Huda Akil, April 3, 2013.

K.S. Eriksson, O.A. Sergeeva, H.L. Haas, O. Selbach Orexins/hypocretins and aminergic systems *Acta Physiol.*, 198 (2010), pp. 263–275.

Kaidanovich-Beilin O, Milman A, Weizman A, Pick CG, Eldar-Finkelman H. 2004. Rapid antidepressive-like activity of specific glycogen synthase kinase-3 inhibitor and its effect on beta-catenin in mouse hippocampus. *Biol Psychiatry* 55: 781–784.

Kalia, M. (2005) [Neurobiological basis of depression: an update.](#) *Metabolism.* May;54(5 Suppl 1):24-7.

[Kaneda R](#)¹, [Furuta H](#). [Insomnia in old age]. [Nihon Rinsho.](#) 2009 Aug;67(8):1548-52.

Kang JE, Lim MM, Bateman RJ, Lee JJ, Smyth LP, Cirrito JR, Fujiki N, Nishino, Holtzman DM. *Science.* Amyloid-beta dynamics are regulated by orexin and the sleep-wake cycle. 2009 Nov 13;326(5955):1005-7.

Kapur S. Remington G. 2001. Atypical antipsychotics: new directions and new challenges in the treatment of schizophrenia. *Annu Rev Med* 52: 503–517.

Karege F, Perroud N, Burkhardt S, et al. 2007. Alteration in kinase activity but not in protein levels of protein kinase B and glycogen synthase kinase-3beta in ventral prefrontal cortex of depressed suicide victims. *Biol Psychiatry* 61: 240–245.

Katz S, Ford AB, Moskowitz RW et al. Studies of illness in the aged. The index of ADL: a standardized measure of biological and psychosocial function. *JAMA* 1963;185: 9149.

Katzenberg D, Young T, Finn L, et al. A CLOCK polymorphism associated with human diurnal preference. *Sleep.* 1998;21:569–576.

Kessler RC, Berglund P, Demler O, et al. (2003) The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *JAMA*;289:3095-105.

Kessler, R.C., Angermeyer, M., Anthony, J.C., DE Graaf, R., Demyttenaere, K., Gasquet, I., DE Girolamo, G., Gluzman, S., Gureje, O., Haro, J.M., Kawakami, N., Karam, A., Levinson, D., Medina Mora, M.E., Oakley Browne, M.A., Posada-Villa, J., Stein, D.J., Adley Tsang, C.H., Aguilar-Gaxiola, S., Alonso, J., Lee, S., Heeringa, S., Pennell, B.E., Berglund, P., Gruber, M.J., Petukhova, M., Chatterji, S., Ustün, T.B., (2007). Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of mental disorders in the WHO World Mental Health Surveys. *World Psychiatry* 6, 168–176.

[Kloiber, S.](#), [Kohli, M.A.](#), [Brueckl, T.](#), [Ripke, S.](#), [Ising, M.](#), [Uhr, M.](#), [Menke, A.](#), [Lucae, S.](#) (2009) Variations in tryptophan hydroxylase 2 linked to decreased serotonergic activity are associated with elevated risk for metabolic syndrome in depression [Molecular Psychiatry](#).

Kokmen E, Beard CM, Chandra V, Offord KP, Schoenberg BS, Ballard DJ. Clinical risk factors for Alzheimer's disease: a population-based case-control study. *Neurology*. 1991;41:1393-1397.

Korczyn AD, Halperin I (2009) Depression and dementia. *J Neurological Sci* 283:139-142.

Krishnan KR, Hays JC, Tupler LA, George LK, Blazer DG (1995) Clinical and phenomenological comparisons of late-onset and early-onset depression. *Am J Psychiatry* 152: 785-788.

L. Brundin, M. Björkqvist, A. Petersén, L. Träskman-Bendz Reduced orexin levels in the cerebrospinal fluid of suicidal patients with major depressive disorder *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 17 (2007), pp. 573–579.

Lahiri, D.K., Nurnberger, J.I. Jr. (1991). A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. Source Laboratory of Molecular Neurogenetics, Indiana University Medical Center, Indianapolis 46202-4887.

Lawlor MA, Alessi DR. 2001. PKB/Akt: a key mediator of cell proliferation, survival and insulin responses? *J Cell Sci* 114: 2903–2910.

Lawton, M.P., and Brody, E.M. "Assessment of older people: Self-maintaining and instrumental activities of daily living." *Gerontologist* 9:179-186, (1969).

[Lee HB¹](#), [Lyketsos CG](#). Depression in Alzheimer's disease: heterogeneity and related issues. [Biol Psychiatry](#). 2003 Aug 1;54(3):353-62.

Lenardo M, Chan KM, Hornung F, et al. 1999. Mature T lymphocyte apoptosis-immune regulation in a dynamic and unpredictable antigenic environment. *Annu Rev Immunol* 17: 221–253.

Lesch KP. 2004. Gene-environment interaction and the genetics of depression. *J Psychiatry Neurosci* 29: 174–184.

Lesche R, Peetz A, van der HF, Ruther U. 1997. Ft1, a novel gene related to ubiquitinconjugating enzymes, is deleted in the Fused toes mouse mutation. *Mamm Genome* 8: 879–883.

Li Y, Meyer JS, Thornby J. [Depressive symptoms among cognitively normal versus cognitively impaired elderly subjects](#). *Int J Geriatr Psychiatry*. 2001 May;16(5):455-61.

Lindsay J, Laurin D, Verreault R, Hébert R, Helliwell B, Hill GB, McDowell I. [Risk factors for Alzheimer's disease: a prospective analysis from the Canadian Study of Health and Aging](#). *Am J Epidemiol*. 2002 Sep 1;156(5):445-53.

Liu Y, Fanburg BL. 2006. Serotonin-induced growth of pulmonary artery smooth muscle requires activation of phosphatidylinositol 3-kinase/serine-threonine protein kinase B/mammalian target of rapamycin/p70 ribosomal S6 kinase 1. *Am J Respir Cell Mol Biol* 34: 182–191.

Lopes MA, Bottino CM. Prevalence of dementia in several regions of the world: analysis of epidemiologic studies from 1994 to 2000. *Arq Neuropsiquiatr*, 2002;60:61-69.

Lopes MA, Bottino CM. Prevalence of dementia in several regions of the world: analysis of epidemiologic studies from 1994 to 2000. *Arq Neuropsiquiatr*, 2002;60:61-69.

Lopez de Lara C, Brezo J, Rouleau G, Lesage A, Dumont M, Alda M, Benkelfat C, Turecki G. [Effect of tryptophan hydroxylase-2 gene variants on suicide risk in major depression](#). *Biol Psychiatry*. 2007 Jul 1;62(1):72-80. Epub 2007 Jan 9.

Lovestone S. *and* Reynolds C. H. (1997) The phosphorylation of tau: a critical stage in neurodevelopment and neurodegenerative processes. *Neuroscience* 78, 309–324.

Lucki I. The spectrum of behaviours influenced by serotonin. *Biol. Psychiatry* (1998) 44:151–162.

Lutter M., Vaishnav Krishnan, Scott J. Russo, Saendy Jung, Colleen A. McClung, and Eric J. Nestler Orexin Signaling Mediates the Antidepressant-Like Effect of Calorie Restriction.

M. Goedert, M.G. Spillantini, N.J. Cairns, R.A. Crowther, Tau proteins of Alzheimer paired helical filaments: abnormal phosphorylation of all six brain isoforms, *Neuron* 8 (1992) 159–168.

Machado [JC](#)¹, [Caramelli P](#). Treatment of dementia: anything new? [Curr Opin Psychiatry](#). 2006 Nov;19(6):575-80.

Magno LA, Miranda DM, Neves FS, et al. 2010. Association between AKT1 but not AKTIP genetic variants and increased risk for suicidal behavior in bipolar patients. *Genes Brain Behav* 9: 411–418.

Martin D, Salinas M, Lopez-Valdaliso, R, et al. 2001. Effect of the Alzheimer amyloid fragment Abeta (25–35) on Akt/PKB kinase and survival of PC12 cells. *JNeurochem* 78: 1000–1008.

Martorana A, Esposito Z, Koch G. Beyond the cholinergic hypothesis: do current drugs work in Alzheimer's disease? *CNS Neurosci Ther*. 2010 Aug;16(4):235-45. doi: 10.1111/j.1755-5949.2010.00175.x. Epub 2010 Apr 16. Review.

McKusick VA, et al (2004) Online Mendelian inheritance in man (OMIM). McKusick-Nathans Institute for Genetic Medicine, Johns Hopkins University, National Center for Biotechnology

Information, National Library of Medicine. Alzheimer A (1907) Ueber eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. Allg Z Psychiat.

Mevawalla N, Fung V, Morris J, Halliday GM. Unilateral rest tremor in vascular parkinsonism associated with a contralateral lesion of the locus coeruleus. *Mov Disord.* 2009 Jun 15;24(8):1242-4. doi: 10.1002/mds.22513.

Monk TH, Buysse DJ, Hall M, Nofzinger EA, Thompson WK, Mazumdar SA, Reynolds CF 3rd. [Age-related differences in the lifestyle regularity of seniors experiencing bereavement, care-giving, insomnia, and advancement into old-old age.](#) *Chronobiol Int.* 2006;23(4):831-41.

Montplaisir J, Petit D, Lorrain D, Gauthier S, Nielsen T. Sleep in Alzheimer's disease: further considerations on the role of brainstem and forebrain cholinergic populations in sleep-wake mechanisms. *Sleep.* 1995;18(3):145-8.

Moore JH, Hahn LW, Ritchie MD, Thornton TA, White BC. [Routine Discovery of Complex Genetic Models using Genetic Algorithms.](#) *Appl Soft Comput.* 2004 Feb 1;4(1):79-86.

Moroney, J.T., Meta-analysis of the Hachinski Ischaemic Score in pathologically verified dementias. *Neurology*, 49, 1096 – 1105. 1997.

Morris JC, Edland S, Clark C, Galasko D, Koss E, Mohs R, van Belle G, Fillenbaum G, Heyman A. [The consortium to establish a registry for Alzheimer's disease \(CERAD\). Part IV. Rates of cognitive change in the longitudinal assessment of probable Alzheimer's disease.](#) *Neurology.* 1993 Dec;43(12):2457-65.

Murphy GM Jr, Hollander SB, Rodrigues HE, Kremer C, Schatzberg AF. Effects of the serotonin transporter gene promoter polymorphism on mirtazapine and paroxetine efficacy and adverse events in geriatric major depression. *Arch Gen Psychiatry.* 2004 Nov;61(11):1163-9.

Murphy GM Jr, Pollock BG, Kirshner MA, Pascoe N, Cheuk W, Mulsant BH, Reynolds CF 3rd. CYP2D6 genotyping with oligonucleotide microarrays and nortriptyline concentrations in geriatric depression. *Neuropsychopharmacology.* 2001 Nov;25(5):737.

Murray, C.J.L., Lopez, A.D., (1996). *The Global Burden of Disease.* Harvard Univ. Press, Cambridge, p. 21.

N. Cermakian, E. W. Lamont, P. Boudreau, and D. B. Boivin, "Circadian clock gene expression in brain regions of Alzheimer's disease patients and control subjects," *Journal of Biological Rhythms*, vol. 26, no. 2, pp. 160–170, 2011.

Nambu T, Sakurai T, Mizukami K, Hosoya Y, Yanagisawa M, Goto K Distribution of orexin neurons in the adult rat brain. *Brain Res.* 1999 May 8;827(1-2):243-60.

Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. (2002) [Neurobiology of depression.](#) *Neuron.* Mar 28;34(1):13-25.

Nitrini R, Lefèvre BH, Mathias SC, Caramelli P, Carrilho PE, Sauaia N, Massad E, Takiguti C, Da Silva IO, Porto CS, et al. [Neuropsychological tests of simple application for diagnosing dementia.](#) *Arq Neuropsiquiatr.* 1994 Dec;52(4):457-65.

Noh MY, Koh SH, Kim Y, Kim HY, Cho GW, Kim SH. [Neuroprotective effects of donepezil through inhibition of GSK-3 activity in amyloid-beta-induced neuronal cell death.](#) J Neurochem. 2009 Mar;108(5):1116-25.

Numano R, Yamazaki S, Umeda N, Samura T, Sujino M, Takahashi R, Ueda M, Mori A, Yamada K, Sakaki Y, Inouye ST, Menaker M, Tei H. [Constitutive expression of the Period1 gene impairs behavioral and molecular circadian rhythms.](#) Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Mar 7;103(10):3716-21. Epub 2006 Feb 28.

O'Brien WT, Harper AD, Jove F, et al. 2004. Glycogen synthase kinase-3beta haploinsufficiency mimics the behavioral and molecular effects of lithium. J Neurosci 24: 6791–6798.

Ohayon MM. Epidemiology of insomnia: what we know and what we still need to learn. Sleep Med Rev. 2002;6(2):97-111.

Oliveira A P., Gomes D.L., Oliveira R.F.. (2006) Prevalência de depressão em idosos que freqüentam centros de convivência Rev Saúde Pública;40(4):XX-XX.

Organização Mundial da Saúde. (1993) Classificação de Transtornos Mentais e de Comportamento da CID-10. Descrições Clínicas e Diretrizes Diagnósticas. Porto Alegre: Artes Médicas;.

Organização Mundial de Saúde (2001) The World Health Report - Mental Health: New understanding, WHO, Geneve.

Ownby RL, Crocco E, Acevedo A, John V, Loewenstein D. [Depression and risk for Alzheimer disease: systematic review, meta-analysis, and metaregression analysis.](#) Arch Gen Psychiatry. 2006 May;63(5):530-8.

P. Franken and D. J. Dijk, "Circadian clock genes and sleep homeostasis," European Journal of Neuroscience, vol. 29, no. 9 pp. 1820–1829, 2009.

Pace-Schott EF, Hobson JA. The neurobiology of sleep: genetics, cellular physiology and subcortical networks. Nat Rev Neurosci. 2002;3(9):591-605.

Pace-Schott EF, Spencer RM [Age-related changes in consolidation of perceptual and muscle-based learning of motor skills.](#) Front Aging Neurosci. 2013 Nov 29;5:83.

Paradela EM, Lourenço RA, Veras RP. 2005. Validation of geriatric depression scale in a general outpatient clinic. Rev Saude Publica 39(6): 918–923.

Patel, P.D., Pontrello, C., and Burke, S. (2004). Robust and specific expression of TPH2 versus TPH1 in rat raphe and pineal gland. Biol. Psychiatry 55, 428–433.

Pei JJ, Braak E, Braak H, et al. 1999. Distribution of active glycogen synthase kinase3beta (GSK-3beta) in brains staged for Alzheimer disease neurofibrillary changes. J Neuropathol Exp Neurol 58: 1010–1019.

Pfeffer RI, Kurosaki TT, Harrah CH Jr, Chance JM, Filos S. [Measurement of functional activities in older adults in the community.](#) J Gerontol. 1982 May;37(3):323-9.

Planning System of the Unified Health System (SUS Brazil): a collective construction: National Health Plan (PNS Brazil) 2008/2009-2011.

Pollock BG. 2005. The pharmacokinetic imperative in late-life depression. *J Clin Psychopharmacol* 25(4 Suppl 1): S19–S23.

Popova, N. K. (2006), "From genes to aggressive behavior: the role of serotonergic system," *BioEssays*, 28, No. 5, 494–503.

Querfurth HW, LaFerla FM [Alzheimer's disease](#). *N Engl J Med*. 2010 Jan 28;362(4):329-44. doi: 10.1056/NEJMra0909142. Review. No abstract available. Erratum in: *N Engl J Med*. 2011 Feb 10;364(6):588.

R. Y. Liu, J. N. Zhou, W. J. G. Hoogendijk et al., "Decreased vasopressin gene expression in the biological clock of Alzheimer disease patients with and without depression," *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, vol. 59, no. 4, pp. 314–322, 2000.

R.M. Salomon, B. Ripley, J.S. Kennedy, B. Johnson, D. Schmidt, J.M. Zeitzer, S. Nishino, E. Mignot Diurnal variation of cerebrospinal fluid hypocretin-1 (Orexin-A) levels in control and depressed subjects *Biol. Psychiatry*, 54 (2003), pp. 96–104.

Ramoz N, Cai G, Reichert JG, Corwin TE, Kryzak LA, Smith CJ, Silverman JM, Hollander E, Buxbaum JD. [Family-based association study of TPH1 and TPH2 polymorphisms in autism](#). *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2006 Dec 5;141B(8):861-7.

Rebecca J. Griffin, Aileen Moloney, Mary Kelli, Cora O'Neil. Activation of Akt/PKB, increased phosphorylation of Akt substrates and loss and altered distribution of Akt and PTEN are features of Alzheimer's disease pathology. *Journal of Neurochemistry* 2005.

Remy I. Michnick SW. 2004. Regulation of apoptosis by the Ft1 protein, a new modulator of protein kinase B/Akt *Mol Cell Biol* 24: 1493–1504.

Richardson GS, Carskadon MA, Orav EJ, Dement WC. Circadian variation of sleep tendency in elderly and young adult subjects. *Sleep*. 1982;5(Suppl 2):S82-94.

Riemann D, Voderholzer U. Primary insomnia: a risk factor to develop depression? *J Affect Disord*. 2003;76(1-3):255-9.

Ritchie K, Lovestone S. The dementias. *Lancet*. 2002 Nov 30;360(9347):1759-66.

Rolf Fronczek, Sarita van Geest, Marijke Frölich, Sebastiaan Overeem, Freek W.C. Roelandse, Gert Jan Lammers, Dick F. Swaab Hypocretin (orexin) loss in Alzheimer's disease. **Neurobiology of Aging** Volume 33, Issue 8, Pages 1642-1650, August 2012.

Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JR, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, Annan RS, McNulty DE, Liu WS, Terrett JA, Elshourbagy NA, Bergsma DJ, Yanagisawa M. [Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior](#). *Cell*. 1998 Mar 6;92(5):1

Sakurai, A. Amemiya, M. Ishii, I. Matsuzaki, R.M. Chemelli, H. Tanaka et al. Orexins and orexin receptors; a family of hypothalamic neuropeptides and G-protein coupled receptors that regulate feeding behavior *Cell*, 92 (1998), pp. 573–585.

Sanna [PP](#)¹, [Cammalleri M](#), [Berton F](#), [Simpson C](#), [Lutjens R](#), [Bloom FE](#), [Francesconi W](#). Phosphatidylinositol 3-kinase is required for the expression but not for the induction or the maintenance of long-term potentiation in the hippocampal CA1 region. *J Neurosci*. 2002 May 1;22(9):3359-65.

Sato TK, Yamada RG, Ukai H, Baggs JE, Miraglia LJ, Kobayashi TJ, Welsh DK, Kay SA, Ueda HR, Hogenesch JB. [Feedback repression is required for mammalian circadian clock function](#). *Nat Genet*. 2006 Mar;38(3):312-9. Epub 2006 Feb 12.

Sczufca et al. Subjective memory deficits in people with and without dementia: findings from the 10/66 dementia research group pilot studies in low- and middle-income countries. *J Am Geriatr Soc*. 2009 Nov;57(11):2118-24.

Scheid [MP](#)¹, [Woodgett JR](#). Unravelling the activation mechanisms of protein kinase B/Akt. *FEBS Lett*. 2003 Jul 3;546(1):108-12.

Scheuch K, Lautenschlager M, Grohmann M, Stahlberg S, Kirchheiner J, Zill P, Heinz A, Walther DJ, Priller J. (2007) [Characterization of a functional promoter polymorphism of the human tryptophan hydroxylase 2 gene in serotonergic raphe neurons](#). *Biol Psychiatry*. Dec 1;62(11):1288-94. Epub 2007 Jun 13.

Schomerus, G., Matschinger, H., Angermeyer, MC., (2009) The stigma of psychiatric treatment and help-seeking intentions for depression *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 259:298–306.

Schweitzer I, Tuckwell V, O'Brien J, Ames D. (2002) [Is late onset depression a prodrome to dementia?](#) *Int J Geriatr Psychiatry*. Nov;17(11):997-1005.

[Scott BA](#)¹, [Avidan MS](#), [Crowder CM](#). Regulation of hypoxic death in *C. elegans* by the insulin/IGF receptor homolog DAF-2. *Science*. 2002 Jun 28;296(5577):2388-91. Epub 2002 Jun 13.

Selbach O, Eriksson KS, Haas HL. [Drugs to interfere with orexins \(hypocretins\)](#). *Drug News Perspect*. 2003 Dec;16(10):669-81. Review.

Serretti A, Benedetti F, Mandelli L, et al. 2008. Association between GSK-3beta -50T/C polymorphism and personality and psychotic symptoms in mood disorders. *Psychiatry Res* 158: 132–140.

[Sheehan DV](#)¹, [Lecrubier Y](#), [Sheehan KH](#), [Amorim P](#), [Janavs J](#), [Weiller E](#), [Hergueta T](#), [Baker R](#), [Dunbar GC](#). The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J Clin Psychiatry*. 1998;59 Suppl 20:22-33;quiz 34-57.

Sheikh JI, Yesavage JA. 1985. A knowledge assessment test for geriatric psychiatry. *Hosp Community Psychiatry* 36(11): 1160–1166.

Sheikh JL, Yesavage JA (1986) Geriatric depression scale (GDS): recent evidence and development of a shorter version. In: BRINK TL. Clinical gerontology: guide to assessment and intervention. Haworth, New York. 163-173.

Silva VC, Ramos FJ, Freitas EM, de Brito-Marques PR, Cavalcanti MN, D'Almeida V, Cabral-Filho JE, Muniz MT. [Alzheimer's disease in Brazilian elderly has a relation with homocysteine but not with MTHFR polymorphisms.](#) Arq Neuropsiquiatr. 2006 Dec;64(4):941-5.

Skoog I. Psychiatric epidemiology of old age: the H70 study--the NAPE lecture 2003. Acta Psychiatr Scand. 2004 Jan;109(1):4-18.

Skoog I. [Subcortical vascular dementia.](#) Clin Neuropsychol. 2004 Feb;18(1):4-5.

Smith PJ, Blumenthal JA, Babyak MA, Hoffman BM, Doraiswamy PM, Waugh R, Hinderliter A, Sherwood A. [Cerebrovascular risk factors, vascular disease, and neuropsychological outcomes in adults with major depression.](#) Psychosom Med. 2007 Jul-Aug;69(6):578-86.

Song K, Wang H, Krebs TL, Danielpour D. [Novel roles of Akt and mTOR in suppressing TGF-beta/ALK5-mediated Smad3 activation.](#) EMBO J. 2006 Jan 11;25(1):58-69.

Speck CE, Kukull WA, Brenner DE, Bowen JD, McCormick WC, Teri L, Pfanschmidt ML, Thompson JD, Larson EB. History of depression as a risk factor for Alzheimer's disease. Epidemiology. 1995;6:366-369.

Stein TD, Johnson JA. 2002. Lack of neurodegeneration in transgenic mice overexpressing mutant amyloid precursor protein is associated with increased levels of transthyretin and the activation of cell survival pathways. J Neurosci 22.

Stek ML, Gussekloo J, Beekman AT, van Tilburg W, Westendorp RG (2004) Prevalence, correlates and recognition of depression in the oldest old: the Leiden 85-plus study.. J Affect Disord 78: 193-200.

Stevens DR, Kuramasu A, Eriksson KS, Selbach O, Haas HL. Alpha 2-adrenergic receptor-mediated presynaptic inhibition of GABAergic IPSPs in rat histaminergic neurons. Neuropharmacology. 2004 Jun;46(7):1018-22.

Taheri S, Mignot E. [The genetics of sleep disorders.](#) Lancet Neurol. 2002 Aug;1(4):242-50. Review.

Taheri S, Zeitzer J M, Mignot E. The role of hypocretins (orexins) in sleep regulation and narcolepsy. Annu Rev Neurosci. 2002;25:283-313.

Takahashi JS, Hong HK, Ko CH, McDearmon EL (2008) The genetics of mammalian circadian order and disorder: implications for physiology and disease. Nat Rev Genet 9: 764–775.

Tamai, S. Epidemiologia do Envelhecimento no Brasil. Em: Forlenza, O. V, Almeida, O. P. (1999). Depressão e Demência no Idoso, 2ª edição. (p. 11-24). São Paulo: Lemos Editorial.

Thomas AJ, Kalaria RN, O'Brien JT. [Depression and vascular disease: what is the relationship?](#) J Affect Disord. 2004 Apr;79(1-3):81-95. Review.

Thompson MD, Comings DE, Abu-Ghazalah R, Jereseh Y, Lin L, Wade J, Sakurai T, Tokita S,

Yoshida T, Tanaka H, Yanagisawa M, Burnham WM, Moldofsky H. Variants of the orexin2/hcrt2 receptor gene identified in patients with excessive daytime sleepiness and patients with Tourette's syndrome comorbidity. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2004 Aug 15;129B(1):69-75.

Tierney MC, Fisher RH, Lewis AJ, Zorzitto ML, Snow WG, Reid DW, Nieuwstraten P (1988) The NINCDS-ADRDA Work Group criteria diagnosis of probable Alzheimer's disease: A clinicopathologic study of 57 cases. *Neurology* 38:359-364.

Twarog, B. M., Page, I. H. (1953). Serotonin content of some mammalian tissues and urine and a method for its determination. *Am. J. Physiol.* 175:157-61.

Van Den Pol AN, Hypothalamic hypocretin (orexin): robust innervation of the spinal cord. *J Neurosci.* 1999 Apr 15;19(8):3171-82.

Van Den Pol AN, Hypothalamic hypocretin (orexin): robust innervation of the spinal cord. *J Neurosci.* 1999 Apr 15;19(8):3171-82.

Vitiello MV, Bliwise DL, Prinz PN. Sleep in Alzheimer's disease and the sundown syndrome. *Neurology.* 1992;42(7 suppl 6):83-93.

Walther, DJ; Peter, JU; Bashammakh, S; Hortnagl, Heide; Voits, Mechthild; Fink, H; Bader, Michael (2003) -Synthesis of Serotonin by a Second Tryptophan Hydroxylase Isoform. *Brevia Neuroscience*, vol 299:76.

Waraich P, Goldner EM, Somers JM, Hsu L. 2004. Prevalence and incidence studies of mood disorders: a systematic review of the literature. *Can J Psychiatry* 49: 124–138.

Wehr TA. [A 'clock for all seasons' in the human brain.](#) *Prog Brain Res.* 1996;111:321-42. Review.

Wei W, Wang X, Kusiak JW. 2002. Signaling events in amyloid beta-peptide-induced neuronal death and insulin-like growth factor I protection. *J Biol Chem* 277: 17649–17656.

Weissman [MM](#)¹, [Bland RC](#), [Canino GJ](#), [Faravelli C](#), [Greenwald S](#), [Hwu HG](#), [Joyce PR](#), [Karam EG](#), [Lee CK](#), [Lellouch J](#), [Lépine JP](#), [Newman SC](#), [Rubio-Stipec M](#), [Wells JE](#), [Wickramaratne PJ](#), [Wittchen H](#), [Yeh EK](#). Cross-national epidemiology of major depression and bipolar disorder. [JAMA.](#) 1996 Jul 24-31;276(4):293-9.

[Whitmore D](#)¹, [Cermakian N](#), [Crosio C](#), [Foulkes NS](#), [Pando MP](#), [Travnickova Z](#), [Sassone-Corsi P](#). A clockwork organ. [Biol Chem.](#) 2000 Sep-Oct;381(9-10):793-800.

Wilson RS. [Advancing age, impending death, and declining cognition.](#) *Neurology.* 2008 Sep 16;71(12):874-5.

Wong, Ma-Li and Licino, Julio (2001) Research and Treatment Approaches to Depression. *Nature. Rev.* vol2, 343-351.

Wurtman, R.J. [Genes, stress, and depression.](#) *Metabolism.* (2005) May;54(5 Suppl 1):16-9.

Y. Fukunaka, T. Shinka, R. Hwang, H. Hori, K. Utsunomiya, S. Sakata, Y. Naoe, K. Shimizu, C. Matsumoto, O. Ohmori, J. Nakamura The orexin 1 receptor (HCRTR1) gene a susceptibility gene contributing to polydipsia–hyponatremia in schizophrenia *Neuromolecular Med.*, 9 (2007), pp. 292–297.

Yaffe K, Kanaya A, Lindquist K, Simonsick EM, Harris T, Shorr RI, Tylavsky FA, Newman AB. The Metabolic Syndrome, Inflammation, and Risk of Cognitive Decline. *JAMA* 2004;292:2237–2242.

Yamaguchi H, Ishiguro K, Uchida T, et al. 1996. Preferential labeling of Alzheimer neurofibrillary tangles with antisera for tau protein kinase (TPK) I/glycogen synthase kinase-3 beta and cyclin-dependent kinase 5, a component of TPK II. *Acta Neuropathol* 92: 232–241.

Zhang K, Yang C, Xu Y, et al. 2010. Genetic association of the interaction between the BDNF and GSK3B genes and major depressive disorder in a Chinese population. *J Neural Transm* 117: 393–401.

Zhang L, Ptáček LJ, Fu YH. Diversity of human clock genotypes and consequences. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2013;119:51-81.

Zhang X, Beaulieu JM, Sotnikova TD, Gainetdinov RR, Caron MG (2004) Tryptophan hydroxylase-2 controls brain serotonin synthesis. *Science* 305: 217.

Zhang X, Gainetdinov RR, Beaulieu JM, Sotnikova TD, Burch LH, Williams RB, Schwartz DA, Krishnan KR, Caron MG (2005) Loss-of-function mutant in tryptophan hydroxylase-2 identified in unipolar major depression. *Neuron* 45: 11-16.

Zill P, Baghai TC, Zwanzger P, Schüle C, Eser D, Rupprecht R, Möller HJ, Bondy B, Ackenheil M (2004) SNP and haplotype analysis of a novel tryptophan hydroxylase isoform (TPH2) gene provide evidence for association with major depression. *Mol Psychiatry* 9: 1030-1036.