UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

ANA FLÁVIA MAC KNIGHT CARLETTI CASSANI

PERFUSÃO POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA *(ARTERIAL SPIN LABELING)* EM PACIENTES COM DOENÇA DE ALZHEIMER LEVE E COMPROMETIMENTO COGNITIVO LEVE E SUA RELAÇÃO COM O DESEMPENHO COGNITIVO.

CAMPINAS
2019

ANA FLÁVIA MAC KNIGHT CARLETTI CASSANI

PERFUSÃO POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA *(ARTERIAL SPIN LABELING)* EM PACIENTES COM DOENÇA DE ALZHEIMER LEVE E COMPROMETIMENTO COGNITIVO LEVE E SUA RELAÇÃO COM O DESEMPENHO COGNITIVO.

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Ciências, área Neurologia.

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCIO LUIZ FIGUEREDO BALTHAZAR

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA ALUNA ANA FLÁVIA MAC KNIGHT CARLETTI CASSANI E ORIENTADO PELO PROF. DR. MARCIO LUIZ FIGUEREDO BALTHAZAR.

CAMPINAS

2019

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): FAPESP, 2011/17092-0
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0599-1638

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

C193p

Carletti-Cassani, Ana Flávia Mac Knight, 1984-
Perfusão por ressonância magnética (arterial spin labeling) em pacientes com doença de Alzheimer leve e comprometimento cognitivo leve e sua relação com o desempenho cognitivo / Ana Flavia Mac Knight Carletti Cassani. – Campinas, SP : [s.n.], 2019.

Orientador: Márcio Luiz Figueredo Balthazar.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Doença de Alzheimer. 2. Fluxo sanguíneo cerebral. 3. Rede de modo padrão. 4. Rotulagem da rotação arterial. I. Balthazar, Márcio Luiz Figueredo, 1975-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Magnetic resonance brain perfusion (arterial spin labeling) in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment patients and its relationship with cognitive performance
Palavras-chave em inglês:
Alzheimer's disease
Cerebral blood flow
Default mode network
Arterial spin labeling
Área de concentração: Neurologia
Titulação: Mestra em Ciências
Banca examinadora:
Márcio Luiz Figueredo Balthazar [Orientador]
Jerusa Smid
Thiago Junqueira Ribeiro Rezende
Data de defesa: 31-01-2019
Programa de Pós-Graduação: Ciências Médicas

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO

[ANA FLÁVIA MAC KNIGHT CARLETTI CASSANI]

ORIENTADOR: Márcio Luiz Figueredo Balthazar

MEMBROS:

1. PROF. DR. Márcio Luiz Figueredo Balthazar

2. PROF. DR. Jerusa Smid

3. PROF. DR. Thiago Junqueira Ribeiro de Rezende

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da FCM.

Data: DATA DA DEFESA [31/01/2019]

À minha família, que aumentou duplamente durante esse processo,

que me apoiou tanto e é a alegria da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Não posso deixar de começar agradecendo à minha família. Primeiro por me incentivarem a viver esse aprendizado, dentro de uma vida profissional completamente clínica, se não fosse o incentivo de vocês, não teria embarcado nesse processo. Quero agradecer por todo apoio durante esse período, afinal.... Foi uma gravidez gemelar, meus dois tesouros chegando e virando minha (nossa) vida de ponta cabeça.... E dentro de tantas alegrias e correrias, vocês estiveram comigo durante o dia e madrugadas ajudando de todas as formas para eu terminar a dissertação. Fi, mãe, pai, Gael, Valentina e Laís muito obrigada!!!!

Não menos importante, meu agradecimento vai para essa minha AMIGA Camila Teixeira, que foi um presente ter conhecido e me mostrou o que é amizade, companheirismo, competência e foi quem viabilizou eu terminar o mestrado.

Quero agradecer muito ao nosso grupo de pesquisa, em especial a Marina e a Thamires que também me mostraram o valor da união de um grupo no processo de aprendizagem.

A todos do LNI que, de diferentes formas, participaram da construção desse conhecimento.

E um agradecimento especial ao meu orientador Marcio Balthazar que me deu a oportunidade de vivenciar o mundo da pesquisa e me proporcionou tanto conhecimento!!!

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro cedido diretamente e por toda infraestrutura que patrocinou sob o processo número 2011/17092-0.

Muito obrigada a todos!!!!

RESUMO

A demência da doença de Alzheimer (DDA) é a demência mais frequente na população idosa. Atualmente, o diagnóstico da DDA baseia-se basicamente em condições clínicas. No entanto, sabe-se que, mesmo antes das manifestações clínicas, há alterações fisiopatológicas na Doença de Alzheimer (DA). Assim, buscar evidências de biomarcadores para prever o risco de progressão para DDA serviria como uma oportunidade para intervenções "pré-clínicas". Muitos dos estudos sobre biomarcadores envolvem testes invasivos e caros, e a técnica *Arterial Spin Labeling* parece ser uma análise não invasiva e relativamente barata do fluxo sanguíneo cerebral (FSC). Portanto, o presente estudo tem como objetivo investigar se há diferença no FSC das regiões da Rede de Modo Padrão (DMN) de pacientes com diagnóstico de DDA e Comprometimento cognitivo leve (CCL) e sua relação com o desempenho cognitivo e se há relação entre as medidas do FSC dessas regiões com a concentração dos marcadores liquóricos da DA. Para isso, foram selecionados 62 sujeitos: 18 DDA leve, 22 CCL amnéstico e 28 sujeitos sem comprometimento cognitivo. Todos os participantes foram avaliados quanto à cognição global (teste de rastreio), memória episódica, atenção e funções executivas, linguagem e habilidade visuoespacial. A análise do FSC foi realizada por ressonância magnética (MRI). Para analisar o FSC das áreas da DMN (Córtex pré-frontal, Lobo temporal medial Direito e Esquerdo, Hipocampo Direito e Esquerdo, Córtex Parietal Direito e Esquedo e córtex cingulado posterior (PCC)), os valores de perfusão das áreas do DMN foram extraídos usando ROIs. A ANCOVA mostrou diferença entre os grupos (controlamos por idade, escolaridade e sexo) nas áreas parietal direita e esquerda (F=1,94, p=0,05 e F=5,26, p=0,008, respectivamente). O teste post-hoc mostrou que o grupo controle apresentou maior perfusão na região parietal esquerda quando comparado ao grupo com DDA leve (p = 0,006). A regressão por *Stepwise* nos mostrou modelos em que a perfusão na área parietal direitas pode explicar a memória episódica e a linguagem (r^2 = 0,237, p=0,01 e r^2 = 0,375, p= 0,03 respectivamente), e a perfusão nas áreas do PCC e do parietal esquerdo podem explicar a atenção e as funções executivas (r^2 = 0,134, p=0,02). Não houve correlação significativa entre os marcadores liquóricos e FSC das áreas da DMN. Nossos resultados mostram que há uma diferença no FSC nas áreas de DMN entre pacientes com DDA leve e controles, e que o FSC nas áreas parietal e PCC podem explicar o desempenho cognitivo de idosos, podendo servir como um potencial biomarcador para a DA.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer; Fluxo Sanguíneo Cerebral; *Arterial Spin Labeling,* Rede de Modo padrão.

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is the most frequent dementia in the elderly population. Currently, the diagnosis of AD is basically based on clinical conditions. However, it is known that even before the clinical manifestations there are pathophysiological changes in AD. Thus, raising the evidence for biomarkers to predict the risk of progression to AD would serve as an opportunity for 'preclinical' interventions. Most biomarker studies now involve invasive and expensive tests, and Arterial Spin Labeling seems to be a non- invasive and relatively cheap analysis of brain perfusion. Therefore, the present study aims to investigate if there is difference in the cerebral perfusion of patients diagnosed with AD and CCL and its relationship with cognitive performance and if there is a relation between the FSC measurements of these regions with the concentration of the cerebrospinal fluid markers of AD . For this, 62 subjects were selected: 18 mild AD, 22 amnestic CCL and 28 subjects without cognitive impairment. All participants were assessed in their cognitive status, episodic memory, attention and executive functions, language and visuospatial ability. Perfusion analysis was performed through magnetic resonance imaging (MRI). In order to analyze the perfusion of the areas of the Default Mode Network (DMN), the perfusion values of the areas of the DMN were extracted using ROIs. ANCOVA showed a difference between the groups (controlling for age, schooling and sex) in the right and left parietal areas ($F=1.94$, $p=0.05$ e $F=5.26$, $p=0.008$, respectively). Bonferroni test showed that the control group presented higher perfusion in the left parietal area than the mild AD group ($p = 0.006$). In the models using the Stepwise regression, the perfusion in the right parietal areas can explain the episodic memory and language ($r^2 = 0.237$, $p=0.01$ e $r^2 = 0.375$, $p= 0.03$ respectively), and the areas of the PCC and left parietal can explain attention and executive functions ($r^2 = 0.134$, $p=0.02$). There was no correlation between CSF biomarkers and CBF from DMN areas. Our results show that there is a difference in brain perfusion in the areas of DMN between patients with mild AD and controls, and that perfusion in these areas may explain the cognitive status of these patients.

Keywords: Alzheimer Disease; Cerebral Blood Flow; Arterial Spin Labeling; Default Mode Network.

Lista de Figuras

Figura I: Imagem ilustrativa da aquisição da imagem em perfusão por *ASL.* 22

Figura II: ROIS - Default Mode Network 32

Lista de Tabelas

Tabela I: Dados demográficos e neuropsicológicos dos controles e pacientes CCLa e DA leve e comparação entre grupos. **35**

Tabela II: Valores médios e de desvio padrão do FSC para cada ROI e comparação entre grupos. **36**

Tabela III: Modelo da análise de regressão *stepwise* com valores de fluxo sanguíneo cerebral (FSC) como preditores da performance em funções cognitivas. **37**

Lista de abreviaturas

APOE ε4- alelo ε4 da apolipoproteína E

ASL – Arterial Spin Labeling

βA – peptídeo beta-amiloide

BAI -Inventário Beck de ansiedade

BDI - Inventário Beck de depressão

BHE- barreira hematoencefálica

BOLD - Blood Oxygenation Level Dependent effect (Efeito Dependente de Nível de Oxigenação Sanguínea)

CASL - ASL contínuo

CCL – comprometimento cognitivo leve

CCLa – comprometimento cognitivo leve amnéstico

DA – doença de Alzheimer

DDA – Demência da doença de Alzheimer

DMN – *default mode network*, rede de modo padrão

ENF - emaranhados neurofibrilares

FSC – fluxo sanguíneo cerebral

FVF- fluência verbal fonêmica

FVS- fluência verbal semântica

LCR – líquido cefalorraquidiano

LNI- Teste de percepção vísuoespacial do Luria Neuropsychological Investigation

NIA/AA National Institute on Aging e Alzheimer's Association

PASL - ASL pulsado

pCASL - ASL pseudocontínuo

PCC – córtex cingulado posterior

PET - tomografia por emissão de pósitrons.

PET-FDG – ^{18}F-fluor-deoxi-2-glicose *positron emission tomography*, tomografia por emissão de pósitrons.

PN- placas neuríticas

p-tau – proteína tau fosforilada

RAVLT- teste de Aprendizado auditivo-verbal de Rey

RM – ressonância magnética

RMf – ressonância magnética funcional

SPECT - tomografia computadorizada por emissão de fóton único.

TMT A- teste de trilhas parte A

TMT B- teste de trilhas parte B

t-tau – proteína tau total

Sumário

01	INTRODUÇÃO	16
	Envelhecimento	16
	A doença de Alzheimer e Comprometimento Cognitivo Leve	17
	Biomarcadores para doença de Alzheimer	20
	Alterações do fluxo sanguíneo cerebral na doença de Alzheimer	20
	Arterial spin labeling- Perfusão avaliada por Ressonância Magnética	21
	Rede de Modo Padrão- Default Mode Network (DMN)	23
02	OBJETIVOS	25
03	MÉTODOS	26
	Participantes	26
	Protocolo de Avaliação	27
	Avaliação Neuropsicológica	27
	Exames de Sangue e LCR	31
	Avaliação por Ressonância Magnética	31
	Análise Estatística	32
04	RESULTADOS	34
	Características dos participantes	34
	Diferenças no FSC entre grupos	36

	Relação entre marcadores liquóricos e FSC	36
	Relação entre FSC e desempenho cognitivo	37
05	DISCUSSÃO	38
	Diferenças no FSC da DMN entre DDA, CCla e controles	38
	Relação entre perfusão e domínios cognitivos	40
	Relação entre marcadores liquóricos e FSC	42
06	CONCLUSÕES	44
07	REFERÊNCIAS	45
08	APÊNDICE	53
	Apêndice 1- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para sujeitos normais - controles	53
	Apêndice 2- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) - para pacientes com sintomas clínicos de Doença de Alzheimer e Comprometimento Cognitivo Leve	58
09	ANEXOS	63
	Anexo 1- Parecer consubstanciado do CEP referente à pesquisa "Biomarcadores na doença de Alzheimer e Comprometimento Cognitivo Leve: estudo de métodos de Ressonância Magnética funcional e marcadores liquóricos e plasmáticos" do PROF. DR. Márcio Luiz Figueredo Balthazar	63
	Emenda de inclusão do atual projeto no CEP do projeto do PROF. DR. Márcio Luiz Figueredo Balthazar	66
	Anexo 2- Protocolo de avaliação neuropsicológica	74

1. INTRODUÇÃO

Envelhecimento

O Brasil teve seu perfil demográfico transformado a partir da década de 70. Passou de uma sociedade predominantemente rural, a qual suas famílias eram numerosas com um alto índice de morte prematura, para uma sociedade principalmente urbana, com menos filhos e maior expectativa de vida (1). A transição demográfica iniciou com a queda na taxa de mortalidade e, posteriormente, na taxa de natalidade, provocando uma mudança na estrutura da faixa etária da população (2). Dessa forma, o maior crescimento da população passou a ser da faixa etária a partir de 60 anos de idade. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, de 2005 para 2015, a proporção de idosos acima de 60 anos no Brasil, passou de 9,8% para 14,3%. Em 2017 chegou a marca de 30,2 milhões de idosos (3). E assim, com o aumento do número de pessoas idosas, também vem crescendo a prevalência de doenças crônicas e incapacitantes, uma vez que a qualidade de vida não acompanhou esse crescimento de forma proporcional (4).

Entretanto, a mudança no perfil demográfico e o aumento dos casos de demência não ocorreram apenas no Brasil. Uma revisão de estudos epidemiológicos, publicados entre 1994 e 2000, mostrou as taxas de prevalência de demência variando entre de 1,17%, na faixa de 65-69 anos, a 54,83%, na faixa acima de 95 anos (5). Uma revisão mais recente, contendo 147 estudos realizados entre 1980 a 2009, mostrou uma prevalência de demência para indivíduos com 60 anos ou mais de 5-7%, sendo que em 2010 já existiam cerca de 35,6 milhões de casos e a estimativa é que esse número dobre a cada 20 anos chegando a 65,7 milhões em 2030 e 115,4 milhões em 2050. (6). Além disso, acredita-se que a maior parte dessa população com demência estará em países com menor poder econômico, como o Brasil (6, 7). Com relação à população brasileira, a prevalência de demência é entre 5,1% e 17,1%, sendo a Doença de Alzheimer (DA) a mais prevalente entre as demências (8). A demência da DA corresponde a cerca de 60 a 80% dos casos de demência, e a prevalência aumenta com o envelhecimento: 3% entre 65-74 anos para quase 50% após 85 (7). Diante desse quadro, em 2011, o *The World Alzheimer Report* recomendou o investimento no diagnóstico e intervenção precoce para uma economia dos gastos públicos com a doença (6, 7).

A demência da doença de Alzheimer e Comprometimento Cognitivo Leve

A demência da Doença de Alzheimer (DDA) é caracterizada por progressivo declínio cognitivo, distúrbios neuropsiquiátricos e perda das habilidades para a realização de atividades do dia a dia, resultando em um comprometimento na autonomia e independência funcional (6, 7). Neuropatologicamente, é definida pela presença anormal de placas neuríticas (PN), emaranhados neurofibrilares (ENF) e diminuição de densidade sináptica. As PN são compostas por um núcleo central contendo o peptídeo beta-amiloide (βA) (9) e os ENF contêm filamentos helicoidais pareados originados da hiperfosforilação da proteína tau (uma proteína associada aos microtúbulos), que geram desestabilização do citoesqueleto celular e morte neuronal (10, 11). Além disso, existem alguns fatores de risco conhecidos para a DA de início tardio, como idade, doenças vasculares e fatores genéticos como a presença do alelo ε4 da apolipoproteína E (APOE ε4) - proteína transportadora de colesterol envolvida no metabolismo das PN (12).

Tradicionalmente a DA foi definida por critérios clínicos e patológicos (13) e assim, a DDA é primariamente diagnosticada através de exame clínico, testes cognitivos e neuropsicológicos (14) A forma mais comum de apresentação dos sintomas cognitivos ocorre incialmente por déficits relacionados à memória e, nesses casos, a apresentação é chamada de amnéstica (15). O comprometimento mnemônico na DDA está relacionado principalmente à memória episódica que se refere à recordação consciente de fatos e eventos definidos no tempo e espaço (16). Posteriormente, a capacidade de memória semântica também apresenta um declínio e estas alterações mantêm paralelo com a evolução neuropatológica da doença (17). No dia a dia, essas dificuldades são observadas em atividades em que é necessário o armazenamento de uma informação por um período de tempo e ou é necessário aprender um conteúdo novo como, por exemplo, lembrar-se de uma conversa, lembrar-se de uma lista de compras. Já no processo diagnóstico, a memória episódica é avaliada por diversos testes como, por exemplo, aprendizagem de histórias e lista de palavras e o déficit mais comumente encontrado está relacionado à capacidade de aprender, reter e reconhecer as informações (18, 19). No teste de aprendizagem auditivo-verbal de Rey- RAVLT (lista de palavras), por exemplo, os pacientes com DDA apresentam pior desempenho em relação aos controles e as diferenças mais importantes estão relacionadas ao total de palavras evocadas ao longo das 5 etapas da aprendizagem e no índice de evocação tardia (20, 21) e, a alteração na fase do reconhecimento, ajuda na diferenciação da DDA para outras demências subcorticais uma vez

que pacientes com DDA tendem a manter o mau desempenho em fase de reconhecimento enquanto nas outras demências é observada uma melhora nessa etapa (22).

Além disso, outros domínios cognitivos também podem estar alterados na fase inicial da DDA. Para a linguagem, muitas vezes são observadas dificuldades semântico-discursivas, na interpretação de provérbios e metáforas, como também na compreensão da "moral da história" e de ironia, além de déficits semântico-léxicos parecidos com os encontrados nas afasias semânticas (23). Déficits nas funções executivas também são comumente observados na fase inicial da DDA e, nesse caso, são observados dificuldades relacionadas ao planejamento, autorregulação, raciocínio, julgamento e resolução de problemas (15). Já as alterações visuoespaciais, segundo alguns estudos, não são habitualmente encontradas na fase inicial da DDA (24, 25), apenas nas apresentações atípicas da doença, como na síndrome de disfunção cortical posterior, nas quais os déficits são caracterizados por prejuízos principalmente de cognição espacial incluindo agnosia, reconhecimento de faces e alexia (15).

Apesar do diagnóstico ser clínico, pesquisas indicam que o processo fisiopatológico da DA inicia-se anos antes do aparecimento dos sintomas cognitivos. Sendo assim, em 2011, o National Institute on Aging e Alzheimer's Association (NIA-AA), realizaram novas diretrizes diagnósticas para a DA em relação aos critérios de 1984, apenas para fins de pesquisa: ao invés do diagnóstico da DA ser dado apenas para sujeitos com demência, passou a serem reconhecidos 3 estágios de progressão da DA, e os biomarcadores (marcadores biológicos da doença) também foram incorporados ao diagnóstico (13, 26).

Os 3 estágios da doença estabelecidos em 2011 foram classificados da seguinte forma: O primeiro deles foi chamado de fase "pré-clínica da DA", a qual ocorre antes de mudanças na cognição e atividades cotidianas observáveis, não apresentando assim nenhum sintoma clínico, enquanto nos testes cognitivos pode ser observado apenas um desempenho pior em tarefas mais desafiadoras. Porém, esse estágio é caracterizado por mudanças mensuráveis em biomarcadores detectáveis no líquido cefalorraquidiano (LCR) e/ou PET amiloide e tau e, posteriormente, por outros exames de imagem estrutural. Atualmente, o critério clínico para o diagnóstico da fase "pré-clínica da DA" é apenas o sujeito apresentar-se "normal" clinicamente e apresentar alteração pelo menos nos biomarcadores relacionados ao amiloide. O objetivo principal desse diagnóstico é fornecer uma base teórica para que os pesquisadores possam definir melhor como essas pessoas evoluirão ao longo do tempo. O segundo estágio é chamado de Comprometimento Cognitivo Leve (CCL) com alto risco para DA, quando

sintomas cognitivos passam a ser observáveis. Alterações leves na memória e outras capacidades cognitivas observadas pelos pacientes e/ou familiares passam a ser detectadas em avaliação mais cuidadosa, mas os déficits ainda não são suficientes para interferir nas atividades de vida diária. O terceiro estágio chamado de DDA é diagnosticado quando não apenas uma ou mais funções cognitivas estão prejudicadas, mas também as funções do dia-a-dia (13). Em 2018, o NIA-AA lançou novos critérios de pesquisa também agregando processos fisiopatológicos e a DA sendo definida por biomarcadores in vivo e por alterações patológicas *post mortem*. A mais recente proposta também inclui uma categorização de gravidade e, dois tipos de informações sobre o paciente são levandos em consideração de forma independente uma da outra. O primeiro deles é a classificação da gravidade da doença em nível fisiopatológico através dos biomarcadores e a segunda é a classificação gravidade do comprometimento cognitivo (27). Por ser uma classificação muito recente, contudo, essa classificação não foi utilizada na presente pesquisa.

Como citado acima, um dos estágios de classificação da DA á o termo Comprometimento Cognitivo Leve (CCL), o qual caracteriza idosos que apresentam declínio em um ou mais domínios cognitivos, mas possuem desempenho sócio funcional normal (28, 29). A prevalência de sujeitos com CCL na população idosa brasileira parece ser diferente de acordo com a região estudada e o critério definidor escolhido, variando em nosso meio desde 6,1% em Porto Alegre (RS) (30) até 19,5% em Tremembé (SP) (31).

Existem dois subtipos de CCL identificados de acordo com o comprometimento da memória episódica: amnéstico e não-amnéstico. O CCL amnéstico (CCLa) apresenta maior chance de evoluir para a DDA do que o não amnéstico (32). A taxa de conversão para demência entre os sujeitos com CCL apresenta grande amplitude, em torno de 10-40% - comparados com 1-2% em idosos saudáveis (33, 34). E essa amplitude se dá pelo fato de que nem todo paciente diagnosticado como CCL converterá para DDA (35, 36), além de diferenças metodológicas no processo de avaliação e a mesma depender de informações de familiares e do paciente. Sendo assim, para uma intervenção mais eficaz, é necessário um diagnóstico preciso, visto que, como descrito, o diagnóstico de DDA é feito primariamente com base nas definições clínicas da demência e exclusão de outros fatores.

Apesar de o diagnóstico de DDA e CCL serem feitos através de exames clínicos, a busca de biomarcadores da doença é importante para facilitar o diagnóstico final, não apenas nas fases iniciais da doença, mas também antes que haja o aparecimento de demência.

Exames de ressonância magnética e análise molecular do LCR e de medicina nuclear podem servir como apoio para o diagnóstico e busca desses marcadores da doença.

Biomarcadores para doença de Alzheimer

Os biomarcadores para a DA são de diferentes classes e podem estar presentes nos indivíduos até décadas antes da apresentação clínica da doença (15, 37, 38). Alguns deles estão relacionados a proteínas chaves no cérebro como o peptídeo βA, depositado em placas neuríticas e a proteína Tau (Total e fosforilada), componente principal dos ENF (15, 39, 40).

Recentemente, a NIA-AA (27), publicou uma nova classificação para a gravidade da doença em nível fisiopatológico através dos biomarcadores. A divisão foi rotulada em AT(N), com base na natureza do processo patológico que cada um mede. Os biomarcadores das placas βA foram rotulados como "A" e são considerados os amiloides corticais analisados pelo exame PET (Tomografia de emissão de pósitrons, utilizando radioisótopos ligantes ao amiloide) (41, 42) ou a diminuição de βA no LCR (43). O "T" refere-se à biomarcadores da tau, na sua forma fosforilada (p-tau) no LCR ou a presença dessa proteína em áreas corticais (analisadas por exames de PET) (44, 45). E os biomarcadores de neurodegeneração ou lesão neuronal, rotulados como "(N)" são hipometabolismo apontados pelo no PET-FDG (46), ou a presença da proteína tau total (t-tau) no LCR (47) e ou atrofia cortical apontada pelo exame de imagem.

Pensando nos biomarcadores rotulados como "(N)" medidas estruturais de Ressonância Magnética do lobo temporal medial, mais especificamente de volume de hipocampo, diferenciam pacientes com DDA dos outros, uma vez que existe uma degeneração dessa região desde as fases inicias da doença (48, 49). Um grande número de estudos de PET e tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT) em pacientes com DA documentou padrões específicos de hipometabolismo e hipoperfusão no córtex cingulado posterior (PCC) e precúneo nos estágios inicais da doença, seguidos de reduções nos córtex temporo-parietal bilaterais enquanto o córtex frontal foi afetado em estágios mais avançados (50-52).

Alterações do fluxo sanguíneo cerebral na doença de Alzheimer

A hipoperfusão também pode ser sinal de neurodegeneração. O fluxo sangusanguíneo cerebral (FSC) refere-se à taxa de distribuição de sangue arterial ao leito capilar no tecido cerebral e é quantificado em mililitros de sangue por 100 g de tecido cerebral por minuto. Estudos indicam que o FSC pode estimar medidas do metabolismo de

glicose o qual está relacionado com disfunçao neuronal (53, 54) e essa correlação entre o FSC e a atividade neuronal local e o metabolismo, conhecida como "neurovascular coupling" ou acoplamento neurovascular, é um marcador substituto da função cerebral (55).

A hipoperfusão e o desacoplamento neurovascular contribuem para a patogênese da DA. A principal via de disfunção vascular associada à DA inclui a ruptura da barreira hematoencefálica (BHE), hipóxia hipoperfusional e disfunção metabólica endotelial. A redução do FSC pode levar ao acúmulo de proteinas no cérebro, incluindo βA e tau hiperfosforilada, que são os principais substratos patológicos da DA (56). Por outro lado, a βA poderia induzir disfunção cerebrovascular (57). Dessa forma, ainda é discutível se o FSC reduzido é a causa ou consequência da DA (58). Zlokovic (59) sugeriu as duas hipóteses vasculares e assim, os danos primários à microcirculação cerebral iniciam a disfunção e lesão neuronal mediada por vasos, incluindo disfunção da BHE, vazamento e secreção de moléculas neurotóxicas e múltiplas lesões focais isquêmicas ou hipóxicas. Em seguida, o acúmulo βA, devido ao comprometimento da depuração (disfunção da BHE) e aumento da degeração (isquemia), prejudica ainda mais o cérebro (60).

Estudos sobre FSC mostram indícios de que alterações na perfusão podem ocorrer em fase precoce da DA. Alterações do FSC foram capazes de prever o declínio cognitivo e a conversão para demência. Além disso, a redução do FSC no PCC parece estar associada à deterioração da cognição em idosos saudáveis e pode predizer o desenvolvimento de CCL ou demência (61). Também foi descoberto que a mudança no FSC e na conectividade funcional em idosos com alto risco para DA ocorreram antes mesmo do declínio cognitivo, atrofia cerebral e acúmulo de βA (62, 63). Em outro estudo, não somente a redução do FSC no giro frontal médio direito se correlacionou com o declínio da memória, e no precúneo e córtex parietal inferior direito com declínio das funções executivas, mas também a hipoperfusão em algumas regiões foi um preditor de conversão à demência em pacientes com CCL (64).

Arterial spin labeling- P*erfusão avaliada por Ressonância Magnética*

A perfusão por ressonância Magnética - *arterial spin labeling (ASL)* é uma técnica para análise do fluxo sanguíneo na qual as moléculas de água do sangue arterial são magneticamente marcadas proximalmente à área de interesse. Em seguida, o fluxo sanguíneo pode ser medido com uma sequência de imagens de RM padrão e comparado a imagens controle não marcadas como demonstrado na figura 1(65, 66).

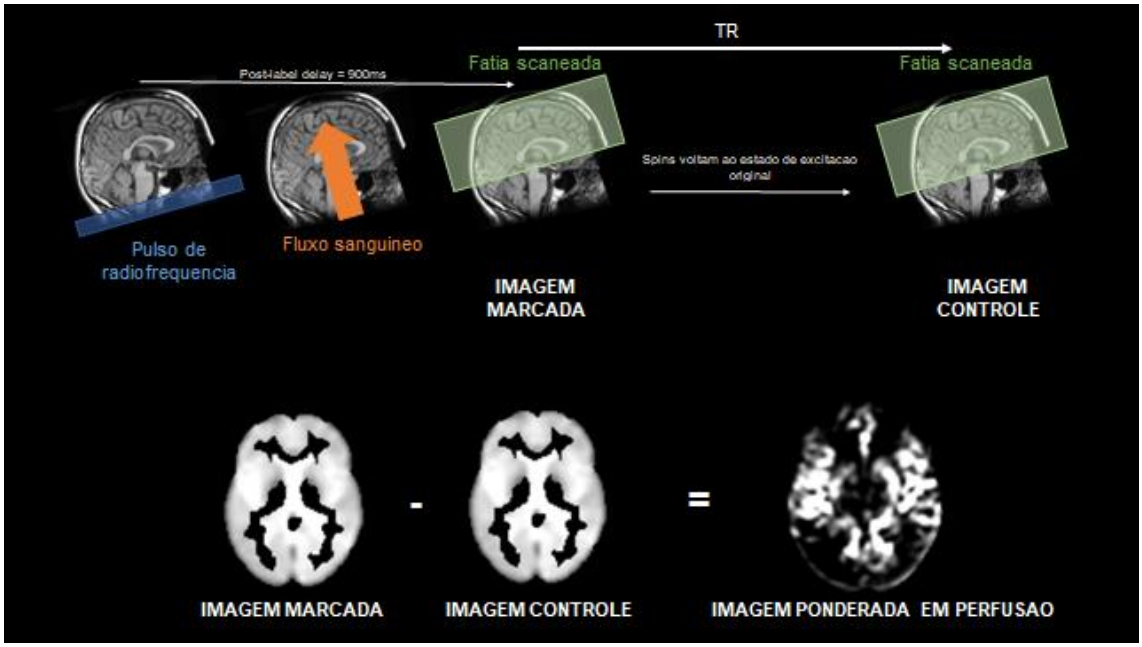


Figura 1: Imagem ilustrativa da aquisição da imagem em perfusão por *ASL* produzida por Marina Weiler.

Com base em diferentes formas de rotulagem do próton de hidrogênio das moléculas de água, os métodos ASL são classificados como ASL contínuo (CASL), ASL pulsado (PASL) e ASL pseudocontínuo (pCASL). O CASL usa um único pulso longo, o PASL usa um ou vários pulsos curtos, enquanto o pCASL aplica uma série de pulsos de radiofrequência em torno de um por milissegundo (66) e o fluxo de sangue quantificado por regiões ou por todo cérebro (67, 68).

Essa técnica vem se destacando nos últimos anos devido a algumas vantagens que ela apresenta. A ASL apresenta caráter não invasivo e menos oneroso, pois o estudo é feito pela utilização da água no sangue como um marcador endógeno ao passo que as outras técnicas se utilizam de elementos radioativos para a marcação do sangue. (69). Apresenta uma boa acessibilidade, uma vez que a maior parte dos hospitais possui uma máquina de ressonância magnética (67, 70). Além disso, foi demonstrado que o FSC medido com ASL está correlacionado com a conectividade funcional medida com imagens dependentes de oxigênio no sangue (BOLD) em várias redes cerebrais (71) e, em comparação, com o sinal BOLD, o ASL tem menor variabilidade intersubjetiva e pode fornecer uma medida absolutamente quantitativa do FSC que reflete diretamente a fisiologia cerebral e a atividade neural (72).

Estudos prévios mostram que alterações no fluxo sanguíneo estão presentes mesmo em indivíduos saudáveis com risco aumentado de desenvolver DDA. Mostrou-se, por exemplo, 25% de aumento no fluxo sanguíneo na região do hipocampo em indivíduos com pelo menos um alelo E4 de APOE (risco aumentado) em relação a indivíduos sem o alelo

(67), porém esses achados são controversos. Em relação às alterações entre indivíduos saudáveis e CCL estudos revelam diminuição do fluxo sanguíneo nas regiões do PCC, precúneo, lobo parietal e lobo temporal medial (73) e, na região do lobo temporal inferior direito (67). Já os estudos de perfusão por ASL em pacientes com DDA, mostram hipoperfusão no precúneo, PCC e no lobo parietal inferior (74-76).

Verificou-se que a técnica ASL tem sensibilidade e especificidade semelhantes às do PET-FDG em distinguir pacientes DDA de controles saudáveis (77, 78). Ambas as sensibilidade e especificidade para detecção de DA foram 80% -90 %, baseado no FSC no PCC e precúneo (79).

Além dos estudos relacionados à perfusão em si, também se observou que o FSC medido com ASL correlacionou-se positivamente com volume cerebral normalizado e negativamente correlacionado com hiperintensidade da substância branca em pacientes com CCL e DDA (80, 81), sugerindo que o ASL pode ser útil como uma medida de disfunção microvascular e de neuro degeneração na DA (60).

Rede de Modo Padrão- Default mode network (DMN)

Outro potencial biomarcador da DA pode ser a conectividade funcional do cérebro. As redes neurofuncionais podem ser descritas como grupos de estruturas corticais e/ou subcorticais espacialmente distintas, mas funcionalmente conectadas (82). Essas redes podem ser identificadas pelo estudo do padrão de sincronia do sinal BOLD (*blood oxygenation level dependent*, dependente do nível de oxigenação do sangue), mesmo na ausência de um paradigma experimental ou estímulo externo – método conhecido como Ressonância Magnética funcional (RMf) de repouso ou conectividade funcional intrínseca (83). Interessantemente, essas redes neurofuncionais obtidas durante o repouso recapitulam e refletem a topografia que seria obtida durante determinadas tarefas cognitivas (84), e dentre elas destaca-se a rede de Modo Padrão (*Default Mode Network,* DMN). Essa rede é constituída por áreas como, o PCC, precúneo, córtex pré-frontal medial e formação hipocampal e suas estruturas anatômicas processam memória episódica, referência do "*self*" e cognição social (85, 86). Essa rede se ativa quando o indivíduo está engajado em tarefas de cunho interno, e é "desativada" quando há uma tarefa de cunho externo (87).

A DMN tem sido considerada importante para a investigação da DA, pois nas suas regiões ocorre o maior acúmulo de βA (26, 37, 88). Imagens de PET mostram, inclusive, que o PCC parece estar entre as primeiras áreas cerebrais a apresentar o acúmulo de βA (85).

Além desse acúmulo de βA no PCC, análises *post mortem* mostram acúmulo de ENF em áreas temporais, que também fazem parte da DMN (89). Somada as questões fisiopatológicas, estudos indicam que alterações nesta rede estão relacionadas com declínio cognitivo na DA, pois parece haver uma menor "desativação" da DMN quando o paciente com DA se engaja numa tarefa que exige atenção externa, por exemplo (90), além de uma menor conectividade da rede quando o paciente com DA está em "repouso" ou "*resting-state*" (ou seja, não engajado em nenhuma tarefa de cunho externo) (91). No entanto, esse padrão ainda não está claro para pacientes com CCL (92, 93). Dessa forma, apesar de ainda não ser considerada um biomarcador para DA, a análise da rede DMN está se tornando cada vez mais importante para a caracterização da doença (94).

Em relação ao FSC, uma meta análise envolvendo 17 estudos com pacientes com DA e sujeitos controle utilizando o método *Arterial Spin Labeling* identificou de forma consistente diminuição do FSC nas regiões do PCC, precúneo e lobo parietal inferior (95) que são regiões chave da DMN (96). Porém não há estudos que avaliam especificamente a perfusão da DMN e nem suas eventuais correlações com a clínica. Além disso, alguns estudos sugerem que a diminuição do FSC nessas regiões, especialmente no PCC e no precúneo, pode refletir um déficit funcional remoto causado pelo dano neuronal nas estruturas temporais mediais (97-99). Dessa forma, determinadas regiões da DMN que sejam menos perfundidas, poderiam causar mudança no sinal BOLD em determinada região da rede, causando a desintegração da conectividade como um todo.

Visto que existe uma sobreposição anatômica entre a fisiopatologia da doença, as regiões da DMN e regiões com hipoperfusão sanguínea (85), nosso objetivo no presente trabalho foi medir o fluxo sanguíneo especificamente da DMN em pacientes com DDA leve e CCLa devido à DA (com evidência fisiopatológica de DA) e, assim, avaliar se este método pode servir como outro potencial biomarcador da doença. Investigamos também se o fluxo sanguíneo dessas regiões está relacionado à performance cognitiva dos sujeitos.

3. OBJETIVOS

1) Avaliar se há diferença de fluxo sanguíneo cerebral (FSC) nas regiões da DMN aferida pelo de método de perfusão *Arterial Spin Labeling (ASL)* em pacientes com DDA leve, CCL amnéstico devido à DA e controles;
2) Verificar se há relação de medidas de FSC dessas áreas com a performance cognitiva dos participantes.
3) Avaliar se há relação entre as medidas de FSC dessas áreas com a concentração dos marcadores liquóricos da DA (βA, p tau, t tau).

4. METÓDOS

Esse trabalho fez parte do projeto intitulado como "Biomarcadores na doença de Alzheimer e Comprometimento Cognitivo Leve: estudo de métodos de Ressonância magnética funcional e marcadores liquóricos e plasmáticos", aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da Unicamp em 01/2013 com o número de parecer 188.021 (anexo 01). O termo de consentimento utilizado prevê o uso de dados clínicos, imagens de RM, avaliação neuropsicológica e exame de sangue e LCR. Na ocasião todos os sujeitos assinaram Termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice 01) antes de qualquer procedimento para este estudo.

Participantes

Foram selecionados, a partir de um banco de dados de nossa pesquisa, 18 pacientes diagnosticados com DDA, 22 com CCLa e 28 idosos cognitivamente saudáveis. Como critérios de inclusão e exclusão, utilizamos:

Critérios de inclusão

Grupo DDA:

- Critérios do *NI/AA* para DA provável (37)
- Escala Clinica de Demência (CDR) = 1 (101)
- Aβ < 416pg/ml e/ou Aβ/pTau < 9,53; (100).

Grupo CCL:

- Critérios do NIA/AA para CCL (37)
- Comprometimento objetivo, obrigatório e não necessariamente exclusivo de memória episódica (102)
- Escala Clinica de Demência (CDR) = 0,5 (101)
- Aβ < 416pg/ml e/ou Aβ/pTau < 9,53; (100).

Grupo Idosos cognitivamente saudáveis:

- Escala Clinica de Demência (CDR) = 0 (101).
- MEEM acima da nota de corte (102)
- Imagens estruturais sem alteração

Critérios de exclusão

- História de outra doença neurológica ou psiquiátrica prévia;

- História de traumatismo crânio-encefálico com perda de consciência por mais de 30 minutos
- História de exposição crônica a substâncias neurotóxicas ou alcoolismo;
- Doença sistêmica descompensada;
- Uso de drogas sedativas/hipnóticas 24 horas antes dos testes neuropsicológicos;
- Dificuldade de entender ou executar os testes propostos;
- Escore isquêmico de Hachinski > 4 (103).
- Escala Fazekas > 1 (104)
- BAI > 10 (105)
- BDI > 11 (106)

Protocolo de Avaliação

Os pacientes foram incluídos após passarem por anamnese cuidadosa, inclusive com familiar ou responsável. As avaliações estão descritas abaixo.

Avaliação neuropsicológica

Todos os sujeitos foram submetidos a avaliação neuropsicológica abrangente, realizada por profissionais da psicologia que aplicaram os testes em uma sessão de aproximadamente 1 hora e meia. As aplicações ocorreram nos ambulatórios do HC da Unicamp e no laboratório de neuroimagem. Os seguintes testes cognitivos, funcionais e escalas neuropsiquiátricas foram aplicados (Anexo 02):

- Miniexame do Estado Mental (MEEM) – (107) adaptado ao Brasil por Bruck (102) Teste de rastreamento da demência que avalia orientação temporal, orientação espacial, memória imediata e de evocação (três palavras), atenção e cálculo (cinco subtrações numéricas seqüenciais), nomeação de dois objetos (caneta" e "lápis"), repetição de frase ("Nem aqui, nem ali, nem lá"), compreensão comando verbal ("Pegue o papel com a mão direita, dobre ao meio e coloque no chão"), escrita ("Escreva uma frase") e praxia construtiva (copiar o desenho de 2 pentágonos). A pontuação varia de 0 a 30 com aplicação em torno de 10 minutos.
- Avaliação Clínica da Demência - Clinical Dementia Rating (CDR) Morris – (101) Questionário semi-estruturado que avalia cognição e comportamento, além da influência das perdas cognitivas na capacidade de realizar adequadamente as atividades de vida diária. O instrumento está dividido em seis categorias: memória, orientação, julgamento ou solução de problemas, relações comunitárias, atividades no

lar ou de lazer e cuidados pessoais Para se chegar à classificação cada uma dessas seis categorias deve ser classificada em: 0 (nenhuma alteração); 0,5 (questionável); 1 (demência leve); 2 (demência moderada); e 3 (demência grave), exceto a categoria cuidados pessoais, que não tem o nível 0,5. A categoria memória é considerada principal, ou seja, com maior significado e as demais categorias são secundárias(108). A classificação final do CDR é obtida pela análise dessas classificações por categorias, seguindo um conjunto de regras elaboradas e validadas por Morris;

- Inventário Neuropsiquiátrico (109)- O INP avalia transtornos neuropsiquiátricos comumente encontrados nas demências. É um questionário que avalia de modo independente 12 domínios comportamentais (delírio, alucinações, tristeza, ansiedade, agitação/agressão, euforia, desinibição, irritabilidade/labilidade emocional, apatia, atividade motora aberrante, distúrbios do sono e do apetite). O acompanhante deve responder inicialmente a uma pergunta rastreio e, em caso de resultado positivo, avalia-se a frequência e a intensidade de cada item. O escore total para cada domínio é calculado pela multiplicação da frequência pela intensidade. A soma total dos itens fornece um escore total da escala que vai de 0 até 144 (110). Não há um ponto de corte ou um escore que corresponda a um quadro de episódio depressivo maior (escala de disforia), episódio maníaco (escala de euforia) ou distúrbio de ansiedade (escala de ansiedade), por se tratarem de um diagnóstico que deve ser feito baseado em dados clínicos e informações complementares fornecidos pelo INP. Noentanto a presença de delírio e/ou alucinações são anormais, e escores de depressão acima de 6, desinibição acima de 4 e irritabilidade acima de 2, não são considerados como população normal (saudável). Pontuação presente nas demais escalas – agitação, euforia, apatia e comportamento motor aberrante – não são comuns em sujeitos normais e podem ser considerados como evidência de alteração (111).
- Teste de Aprendizado auditivo-verbal de Rey - RAVLT (112)- É um teste que avalia processos de aprendizagem, evocação e reconhecimento da memória episódica. Consiste em uma lista de 15 substantivos (lista A) que é lida em voz alta para o sujeito com um intervalo de um segundo entre as palavras, por cinco vezes consecutivas (A1 a A5). Cada uma das tentativas é seguida por um teste de evocação espontânea. Depois da quinta tentativa, uma lista de interferência, também composta por 15 substantivos (lista B), é lida para o sujeito, sendo seguida da evocação da mesma (tentativa B1). Logo após a tentativa B1, é pedido ao sujeito que recorde as palavras da lista A, sem que ela seja, nesse momento, reapresentada (tentativa A6). Após um

intervalo de 20 minutos, que deve ser preenchido com outras atividades que não demandem raciocínio verbal, pede-se ao sujeito que se lembre das palavras da lista A (tentativa A7) sem que a lista seja lida para ele. Após a tentativa A7 é feito o teste de memória de reconhecimento, quando uma lista contendo 15 palavras da lista A, 15 palavras da lista B e 20 distratores (semelhantes às palavras de lista A e B em termos fonológicos ou semânticos) são lidas para o sujeito. A cada palavra lida, o sujeito deve indicar se ela pertence (ou não) à lista A(113).

- Teste de Nomeação de Boston (114) **-** Testes que avalia a capacidade de nomeação por confrontação visual. É composto de 60 itens desenhados em preto e branco, graduados segundo critério de dificuldade no inglês. As figuras são apresentadas permitindo-se 20 segundos para a resposta. (115);
- Fluência verbal categórica e fonológica (116) - A fluência verbal foi avaliada em duas categorias: semântica e fonológica. A fluência verbal semântica (FVS) foi analisada por meio da elocução, em um minuto, de palavras da classe semântica "animais" para a avaliação do acesso e organização do léxico mental semântico. A fluência verbal fonêmica (FVF) foi avaliada pela elocução de palavras iniciadas pela letra "F", dentro de um minuto seguido pela letra "A"e "S"(117).
- Teste de percepção visuoespacial do Luria Neuropsychological Investigation (LNI) (118);
- Cópia da Figura Complexa de Rey (119) - Teste que permite avaliar as habilidades de organização visuoespacial, planejamento e desenvolvimento de estratégias, bem como memória. Consiste em uma figura geométrica complexa composta por um retângulo grande, bissetores horizontais e verticais, duas diagonais, e detalhes geométricos adicionais interna e externamente ao retângulo grande. O examinando é solicitado a copiar a figura. No nosso protocolo a fase de evocação incidental não foi aplicada(120).
- Extensão de dígitos (Digit Span) direto e indireto do Wechsler Adult Inteligence Scale Revised (WAIS-R) (121) - É um subteste da WAIS-R que avalia o "span" de recordação verbal imediata. Compreende duas provas formadas por sete pares de sequências numéricas randômicas que o examinador lê em voz alta: dígitos em ordem direta (que medem a atenção) e dígitos em ordem inversa (que mede a memória operacional). No subteste de dígitos em ordem direta, a tarefa do sujeito consiste em repetir cada sequência numérica exatamente na forma como foi dita pelo

experimentador. No teste de dígitos em ordem inversa ou indireto o sujeito deve repetir os números na sequência inversa à que foi dita pelo examinador. A pontuação é igual ao número de dígitos da maior sequência que o indivíduo conseguiu repetir corretamente e varia de 0 a 8 pontos. Este teste avalia a atenção, além da memória de curta duração ou memória de trabalho;

- Teste de Trilhas A e B. (122) - Teste que consiste em duas partes, A e B (TMA e TMB). O paciente deve desenhar linhas para ligar consecutivamente círculos numerados de 1 a 25 (parte A). Na parte B, ele deverá ligar com linhas o mesmo número de círculos, contendo números (de 1 a 13) e letras do alfabeto (de A a L), consecutivamente, alternando números e letras de forma crescente. Aqui formam avaliados os números de acertos (de zero a 24) do indivíduo na realização de cada uma das tarefas.

- Teste de Stroop (123) Avalia a atenção seletiva, a capacidade de manter o foco numa atividade e inibir a tendência de fornecer respostas impulsivas, além da velocidade no processamento de informações. Neste teste é possível comparar o tempo que leva para nomear as cores das palavras que estão coloridas com sua cor real (vermelho está em vermelho) ou para dizer as cores de palavras com cores confusas (escrito a palavra amarelo em azul e deve dizer-se azul).
- Teste do Relógio (124); Teste em que o sujeito deve desenhar, numa folha em branco, um relógio circular devidamente numerado de 1 a 12, indicando um determinado horário (11h10min), obrigando-o a desenhar os dois ponteiros do relógio. Ele avalia principalmente a compreensão verbal, a memória de curto prazo, memória operacional e a noção abstrata de tempo (a pessoa examinada ouve a mensagem para desenhar o relógio e posteriormente realiza o que lhe foi dito, indicando o horário que foi pedido), a memória de longo prazo. (recobra a figura de um relógio para poder desenhar algo semelhante) e a função executiva e visuoespacial (planejar o desenho e executá-lo de forma a desenhar primeiramente um círculo, e depois os números ordenados e distribuídos corretamente em termos proporcionais dentro do relógio).
- Inventário Beck de depressão- BDI (106) adaptado ao Brasil por Cunha (125). Inventário composto por 21 questões A escala original consiste de 21 itens, incluindo sintomas e atitudes, cuja intensidade varia de 0 a 3. Os itens referem-se a tristeza, pessimismo, sensação de fracasso, falta de satisfação, sensação de culpa, sensação de punição, autodepreciação, auto-acusações, idéias suicidas, crises de choro,

irritabilidade, retração social, indecisão, distorção da imagem corporal, inibição para o trabalho, distúrbio do sono, fadiga, perda de apetite, perda de peso, preocupação somática, diminuição de libido.

- Inventário de ansiedade Beck –BAI (105) adaptado para o Brasil por Cunha (125). É composto por 21 itens, que devem ser avaliados pelo próprio indivíduo numa escala de quatro pontos: 1- "absolutamente não"; 2- "levemente"; 3- "moderadamente"; 4- "gravemente".

Exames de sangue e LCR

As coletas foram realizadas pelo laboratório de coleta de exame do Hospital de clínicas da UNICAMP. Todos os voluntários passaram por avaliação sanguínea com o intuito de complementar a avaliação clínica. As seguintes análises foram realizadas pelo próprio laboratório de coleta do Hospital das Clínicas: hemograma, perfil lipídico, glicemia, vitamina B12, ácido fólico, hormônios tireoidianos, sorologia para sífilis, função renal e eletrólitos. Os sujeitos com DDA e CCLa foram submetidos à punção lombar ao nível das vértebras L4-L5, realizada por um neurologista experiente. O LCR retirado (10ml) foi centrifugado e depois armazenado a -80º C até a realização dos ensaios propostos.

βA, t-tau total e p-tau foram quantificadas pelo método de imunoensaio Luminex xMAP®, o qual permite a quantificação simultânea de até 100 proteínas. As análises foram realizadas pelo Laboratório de Neurociências (LIM-27) do Instituto de Psiquiatria do HC-FMUSP, utilizando o kit Inno-Bia Alzbio3 (Innogenetics, Gent, Belgium). Os valores referência que utilizamos foi o previamente publicado pelo grupo: βA < 416pg/ml e/ou Aβ/pTau < 9,53; (100).

Avaliação por Ressonância Magnética

Os exames de RM foram realizados em um aparelho de 3T Achieva-Intera PHILIPS® adquirido dentro do âmbito do projeto CInAPCe-FAPESP. Foram realizadas as seguintes aquisições: imagem ponderada em T1 e gradiente eco com voxels isotrópicos de 1mm, adquiridos no plano sagital (1mm de espessura; flip angle, 8°; TR, 7.1; TE, 3,2; matriz, 240x240; e FOV, 240x240x180; marcador de spin arterial (Arterial Spin Label - ASL), para avaliação de perfusão cerebral: FOV: 240x240x79/ voxel size 3.75x3.75x6/TE=20ms/TR=2000ms. Os pacientes foram instruídos a manterem os olhos fechados, relaxarem e se moverem o mínimo possível.

Pré-processamento das imagens

As imagens ASL DICOM foram convertidas para a NIfTI usando um script Matlab interno. As imagens finais da NIfTI foram organizadas para ter volumes intercalados de imagens marcadas com controle. O pré-processamento baseou-se no: realinhamento da dinâmica de imagens ASL (usando imagem média como referência), corregistro de imagens (ASL significa imagem com T1 específico WI), normalização espacial (MNI-152), suavização (núcleo de 6x6x6 mm^3 em FWHM) e segmentação de tecidos T1 WI (substância cinzenta (GM), substância branca (WM) e líquido cefalorraquidiano (LCR)) e normalização (MNI-152). Uma máscara específica de sujeito foi criada incluindo todos os voxels segmentados por GM, WM e CSF T1 WI com probabilidade maior que 20% (probabilidade de ser o tecido no caso), interpolados para o espaço ASL normalizado e suavizados. No final, todos os "*masked* voxels" com intensidades inferiores a 0,2 foram excluídos melhorando a nitidez do contorno. Os mapas finais do ASL foram criados pela média da diferença das imagens *masked* (etiquetas de controle consecutivas).

Mapas das áreas da DMN foram extraídos do site FINDLAB (http://findlab.stanford.edu/functional_ROIs.html) (126). Os ROIs extraídos foram das seguintes áreas: Córtex pré-frontal, lobo temporal medial direito e esquerdo, hipocampo direito e esquerdo, PCC e córtex parietal direito e esquerdo como observado na figura 2. Os valores de FSC de cada ROI foram extraídos e exportados para análise posterior.

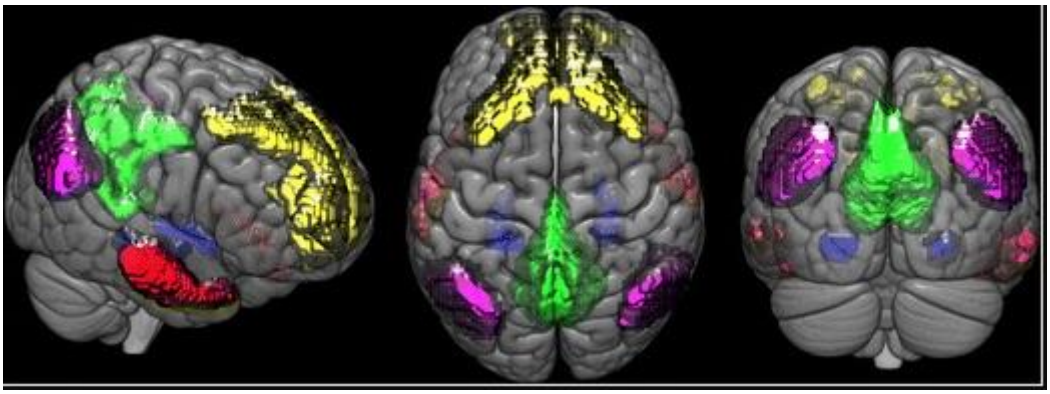


Figura 2: Imagem ilustrativa das áreas da DMN produzida por Brunno Campos

Análise Estatística

Todas as análises foram realizadas com o IBM *Statistical Package for the Social Sciences* version 22 (SPSS Inc., Chicago, II, USA). Primeiramente nós verificamos a

normalidades dos dados com o teste de Kolmogorov-Smirnov. O teste qui-quadrado foi usado para comparar variáveis categóricas, como sexo.

Para verificar se havia diferenças de FSC e performance cognitiva entre os grupos, nós realizamos ANCOVAs com teste post-hoc Bonferroni, usando idade, escolaridade e sexo como covariáveis.

Para avaliar se o FSC das regiões pode predizer a performance cognitiva, primeiramente agrupamos os testes neuropsicológicos em grupos de domínios cognitivos. Cada teste resulta em um escore numérico, e esses scores foram transformados em z-scores. Depois, nós agrupamos esses z-scores de múltiplos testes no mesmo domínio cognitivo. Quatro domínios cognitivos foram criados: 1- Memória episódica, a partir dos resultados do teste RAVLT, 2- Atenção/funções executivas, a partir dos resultados de Teste de Trilhas A e B, teste de Stroop *e* extensão de dígitos direto e indireto do Wechsler Adult Inteligence Scale Revised (WAIS-R) 3- linguagem, a partir dos resultados do teste de nomeação de Boston e fluência verbal fonológica e semântica e 4- habilidade visuoespacial, a partir dos resultados do Teste de percepção visuoespacial do Luria Neuropsychological Investigation (LNI), cópia da figura complexa de Rey e teste do relógio. Uma série de regressões lineares múltiplas foi realizada. Nesse momento, todos os participantes foram agrupados em um único grupo. Colocamos no modelo como variáveis independentes os valores de perfusão das áreas da DMN, e cada domínio cognitivo foi adicionado como variável dependente. Cada modelo de regressão foi controlado por idade, escolaridade e sexo.

Para verificar se existe relação entre marcadores liquóricos e FSC, realizamos o teste de correlação de Pearson entre os valores de concentração de βA, p tau, t tau no LCR com os valores de FSC das áreas da DMN dos pacientes com CCLa e DDA leve.

Consideramos resultados significativos com $p<0.05$, corrigidos para múltiplas comparações pelo teste de Bonferroni.

5. RESULTADOS

Características dos participantes

A comparação entre grupos revelou que não houve diferença significativa entre o sexo dos participantes (p = 0,934, qui-quadrado), no entanto o teste de ANOVA de uma via mostrou que os grupos se diferenciaram em relação à idade, sendo que o grupo DDA leve apresentou idade significativamente maior que o grupo controle e o CCLa. Em relação à educação, o grupo CCLa apresentou maior escolaridade quando comparado ao grupo DDA leve. Em relação aos testes neuropsicológicos, os indivíduos com CCLa se diferenciaram dos controles apenas no MEEM e nas etapasde aquisição e avocação tardia do teste de memória episódica, enquanto os pacientes com DDA leve diferiram dos controles em todos os testes neuropsicológicos. Entre DDA leve e CCLa foi observada diferença significativa em todos os testes exceto no teste de extensão de dígitos em ordem direta. Não houve diferença significativa entre os escores do BDI e do BAI entre os três grupos. Na comparação dos níveis de biomarcadores no LCR, não houve diferença significativa entre os participantes DDA leve e CCLa, como nos mostra a Tabela I.

Tabela I: Dados demográficos e neuropsicológicos dos controles e pacientes CCLa e DDA leve e comparação entre grupos.

	Controles	**CCLa**	**DDA leve**
	N=29	N=17	N=16
% fem	65%	70%	68%
Idade	71,57 (4,20)[b*]	70,72 (4,76)[c*]	75 (5,27)
Educação	8,76 (5,47)	11,72 (4,75)[c*]	6,06 (4,69)
Cognição Global			
MEEM	27,92 (1,87)[a*b**]	25,68 (2,78)[c**]	19,62 (4,31)
Memória Episódica			
RAVLT-Aq	38,73 (6,51)[a*b**]	31,5 (6,77)[c*]	22,68 (14,44)
RAVLT-A7	7,76 (2,62)[a**b**]	3,54 (2,50)[c**]	1 (1,41)
RC-Rec	10,30 (3,99)[b**]	7,31 (4,71)[c**]	-2,18 (5,57)
Atenção/Funções executivas			
DD	5,15 (1,25)[b*]	4,45 (0,73)	3,93 (0,92)
DI	4,42 (0,98)[b*]	3,77 (0,75)[c**]	2,55 (1,09)
Stroop C – tempo	42.36 (14.14)[b**]	43.04 (11.53)[c*]	66.78 (30.39)
Stroop C- erros	0.08 (0.4)[b*]	0 (0)[c*]	1.14 (2.44)
Stroop I – tempo	119.96 (37.47)[b**]	134.85 (66.41)[c*]	206.42 (67.44)
Stroop I – erros	4.88 (4.62)[b**]	6.8 (8.95)[c**]	21.5 (13.84)
TMT-A	66.52 (22.43)[b**]	76.09 (35.72)[c**]	186.21 (118.02)
TMT-B	121,18 (63,29)[b**]	130,05 (51,01)[c**]	244,18 (100,10)
Linguagem			
FAS	16,8 (4,63)[b**]	14,5 (3,91)[c**]	9,68 (3,3)
FVS	33,48 (9,15)[b**]	31,63 (9,59)[c**]	20,26 (9,86)
Boston	54,34 (5,87)[b**]	52,72 (7,21)[c**]	36,62 (13,81)
Percepção Visuoespacial			
LNI	17,34 (1,89)[b**]	17,18 (1,76)[c**]	14 (3,79)
Desenho do Relogio	8,38 (1,65)[b**]	8,22 (1,97)[c**]	5,5 (2,33)
Cópia Rey	29,86 (6,80)[b**]	30,61 (8,25)[c**]	20,06 (11,9)
BDI	2,66 (2,62)	3,53 (2,88)	5,3 (3,22)
BAI	1,93 (1,94)	1,47 (1,81)	3,15 (3,43)
LCR p-tau	NA	55,98 (28,88)	55,15 (26,75)
LCR Aβ	NA	345,93 (105,69)	300,31 (91,11)
Aβ/ptau	NA	9,27 (9,41)	5,92 (1,62)

Dados representados pela média (desvio padrão). BAI: Inventário de Ansiedade de Beck; BDI: Inventário de Depressão de Beck; DD: dígitos direto; DI: dígitos indireto; BNT: Teste de nomeação de Boston; LCR: liquido cefalorraquidiano; FAS: teste de fluência verbal fonológico; FVS: teste de fluência verbal semântica; LNI: teste de percepção visuoespacial de Luria; MEEM: mini exame do estado mentalion; RAVLT-aquisição do teste auditivo verbal de Rey; RAVLT-A7: evocação tardia de teste auditivo verbal de Rey; RC-FP: Reconhecimento do teste auditivo verbal de Rey (*i.e.*, palavras reconhecidas corretamente menos os falsos positivos); Cópia de Rey:Cópia do teste da figura Complexa de Rey; Stroop C: Fase congruente do teste Stroop ;Stroop I: Fase incongruente do teste Stroop; ; TMT-A: Teste de Trilhas A; TMT-B: Teste de Trilhas B B.

[a] controle significativamente diferente do CCLa;

[b] controle significativamente diferente do DDA leve;

[c] CCLA significativamente diferente de DDAleve.

*p<.05, **p<.001.

Diferenças no FSC entre grupos

A tabela II nos mostra o valor médio do FSC de cada ROI para cada um dos grupos.

Tabela II: Valores médios e de desvio padrão FSC para cada ROI e comparação entre grupos.

Valor FSC ROI ($mLg^{-1}seg^{-1}$)	**controles**	**CCLa**	**DDA leve**	**ANCOVA**	
				F	**p**
DMN frontal	2,51 (0,76)	2,69 (0,89)	2.16 (0,65)	1,94	0,15
DMN hipocampo E	9,06 (3,40)	8,64 (5,29)	10,21 (5,65)	0,34	0,71
DMN parietal E	2,61 (0,95)	2,51 (0,99)	1,90 (0,96)	2,99	**0,05**
DMN temporal E	2,62 (1,04)	2,65 (1,26)	2,84 (1,22)	0,21	0,81
DMN PCC	3,35 (1,57)	3,14 (1,23)	2,63 (1,24)	1,34	0,27
DMN hipocampo D	9,01 (3,44)	9,38 (4,86)	8,66 (4,76)	0,12	0,89
DMN parietal D	3,07 (1,04)[b]	2,79 (1,23)	2,00 (1,02)	5,26	**0,008**
DMN temporal D	3,48 (1,50)	3,39 (1,54)	2,77 (1,04)	1,40	0,25

DMN: Default Mode Network; PCC: Córtex cingulado posterior; D: Direito; E: Esquerdo. Resultados controlados por sexo, idade e educação. Bonferroni post-hoc. Em negrito: resultados estatisticamente significativos.
p>0,05, [b] controle significativamente diferente do DDA leve;

Na comparação do FSC entre os grupos, ANCOVA mostrou diferença de FSC entre os grupos nos ROIs parietal esquerdo e direito (F=1,94, p=0,05 e F=5,26, p=0,008, respectivamente). O Teste de Bonferroni mostrou que os controles apresentaram valores significativamente maiores de FSC que DDA leve no ROI parietais direito (p = 0,006), enquanto os CCLa não diferiram dos controles nem dos pacientes com DA leve em nenhum ROI de FSC como observado na Tabela II.

Relação entre marcadores liquóricos e FSC

O teste de correlação de Person não mostrou correlação significativa entre os marcadores liquóricos (βA, p tau, t tau) e FSC em nenhuma das áreas da DMN.

Relação entre FSC e desempenho cognitivo

Realizamos uma regressão múltipla *Stepwise* para investigar se os valores de FSC nas áreas de DMN podem predizer os escores nos domínios cognitivos. Para isso, utilizamos os testes cognitivos agrupados em domínios cognitivos como variáveis dependentes e os valores de FSC como variáveis independentes. Idade, anos de escolaridade e sexo foram utilizados como variáveis de confusão.

A Tabela III mostra que o FSC no ROI da região parietal direita pode predizer os domínios de memória episódica e linguagem (r^2 = 0,237, p=0,01 e r^2 = 0,375, p= 0,03 respectivamente). As áreas parietal esquerda e PCC podem predizer de forma fraca o desempenho no domínio atenção e funções executivas (r^2 = 0,134, p=0,02). Para o domínio visuoespacial, nenhuma área mostrou ser preditiva de seu desepenho, apenas a escolaridade e a idade estavam no modelo.

Tabela III: Modelo da análise de regressão *stepwise* com valores de fluxo sanguíneo cerebral (FSC) como preditores da performance em funções cognitivas.

Modelo	r^2 ajustado	B	Std Error	Beta
Memória Episódica				
Constante		3,76	1,47	
Idade	,237	-,062	,020	-,355**
Parietal D		2,48 E-5	,000	,304*
Atenção/Funções executivas				
Constante		,313	,192	
Parietal E	,134	-3,48 E-5	,000	-,579**
PCC		1,76 E-5	,000	,415*
Linguagem				
Constante	,375	1,56	1,303	
Educação		,069	,016	,441**
Parietal D		1,94 E-5	,000	-,248**
Idade		-,039	0,17	-,234*
Visuoespacial				
Constante		2,21	1,388	
Educação	,275	,070	,017	,447**
Idade		-,040	,019	-,238*

PCC: Córtex cingulado posterior; D: Direito; E: Esquerdo, p<,05; **p<,001.

6. DISCUSSÃO

No presente estudo, estudamos o FSC nas áreas da DMN em pacientes com DDA leve, CCLa (ambos com evidência de fisiopatologia da DA no LCR) e idosos cognitivamente saudáveis. Avaliamos se há diferença de perfusão entre os grupos, se o FSC pode predizer o desempenho cognitivo e a possível relação entre os marcadores liquóricos de DA com FSC.

Em relação à caracterização de nossos pacientes do ponto de vista cognitivo, nos pacientes com DDA leve houve diferença significativa em todos os testes cognitivos com os controles e CCLa , exceto no teste de extensão de dígitos em ordem direta na comparação com os pacientes CCLa. Isso mostra que a bateria utilizada em nosso protocolo foi sensível às alterações cognitivas do quadro de DDA leve. Já os pacientes com CCLa apresentaram diferença significativa apenas para o MEEM e nas etapas do teste de memória episódica, o que sugere que os pacientes, em sua maioria, podem ser classificados como CCLa domínio único. Pelo fato da BAI e BDI fazerem parte dos fatores de exclusão da pesquisa, já era esperado não apresentar diferença significativa entre os grupos.

Em relação aos objetivos em si, no geral, podemos resumir os nossos achados da seguinte forma: 1) os controles apresentaram maior FSC do que os pacientes com DDA leve em ambas as regiões parietais da DMN; 2) o FSC dos pacientes CCLa não foi estatisticamente diferente dos controles e nem dos pacientes DDA leve; 3) Memória e linguagem episódica podem ser preditas pelo FSC da área parietal direita da DMN; 4) FSC na região parietal esquerda da DMN e PCC pode predizer o desempenho nas funções executivas e atencionais; 5) Não encontramos resultados significativos nas regressões envolvendo proteínas liquóricas e medidas de FSC nos pacientes com CCLa e DDA leve.

Diferenças no FSC da DMN entre DDA, CCla e controles

Utilizamos a ASL para verificar o FSC das sub-regiões da DMN. A análise mostrou controles com maior FSC nos respectivos ROIs: córtex parietal direito e esquerdo, quando comparados à DDA, inclusive controlando por sexo, idade e escolaridade.

Nossos resultados são consistentes com outros estudos de ASL, que também demonstraram redução do FSC no córtex parietal lateral (65). No entanto, outros estudos de ASL por Ressonância magnética (RM) indicaram hipoperfusão de pacientes com DDA em relação aos controles para outras áreas além do córtex parietal, como o PCC, precúneo, córtex frontal inferior e lobos temporal e occipital (60, 67, 127). Além disso, estudos com diferentes

tipos de análise de perfusão, como a SPECT, demonstraram que em pacientes com DDA clinicamente diagnosticados, a hipoperfusão é marcante no PCC, precúneo e córtex temporoparietal (128). A detecção de hipoperfusão no córtex parietal lateral, PCC e precúneo parece ser o achado mais consistente em diferentes estágios da doença (e poderia potencialmente ser usado como um biomarcador funcional da DA) (129).

Não encontramos diferença na perfusão entre CCLa e DDA ou CCla e controles. No entanto, alguns estudos mostraram hipoperfusão em indivíduos com CCLa no córtex parietal, precúneo, PCC e lobo temporal medial em comparação com adultos com cognição normal ou com queixas subjetivas (68, 130). Por outro lado, outro estudo mostrou maior FSC em algumas regiões para CCLa em comparação com controles, e nenhuma diferença significativa no FSC entre CCL e DDA usando a análise de semente (73). O padrão do FSC para CCLa ainda é controverso, sendo que pacientes com CCLa podem apresentar mapas regionais de FSC com áreas de hipoperfusão ou hiperperfusão em estruturas cerebrais envolvidas em diferentes funções cognitivas (129). Essa discrepância no resultado de exames funcionais de medidas de perfusão e conectividade no CCL (padrões ora de hiper, ora de hipoperfusão/conectividade) podem ter várias razões (128). Uma possibilidade é a heterogeneidade intragrupo em relação à fase do CCL. Nesse caso, os grupos podem combinar pacientes com CCL inicial (muito próximos ao normal) com CCL avançado (com características próximas à DDA), enquanto outros estudos podem incluir apenas uma fase (inicial ou avançada, por exemplo). Assim, pacientes com CCL inicial podem tender a apresentar maior mecanismo de compensação, apresentando hiperperfusão/conectividade, enquanto estudos com mais CCL avançado, podem mostrar um padrão mais próximo ao que se verifica na DDA. Ainda, outros fatores biológicos como reserva cerebral e culturais, como a reserva cognitiva, certamente influenciam o padrão de possível compensação desses pacientes. No nosso estudo, não encontramos diferença de FSC dos pacientes com CCLa nem em relação aos controles, nem em relação à DDA, mostrando que nosso grupo pode ser heterogêneo em relação à fase do CCL.

Outro aspecto interessante do nosso estudo é a avaliação do FSC uma rede neurofuncional específica relevante no espectro da DA, a DMN. Nos últimos anos, esta rede tem sido bastante valorizada em relação às características funcionais, anatômicas e moleculares, além do estudo de sua conectividade intrínseca poder ser usado como biomarcador da DA. A grande maioria dos estudos avalia a conectividade dessa rede e, na DDA, em geral se encontra assíncrona em relação ao sinal BOLD entre as regiões, sobretudo

entre PCC e região medial frontal. Porém, apenas pelo estudo da conectividade intrínseca não fica claro em qual região há alteração da perfusão que pode alterar a sincronia do sinal BOLD. Nosso estudo mostrou que há alteração do FSC nas regiões parietais da DMN e sugerimos que essa hipoperfusão pode ser responsável pela alteração da sincronia do sinal BOLD entre as diferentes regiões da rede. No entanto, estudos utilizando outras ferramentas de imagens devem ser realizados para melhor avaliação dessa hipótese.

Relação entre perfusão e domínios cognitivos

Analisando a relação entre a perfusão regional e os domínios cognitivos, as medidas de FSC no córtex parietal direito predisseram o desempenho em memória episódica e linguagem. Evidências na literatura mostraram uma relação positiva entre essa área com o desempenho de memória em pacientes com CCL e com DDA precoce (131). Além disso, nossos resultados mostraram relação entre córtex parietal esquerdo e PCC com o domínio atenção e funções executivas. O córtex parietal inferior participa na integração de diversas informações sensoriais para percepção e linguagem, raciocínio matemático e cognição visuoespacial (132), como também tem uma maior relação com o conhecimento semântico e com a atenção (133). Estudos identificaram que o FSC do PCC tem relação com o reconhecimento e função executiva em controles e pacientes com CCLa (64, 134). De fato, o PCC tem um papel central na comunicação com várias redes cerebrais e está envolvido em muitas funções cognitivas (135). Ele não só é chave para a DMN como também apresenta deposição de placas neuríticas contendo amiloide e metabolismo reduzido em pacientes com DDA (136).

Um dado que pode chamar atenção é o fato do domínio visuoespacial não ser explicado pelo FSC de nenhuma área da DMN aqui analisada. Essa "não relação" pode se dar por alguns fatores. A análise do FSC foi realizada através de ROIs específicos da DMN, os quais não incluem áreas do lobo occipital (área do córtex visual, bastante ligada às funções visuoespaciais). Além disso, apesar dos nossos pacientes com DDA leve apresentarem menor desempenho em relação aos controles nos testes visuoespaciais e a literatura mostrar ativação importante de áreas do lobo parietal em teste que necessita de rotação mental para responder ao item (aplicada de forma similar em nossa bateria) em sujeitos normais (137), a predição do FSC para a função visuespacial em nosso estudo foi feita a partir da junção dos resultados de diferentes testes visuoespaciais (citados anteriormente) e os mesmos, possivelmente evidenciaram problemas em outros aspectos visuoespaciais que não necessariamente são mediadas por estruturas analisadas nesse estudo. Outra razão a ser levantada é o fato de

nossos pacientes apresentarem neurodegeneração leve (DDA leve), e, segundo alguns estudos, alterações na habilidade visuoespacial só começa a ser mais facilmente percebida em estágios mais avançados da DDA (24, 25). Possivelmente, a progressão dos sintomas na DA relaciona-se com a progressão topográfica de emaranhados neurofibrilares compostos por tau hiperfosforilada, que afetam primeiro o lobo temporal medial e PCC e finalmente afeta o córtex sensitivo-motor e occipital (como citado anterioemente, ligado às áreas visuais) (138). Ainda, há evidência de que alterações visuoespaciais podem ser detectadas em fases iniciais da DDA com testes mais sensíveis, como por exemplo, os testes encontrados na bateria VOSP (Silhuetas, silhuetas progressivas e análise de cubos) (139), os quais não foram aplicados em nossa bateria. Testes mais sensíveis seriam necessários para detectarmos alterações precoces nos pacientes DA, pacientes com atrofia cortical posterior e/ou, ainda, incluídos ROIs relacionados à área occipital, para que fosse possível detectar a relação entre o FSC e a funções visuoespacial.

Em relação à linguagem, nosso modelo mostrou que o FSC da região parietal direita pode explicar o domínio linguagem. Sabemos que as áreas de Broca e Wernicke, principais responsáveis pela produção e compreensão da linguagem respectivamente (Mitchell, Rachel L. C.; Crow, Tim J. 2005), localizam-se no hemisfério esquerdo, e que os aspectos não verbais da linguagem como a prosódia e pragmática estão associados ao hemisfério direito (140). Contudo, os testes que compuseram a função linguagem em nosso estudo, envolviam as tarefas de nomeação e fluência verbal, as quais não avaliam esses aspectos relacionados ao hemisfério direito. No entanto, a nomeação é um processo complexo que envolve componentes como a interpretação de um estímulo visual, a identificação do conceito correspondente na memória semântica e a seleção e expressão do nome que melhor identifica esse conceito. Como a nomeação é tão complexa, é provável que um modelo de nomeação neurobiologicamente válido requeira evidências convergentes de múltiplas regiões corticais e estudos com doenças degenerativas levaram a resultados divergentes envolvendo regiões temporais, parietais e frontais (141), resultando em um debate não resolvido. Já o processo de avaliação da fluência, além de ser muitas vezes utilizado como medida de funções executivas de forma mais importante do que a linguegm, é sensível a detecção de alterações na área esquerda, e estudos com essa tarefa demonstrou ativação de áreas pré-frontais, cíngulo anterior, córtex temporal lateral, ínsula, precúneo, putamen, cerebelo, sendo que para homens foi ativado o lobo temporal bilateral de forma mais importante do que paras mulheres (142). Além disso, o processo de fluência verbal e nomeação envolvem a memória semântica que

envolve uma rede localizada predominantemente à esquerda e que inclui os córtices temporal anterior, temporal posterior e parietal posteroinferior. Contudo, mais uma vez, o lado esquerdo é o mais predominante (143).

Relação entre marcadores liquóricos e FSC

Não encontramos relação entre os marcadores liquóricos e FSC cerebral em nenhuma das regiões da DMN, o que contraria nossa hipótese. Esperávamos encontrar relação entre hipoperfusão e os principais marcadores da doença, sobretudo em áreas da DMN em que tradicionalmente se encontra maior neurodegeneração mediada via proteína tau, como nas estruturas mediais temporais. Porém, a análise liquórica que fizemos é apenas uma medida indireta do processo patológico, que não evidencia a exata localização anatômica de emaranhados neurofibrilares ou placas neuríticas. De fato, estudos mostrando essa correlação utilizaram como método de avaliação métodos de medicina molecular, como o marcador de amiloide PiB-PET(144-147). Uma outra hipótese que poderia ser levantada é que a hipoperfusão encontrada é devida a fatores vasculares e não secundária a neurodegeneração. Acreditamos que esse não seja o caso, já que procuramos incluir participantes que não tivessem nem história nem imagem de doença cerebrovascular. Também é possível que não tenhamos encontrado correlação porque enquanto a perfusão tende a diminuir ao longo do espectro da DA, a dosagem de amiloide tende a permanecer estável.

O presente estudo apresenta algumas limitações que merecem ser destacadas. Esperávamos diferenças no FSC entre os grupos em mais áreas DMN, como evidenciado anteriormente em alguns estudos, porém nossos resultados mostraram diferença apenas no córtex parietal entre controles e DDA. Uma razão para isso pode ser o protocolo adotado de aquisição de imagens. A maioria dos estudos utilizando a técnica ASL utilizou TR (tempo de repetição) maior que 3 segundos, enquanto no nosso estudo a TR foi de 2 segundos. Uma publicação recente mostrou que para o pASl não há tempo mínimo (65), no entanto, para um grupo com adultos idosos com possivelmente menor FSC, 2 segundos para cada aquisição pode ser muito rápido. Mesmo com um TR "rápido", nossos resultados mostraram que pacientes com DDA apresentaram menor FSC na região parietal lateral da DMN em relação aos controles, e que essas áreas, juntamente com o PCC, podem explicar o desempenho em memória episódica, atenção/funções executivas e domínios da linguagem.

Outro ponto importante do nosso trabalho é o fato de termos estudado apenas pacientes com evidência de fisiopatologia da DA, o que torna os grupos, sobretudo o CCLa,

mais homogêneo fisiopatologicamente, já que esta é uma condição clínica que pode ter diferentes causas (85).

7. CONCLUSÕES

Concluímos que há diferença em fluxo sanguíneo cerebral de subpartes da DMN (parietal D) entre idosos com DDA leve e controles, e que o FSC nas áreas parietais da DMN e PCC podem predizer o desempenho cognitivo de idosos. Não encontramos correlações entre os biomarcadores liquóricos e pefusão da DMN. Sugerimos que marcadores cerebrais de amiloide e tau por exames de PET, por apresentarem o local do depósito dessas proteínas, podem ser mais adequados para esse fim.

8. REFERÊNCIAS

1. LEONE ET, MAIA AGaB, Paulo Eduardo. Mudanças na composição das famílias e impactos sobre a redução da pobreza no Brasil. Econ soc [online]. 2010;19:59-77.
2. Miranda GMD, Mendes AdCG, Silva ALAd. Population aging in Brazil: current and future social challenges and consequences. Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia. 2016;19:507-19.
3. IBGE. IBGE | ProjeÃ§Ã£o da populaÃ§Ã£o 2019 [Available from: https://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/index.html.
4. Burla C, Camarano AA, Kanso S, Fernandes D, Nunes R. [A perspective overview of dementia in Brazil: a demographic approach]. Cien Saude Colet. 2013;18(10):2949-56.
5. Lopes MA, Bottino CMC. Prevalência de demência em diversas regiões do mundo: Análise dos estudos epidemiológicos de 1994 a 2000. Arquivos de Neuro-Psiquiatria. 2002;60:61-9.
6. Prince M, Bryce R, Albanese E, Wimo A, Ribeiro W, Ferri CP. The global prevalence of dementia: A systematic review and metaanalysis. Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association. 2013;9(1):63-75.e2.
7. Sosa-Ortiz AL, Acosta-Castillo I, Prince MJ. Epidemiology of Dementias and Alzheimer's Disease. Archives of Medical Research. 2012;43(8):600-8.
8. Fagundes SD, Silva MT, Thees MFRS, Pereira MG. Prevalence of dementia among elderly Brazilians: a systematic review. Sao Paulo Medical Journal. 2011;129:46-50.
9. Eckman CB, Eckman EA. An update on the amyloid hypothesis. Neurol Clin. 2007;25(3):669-82, vi.
10. Husain MM, Garrett RK. Clinical diagnosis and management of Alzheimer's disease. Neuroimaging Clin N Am. 2005;15(4):767-77, ix-x.
11. Imbimbo BP, Lombard J, Pomara N. Pathophysiology of Alzheimer's Disease. Neuroimaging Clinics of North America. 2005;15(4):727-53.
12. Corder EH, Lannfelt L, Bogdanovic N, Fratiglioni L, Mori H. The role of APOE polymorphisms in late-onset dementias. Cell Mol Life Sci. 1998;54(9):928-34.
13. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR, Jr., Kawas CH, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. Alzheimers Dement. 2011;7(3):263-9.
14. Richards SS, Hendrie HC. Diagnosis, management, and treatment of Alzheimer disease: a guide for the internist. Arch Intern Med. 1999;159(8):789-98.
15. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman HH, Fox NC, et al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. Alzheimers Dement. 2011;7(3):270-9.
16. Tulving E. Episodic memory and common sense: how far apart? Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2001;356(1413):1505-15.
17. Caramelli P, Robitaille Y, Laroche-Cholette A, Nitrini R, Gauvreau D, Joanette Y, et al. Structural correlates of cognitive deficits in a selected group of patients with Alzheimer's disease. Neuropsychiatry Neuropsychol Behav Neurol. 1998;11(4):184-90.
18. Derrer DS, Howieson DB, Mueller EA, Camicioli RM, Sexton G, Kaye JA. Memory Testing in Dementia: How Much Is Enough?:. http://dxdoiorg/101177/089198870101400102. 2016.
19. Sanchez JL, Sayago AM. [Early diagnosis and the course of Alzheimer's disease]. Rev Neurol. 2000;30(2):121-7.
20. Ferman TJ, Smith GE, Boeve BF, Graff-Radford NR, Lucas JA, Knopman DS, et al. Neuropsychological Differentiation of Dementia with Lewy Bodies from Normal Aging and Alzheimer's Disease. http://dxdoiorg/101080/13854040500376831. 2008.
21. Balthazar MLF, Martinelli JE, Cendes F, Damasceno BP. Lexical semantic memory in amnestic mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease. Arquivos de Neuro-Psiquiatria. 2007;65:619-22.

22. Tierney MC, Black SE, Szalai JP, Snow WG, Fisher RH, Nadon G, et al. Recognition Memory and Verbal Fluency Differentiate Probable Alzheimer Disease From Subcortical Ischemic Vascular Dementia. Archives of Neurology. 2019;58(10):1654-9.
23. Bayles KA, Tomoeda CK, Trosset MW. Relation of linguistic communication abilities of Alzheimer's patients to stage of disease. Brain Lang. 1992;42(4):454-72.
24. Binetti G, Mega MS, Magni E, Padovani A, Rozzini L, Bianchetti A, et al. Behavioral disorders in Alzheimer disease: a transcultural perspective. Arch Neurol. 1998;55(4):539-44.
25. Calderon J, Perry RJ, Erzinclioglu SW, Berrios GE, Dening TR, Hodges JR. Perception, attention, and working memory are disproportionately impaired in dementia with Lewy bodies compared with Alzheimer's disease. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2001;70(2):157-64.
26. Jack CR, Jr., Albert MS, Knopman DS, McKhann GM, Sperling RA, Carrillo MC, et al. Introduction to the recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. Alzheimers Dement. 2011;7(3):257-62.
27. Jack CR, Jr., Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Dunn B, Haeberlein SB, et al. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. Alzheimers Dement. 2018;14(4):535-62.
28. Petersen RC, Parisi JE, Dickson DW, Johnson KA, Knopman DS, Boeve BF, et al. Neuropathologic features of amnestic mild cognitive impairment. Archives of neurology. 2006;63(5):665-72.
29. Winblad B, Palmer K, Kivipelto M, Jelic V, Fratiglioni L, Wahlund LO, et al. Mild cognitive impairment--beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. Journal of internal medicine. 2004;256(3):240-6.
30. Godinho C, Camozzato AL, Onyszko D, Chaves ML. Estimation of the risk of conversion of mild cognitive impairment of Alzheimer type to Alzheimer's disease in a south Brazilian population-based elderly cohort: the PALA study. Int Psychogeriatr. 2012;24(4):674-81.
31. Cesar KG, Brucki SM, Takada LT, Nascimento LF, Gomes CM, Almeida MC, et al. Prevalence of Cognitive Impairment Without Dementia and Dementia in Tremembe, Brazil. Alzheimer Dis Assoc Disord. 2016;30(3):264-71.
32. Petersen RC, Roberts RO, Knopman DS, Boeve BF, Geda YE, Ivnik RJ, et al. Mild cognitive impairment: ten years later. Arch Neurol. 2009;66(12):1447-55.
33. Schmidtke K, Hermeneit S. High rate of conversion to Alzheimer's disease in a cohort of amnestic MCI patients. International psychogeriatrics / IPA. 2008;20(1):96-108.
34. Farias ST, Mungas D, Reed BR, Harvey D, DeCarli C. Progression of mild cognitive impairment to dementia in clinic- vs community-based cohorts. Arch Neurol. 2009;66(9):1151-7.
35. Larrieu S, Letenneur L, Orgogozo JM, Fabrigoule C, Amieva H, Le Carret N, et al. Incidence and outcome of mild cognitive impairment in a population-based prospective cohort. Neurology. 2002;59(10):1594-9.
36. de Rotrou J, Wenisch E, Chausson C, Dray F, Faucounau V, Rigaud AS. Accidental MCI in healthy subjects: a prospective longitudinal study. Eur J Neurol. 2005;12(11):879-85.
37. Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. Alzheimers Dement. 7. United States: 2011. Published by Elsevier Inc.; 2011. p. 280-92.
38. Jack CR, Jr., Vemuri P, Wiste HJ, Weigand SD, Aisen PS, Trojanowski JQ, et al. Evidence for ordering of Alzheimer disease biomarkers. Arch Neurol. 2011;68(12):1526-35.
39. Price JL, Morris JC. Tangles and plaques in nondemented aging and "preclinical" Alzheimer's disease. Annals of neurology. 1999;45(3):358-68.
40. Knopman DS, Parisi JE, Salviati A, Floriach-Robert M, Boeve BF, Ivnik RJ, et al. Neuropathology of cognitively normal elderly. J Neuropathol Exp Neurol. 2003;62(11):1087-95.
41. Villain N, Chetelat G, Grassiot B, Bourgeat P, Jones G, Ellis KA, et al. Regional dynamics of amyloid-beta deposition in healthy elderly, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a voxelwise PiB-PET longitudinal study. Brain. 2012;135(Pt 7):2126-39.

42. Klunk WE, Engler H, Nordberg A, Wang Y, Blomqvist G, Holt DP, et al. Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. Ann Neurol. 2004;55(3):306-19.
43. Visser PJ, Verhey F, Knol DL, Scheltens P, Wahlund LO, Freund-Levi Y, et al. Prevalence and prognostic value of CSF markers of Alzheimer's disease pathology in patients with subjective cognitive impairment or mild cognitive impairment in the DESCRIPA study: a prospective cohort study. Lancet Neurol. 2009;8(7):619-27.
44. Mattsson N, Zetterberg H, Hansson O, Andreasen N, Parnetti L, Jonsson M, et al. CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. Jama. 2009;302(4):385-93.
45. Chhatwal JP, Schultz AP, Marshall GA, Boot B, Gomez-Isla T, Dumurgier J, et al. Temporal T807 binding correlates with CSF tau and phospho-tau in normal elderly. Neurology. 2016;87(9):920-6.
46. Landau SM, Harvey D, Madison CM, Koeppe RA, Reiman EM, Foster NL, et al. Associations between cognitive, functional, and FDG-PET measures of decline in AD and MCI. Neurobiol Aging. 2011;32(7):1207-18.
47. Blennow K, Zetterberg H. The application of cerebrospinal fluid biomarkers in early diagnosis of Alzheimer disease. Med Clin North Am. 2013;97(3):369-76.
48. Killiany RJ, Gomez-Isla T, Moss M, Kikinis R, Sandor T, Jolesz F, et al. Use of structural magnetic resonance imaging to predict who will get Alzheimer's disease. Ann Neurol. 2000;47(4):430-9.
49. Ball MJ. Neuronal loss, neurofibrillary tangles and granulovacuolar degeneration in the hippocampus with ageing and dementia. A quantitative study. Acta Neuropathol. 1977;37(2):111-8.
50. Valotassiou V, Papatriantafyllou J, Sifakis N, Tzavara C, Tsougos I, Psimadas D, et al. Clinical Evaluation of Brain Perfusion SPECT with Brodmann Areas Mapping in Early Diagnosis of Alzheimer's Disease. J Alzheimers Dis. 2015;47(3):773-85.
51. Vitali P, Migliaccio R, Agosta F, Rosen HJ, Geschwind MD. Neuroimaging in dementia. Semin Neurol. 2008;28(4):467-83.
52. Mosconi L, Tsui WH, Herholz K, Pupi A, Drzezga A, Lucignani G, et al. Multicenter standardized 18F-FDG PET diagnosis of mild cognitive impairment, Alzheimer's disease, and other dementias. J Nucl Med. 2008;49(3):390-8.
53. Tiepolt S, Hesse S, Patt M, Luthardt J, Schroeter ML, Hoffmann KT, et al. Early [(18)F]florbetaben and [(11)C]PiB PET images are a surrogate biomarker of neuronal injury in Alzheimer's disease. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2016;43(9):1700-9.
54. Forsberg A, Engler H, Blomquist G, Langstrom B, Nordberg A. The use of PIB-PET as a dual pathological and functional biomarker in AD. Biochim Biophys Acta. 2012;1822(3):380-5.
55. Vestergaard MB, Lindberg U, Aachmann-Andersen NJ, Lisbjerg K, Christensen SJ, Law I, et al. Acute hypoxia increases the cerebral metabolic rate - a magnetic resonance imaging study. J Cereb Blood Flow Metab. 2016;36(6):1046-58.
56. Moskowitz MA, Lo EH, Iadecola C. The science of stroke: mechanisms in search of treatments. Neuron. 2010;67(2):181-98.
57. Park L, Anrather J, Zhou P, Frys K, Pitstick R, Younkin S, et al. NADPH-oxidase-derived reactive oxygen species mediate the cerebrovascular dysfunction induced by the amyloid beta peptide. J Neurosci. 2005;25(7):1769-77.
58. Mazza M, Marano G, Traversi G, Bria P, Mazza S. Primary cerebral blood flow deficiency and Alzheimer's disease: shadows and lights. J Alzheimers Dis. 2011;23(3):375-89.
59. Zlokovic BV. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. Neuron. 2008;57(2):178-201.
60. Zhang N, Gordon ML, Goldberg TE. Cerebral blood flow measured by arterial spin labeling MRI at resting state in normal aging and Alzheimer's disease. Neurosci Biobehav Rev. 2017;72:168-75.

61. Xekardaki A, Rodriguez C, Montandon ML, Toma S, Tombeur E, Herrmann FR, et al. Arterial spin labeling may contribute to the prediction of cognitive deterioration in healthy elderly individuals. Radiology. 2015;274(2):490-9.
62. Ruitenberg A, den Heijer T, Bakker SL, van Swieten JC, Koudstaal PJ, Hofman A, et al. Cerebral hypoperfusion and clinical onset of dementia: the Rotterdam Study. Ann Neurol. 2005;57(6):789-94.
63. Sheline YI, Morris JC, Snyder AZ, Price JL, Yan Z, D'Angelo G, et al. APOE4 allele disrupts resting state fMRI connectivity in the absence of amyloid plaques or decreased CSF Abeta42. J Neurosci. 2010;30(50):17035-40.
64. Chao LL, Buckley ST, Kornak J, Schuff N, Madison C, Yaffe K, et al. ASL Perfusion MRI Predicts Cognitive Decline and Conversion From MCI to Dementia. Alzheimer Dis Assoc Disord. 2010;24(1):19-27.
65. Alsop DC, Dai W, Grossman M, Detre JA. Arterial spin labeling blood flow MRI: its role in the early characterization of Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis. 2010;20(3):871-80.
66. Alsop DC, Detre JA, Golay X, Gunther M, Hendrikse J, Hernandez-Garcia L, et al. Recommended implementation of arterial spin-labeled perfusion MRI for clinical applications: A consensus of the ISMRM perfusion study group and the European consortium for ASL in dementia. Magn Reson Med. 2015;73(1):102-16.
67. Austin BP, Nair VA, Meier TB, Xu G, Rowley HA, Carlsson CM, et al. Effects of Hypoperfusion in Alzheimer's Disease. J Alzheimers Dis. 2011;26(Suppl 3):123-33.
68. Binnewijzend MA, Kuijer JP, Benedictus MR, van der Flier WM, Wink AM, Wattjes MP, et al. Cerebral blood flow measured with 3D pseudocontinuous arterial spin-labeling MR imaging in Alzheimer disease and mild cognitive impairment: a marker for disease severity. Radiology. 267. United States: Rsna, 2012; 2013. p. 221-30.
69. Wintermark M, Sesay M, Barbier E, Borbely K, Dillon WP, Eastwood JD, et al. Comparative overview of brain perfusion imaging techniques. J Neuroradiol. 2005;32(5):294-314.
70. Zou JX, Wang MJ, Lei XJ, Chen XG. 3.0 T MRI arterial spin labeling and magnetic resonance spectroscopy technology in the application of Alzheimer's disease. Exp Gerontol. 2014;60:31-6.
71. Liang X, Zou Q, He Y, Yang Y. Coupling of functional connectivity and regional cerebral blood flow reveals a physiological basis for network hubs of the human brain. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(5):1929-34.
72. Wolk DA, Detre JA. Arterial spin labeling MRI: an emerging biomarker for Alzheimer's disease and other neurodegenerative conditions. Curr Opin Neurol. 2012;25(4):421-8.
73. Alexopoulos P, Sorg C, Forschler A, Grimmer T, Skokou M, Wohlschlager A, et al. Perfusion abnormalities in mild cognitive impairment and mild dementia in Alzheimer's disease measured by pulsed arterial spin labeling MRI. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 2012;262(1):69-77.
74. Kim SM, Kim MJ, Rhee HY, Ryu CW, Kim EJ, Petersen ET, et al. Regional cerebral perfusion in patients with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: effect of APOE epsilon4 allele. Neuroradiology. 2013;55(1):25-34.
75. Johnson NA, Jahng GH, Weiner MW, Miller BL, Chui HC, Jagust WJ, et al. Pattern of cerebral hypoperfusion in Alzheimer disease and mild cognitive impairment measured with arterial spin-labeling MR imaging: initial experience. Radiology. 234. United States2005. p. 851-9.
76. Yoshiura T, Hiwatashi A, Yamashita K, Ohyagi Y, Monji A, Takayama Y, et al. Simultaneous measurement of arterial transit time, arterial blood volume, and cerebral blood flow using arterial spin-labeling in patients with Alzheimer disease. AJNR Am J Neuroradiol. 2009;30(7):1388-93.
77. Musiek ES, Chen Y, Korczykowski M, Saboury B, Martinez PM, Reddin JS, et al. Direct comparison of fluorodeoxyglucose positron emission tomography and arterial spin labeling magnetic resonance imaging in Alzheimer's disease. Alzheimers Dement. 2012;8(1):51-9.
78. Tosun D, Schuff N, Jagust W, Weiner MW. Discriminative Power of Arterial Spin Labeling Magnetic Resonance Imaging and 18F-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography Changes for Amyloid-beta-Positive Subjects in the Alzheimer's Disease Continuum. Neurodegener Dis. 2016;16(1-2):87-94.

79. Yoshiura T, Hiwatashi A, Noguchi T, Yamashita K, Ohyagi Y, Monji A, et al. Arterial spin labelling at 3-T MR imaging for detection of individuals with Alzheimer's disease. Eur Radiol. 2009;19(12):2819-25.
80. Zhang Q, Stafford RB, Wang Z, Arnold SE, Wolk DA, Detre JA. Microvascular perfusion based on arterial spin labeled perfusion MRI as a measure of vascular risk in Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis. 2012;32(3):677-87.
81. Benedictus MR, Binnewijzend MAA, Kuijer JPA, Steenwijk MD, Versteeg A, Vrenken H, et al. Brain volume and white matter hyperintensities as determinants of cerebral blood flow in Alzheimer's disease. Neurobiol Aging. 2014;35(12):2665-70.
82. Power JD, Cohen AL, Nelson SM, Wig GS, Barnes KA, Church JA, et al. Functional network organization of the human brain. Neuron. 2011;72(4):665-78.
83. Biswal B, Yetkin FZ, Haughton VM, Hyde JS. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine. 1995;34(4):537-41.
84. Smith SM, Fox PT, Miller KL, Glahn DC, Fox PM, Mackay CE, et al. Correspondence of the brain's functional architecture during activation and rest. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009;106(31):13040-5.
85. Buckner RL, Snyder AZ, Shannon BJ, LaRossa G, Sachs R, Fotenos AF, et al. Molecular, structural, and functional characterization of Alzheimer's disease: evidence for a relationship between default activity, amyloid, and memory. J Neurosci. 2005;25(34):7709-17.
86. Miller LA, Spitznagel MB, Busko S, Potter V, Juvancic-Heltzel J, Istenes N, et al. Structured exercise does not stabilize cognitive function in individuals with mild cognitive impairment residing in a structured living facility. Int J Neurosci. 2011;121(4):218-23.
87. Esposito F, Bertolino A, Scarabino T, Latorre V, Blasi G, Popolizio T, et al. Independent component model of the default-mode brain function: Assessing the impact of active thinking. Brain Res Bull. 2006;70(4-6):263-9.
88. Hampel H, Wilcock G, Andrieu S, Aisen P, Blennow K, Broich K, et al. Biomarkers for Alzheimer's disease therapeutic trials. Prog Neurobiol. 2011;95(4):579-93.
89. Thal DR, von Arnim C, Griffin WS, Yamaguchi H, Mrak RE, Attems J, et al. Pathology of clinical and preclinical Alzheimer's disease. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 2013;263 Suppl 2:S137-45.
90. Pihlajamaki M, Sperling RA. Functional MRI assessment of task-induced deactivation of the default mode network in Alzheimer's disease and at-risk older individuals. Behav Neurol. 2009;21(1):77-91.
91. Sorg C, Riedl V, Muhlau M, Calhoun VD, Eichele T, Laer L, et al. Selective changes of resting-state networks in individuals at risk for Alzheimer's disease. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007;104(47):18760-5.
92. Qi Z, Wu X, Wang Z, Zhang N, Dong H, Yao L, et al. Impairment and compensation coexist in amnestic MCI default mode network. Neuroimage. 2010;50(1):48-55.
93. Gili T, Cercignani M, Serra L, Perri R, Giove F, Maraviglia B, et al. Regional brain atrophy and functional disconnection across Alzheimer's disease evolution. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2011;82(1):58-66.
94. Balthazar ML, de Campos BM, Franco AR, Damasceno BP, Cendes F. Whole cortical and default mode network mean functional connectivity as potential biomarkers for mild Alzheimer's disease. Psychiatry Res. 2014;221(1):37-42.
95. Ma HR, Pan PL, Sheng LQ, Dai ZY, Wang GD, Luo R, et al. Aberrant pattern of regional cerebral blood flow in Alzheimer's disease: a voxel-wise meta-analysis of arterial spin labeling MR imaging studies. Oncotarget. 2017;8(54):93196-208.
96. Buckner RL, Andrews-Hanna JR, Schacter DL. The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease. Ann N Y Acad Sci. 2008;1124:1-38.

97. Chen Y, Wolk DA, Reddin JS, Korczykowski M, Martinez PM, Musiek ES, et al. Voxel-level comparison of arterial spin-labeled perfusion MRI and FDG-PET in Alzheimer disease. Neurology. 2011;77(22):1977-85.
98. Dashjamts T, Yoshiura T, Hiwatashi A, Yamashita K, Monji A, Ohyagi Y, et al. Simultaneous arterial spin labeling cerebral blood flow and morphological assessments for detection of Alzheimer's disease. Acad Radiol. 2011;18(12):1492-9.
99. Teipel S, Grothe MJ. Does posterior cingulate hypometabolism result from disconnection or local pathology across preclinical and clinical stages of Alzheimer's disease? Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2016;43(3):526-36.
100. Forlenza OV, Radanovic M, Talib LL, Aprahamian I, Diniz BS, Zetterberg H, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's disease: Diagnostic accuracy and prediction of dementia. Alzheimer's & dementia (Amsterdam, Netherlands). 2016;1(4):455-63.
101. Morris JC. The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. Neurology. 1993;43(11):2412-4.
102. Brucki SM, Nitrini R, Caramelli P, Bertolucci PH, Okamoto IH. [Suggestions for utilization of the mini-mental state examination in Brazil]. Arq Neuropsiquiatr. 2003;61(3b):777-81.
103. Hachinski V, Iadecola C, Petersen RC, Breteler MM, Nyenhuis DL, Black SE, et al. National Institute of Neurological Disorders and Stroke-Canadian Stroke Network. Stroke; a journal of cerebral circulation. 2006;37(9):2220-41.
104. Fazekas F, Kleinert R, Roob G, Kleinert G, Kapeller P, Schmidt R, et al. Histopathologic analysis of foci of signal loss on gradient-echo T2*-weighted MR images in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage: evidence of microangiopathy-related microbleeds. AJNR Am J Neuroradiol. 1999;20(4):637-42.
105. Beck AT, Epstein N, Brown G, Steer RA. An inventory for measuring clinical anxiety: psychometric properties. J Consult Clin Psychol. 1988;56(6):893-7.
106. Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J. An inventory for measuring depression. Arch Gen Psychiatry. 1961;4:561-71.
107. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. J Psychiatr Res. 1975;12(3):189-98.
108. Macedo Montaño MBM, Ramos LR. Validade da versão em português da Clinical Dementia Rating. Revista de Saúde Pública. 2005;39:912-7.
109. Cummings JL, Mega M, Gray K, Rosenberg-Thompson S, Carusi DA, Gornbein J. The Neuropsychiatric Inventory: comprehensive assessment of psychopathology in dementia. Neurology. 1994;44(12):2308-14.
110. Camozzato AL, Godinho C, Kochhann R, Massochini G, Chaves ML. Validity of the Brazilian version of the Neuropsychiatric Inventory Questionnaire (NPI-Q). Arquivos de Neuro-Psiquiatria. 2015;73:41-5.
111. Fialho PPA, Köenig AM, Santos MDLd, Barbosa MT, Caramelli P. Positive effects of a cognitive-behavioral intervention program for family caregivers of demented elderly. Arquivos de Neuro-Psiquiatria. 2012;70:786-92.
112. Rey A. L'examen clinique in psychologie. Paris: Press Universitaire de France; 1964.
113. Cotta MF, Malloy-Diniz LF, Nicolato R, Moares ENd, Rocha FL, Paula JJd. O teste de aprendizagem auditivo-verbal de rey (RAVLT) no diagnóstico diferencial do envelhecimento cognitivo normal e patológico. Contextos Clínicos. 2012;5:10-25.
114. Kaplan E, Goodglass H, Weintraub S. The Boston Naming Test (2nd ed.). Philadelphia: Lea & Febiger; 1983.
115. Kaplan E, Goodglass H, Weintraub S. The Boston Naming Test (2nd ed.) Philadelphia: Lea & Febiger; 1983.
116. Christensen P, Guilford J. Manual for the Christensen Guilford Fluency Tests. (2nd ed.). Beverly Hills, California: Sheridan Supply; 1959.

117. Santos IMMd, Chiossi JSC, Soares AD, Oliveira LNd, Chiari BM. Phonological and semantic verbal fluency: a comparative study in hearing-impaired and normal-hearing people. CoDAS. 2014;26:434-8.
118. Christensen A. Luria's Neuropsychological Investigation. Copenhagen: Munskgaard; 1979.
119. Osterrieth P. The test of copying a complex figure: A contribution to the study of perception and memory Arch Psychol 1944;30:206 –356.
120. Jamus DR, Mäder MJ. A Figura Complexa de Rey e seu papel na avaliação neuropsicológica. Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology. 2005;11:193-8.
121. Wechsler D. Manual for the Wechsler Memory Scale-Revised (WMS-R). San Antonio: The Psychological Corporation 1987.
122. Reitan R. Validity of the Trail Making Test as an indicator of organic brain damage. Percept Mot Skills 1958;8:271–6.
123. Stroop JR. **Studies of interference in serial verbal reactions**. Journal of Experimental Psychology. 1935;18(6):643–62.
124. Sunderland T, Hill JL, Mellow AM, Lawlor BA, Gundersheimer J, Newhouse PA, et al. Clock drawing in Alzheimer's disease. A novel measure of dementia severity. Journal of the American Geriatrics Society. 1989;37(8):725-9.
125. Cunha JA. Manual da versão em português das Escalas Beck. São Paulo: Casa do Psicólogo.; 2001.
126. Shirer WR, Ryali S, Rykhlevskaia E, Menon V, Greicius MD. Decoding subject-driven cognitive states with whole-brain connectivity patterns. Cereb Cortex. 2012;22(1):158-65.
127. Riederer I, Bohn KP, Preibisch C, Wiedemann E, Zimmer C, Alexopoulos P, et al. Alzheimer Disease and Mild Cognitive Impairment: Integrated Pulsed Arterial Spin-Labeling MRI and (18)F-FDG PET. Radiology. 2018;288(1):198-206.
128. Chen W, Song X, Beyea S, D'Arcy R, Zhang Y, Rockwood K. Advances in perfusion magnetic resonance imaging in Alzheimer's disease. Alzheimers Dement. 2011;7(2):185-96.
129. Sierra-Marcos A. Regional Cerebral Blood Flow in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease Measured with Arterial Spin Labeling Magnetic Resonance Imaging. Int J Alzheimers Dis. 2017;2017:5479597.
130. Bangen KJ, Kaup AR, Mirzakhanian H, Wierenga CE, Jeste DV, Eyler LT. Compensatory brain activity during encoding among older adults with better recognition memory for face-name pairs: an integrative functional, structural, and perfusion imaging study. J Int Neuropsychol Soc. 2012;18(3):402-13.
131. Leeuwis AE, Benedictus MR, Kuijer JPA, Binnewijzend MAA, Hooghiemstra AM, Verfaillie SCJ, et al. Lower cerebral blood flow is associated with impairment in multiple cognitive domains in Alzheimer's disease. Alzheimers Dement. 2017;13(5):531-40.
132. Martin JH. Neuroanatomia: Texto e Atlas. 4 ed2014.
133. Mevel K, Chetelat G, Eustache F, Desgranges B. The default mode network in healthy aging and Alzheimer's disease. Int J Alzheimers Dis. 2011;2011:535816.
134. Jiang J, Sachdev P, Lipnicki DM, Zhang H, Liu T, Zhu W, et al. A longitudinal study of brain atrophy over two years in community-dwelling older individuals. Neuroimage. 2014;86:203-11.
135. Leech R, Braga R, Sharp DJ. Echoes of the Brain within the Posterior Cingulate Cortex. 2012.
136. Leech R, Sharp DJ. The role of the posterior cingulate cortex in cognition and disease. Brain. 1372014. p. 12-32.
137. Seydell-Greenwald A, Ferrara K, Chambers CE, Newport EL, Landau B. Bilateral parietal activations for complex visual-spatial functions: Evidence from a visual-spatial construction task. Neuropsychologia. 2017;106:194-206.
138. Pievani M, de Haan W, Wu T, Seeley WW, Frisoni GB. Functional network disruption in the degenerative dementias. Lancet Neurol. 2011;10(9):829-43.
139. Quental NB, Brucki SM, Bueno OF. Visuospatial function in early Alzheimer's disease--the use of the Visual Object and Space Perception (VOSP) battery. PLoS One. 2013;8(7):e68398.

140. Muszcat M MC. Neurodesenvolvimento e linguagem. In: Médicas A, editor. TEMAS EM DISLEXIA. São Paulo2009. p. 1-15.
141. Grossman M, McMillan C, Moore P, Ding L, Glosser G, Work M, et al. What's in a name: voxel-based morphometric analyses of MRI and naming difficulty in Alzheimer's disease, frontotemporal dementia and corticobasal degeneration. Brain. 2004;127(Pt 3):628-49.
142. Senhorini MCT. Fluência verbal fonológica avaliada através da ressonância magnética funcional com análise de influência de variáveis demográficas. São Paulo, Brasil: University of São Paulo; 2010.
143. Teixeira AL. Neuropsicologia Geriátrica2013.
144. Yan L, Liu CY, Wong KP, Huang SC, Mack
WJ, Jann K, et al. Regional association of pCASL-MRI with FDG-PET and PiB-PET in people at risk for autosomal dominant Alzheimer's disease. Neuroimage Clin. 2018;17:751-60.
145. Gottler J, Preibisch C, Riederer I, Pasquini L, Alexopoulos P, Bohn KP, et al. Reduced blood oxygenation level dependent connectivity is related to hypoperfusion in Alzheimer's disease. J Cereb Blood Flow Metab. 2018:271678x18759182.
146. Michels L, Warnock G, Buck A, Macauda G, Leh SE, Kaelin AM, et al. Arterial spin labeling imaging reveals widespread and Abeta-independent reductions in cerebral blood flow in elderly apolipoprotein epsilon-4 carriers. J Cereb Blood Flow Metab. 2016;36(3):581-95.
147. Montagne A, Nation DA, Pa J, Sweeney MD, Toga AW, Zlokovic BV. Brain imaging of neurovascular dysfunction in Alzheimer's disease. Acta Neuropathol. 2016;131(5):687-707.
148. Niemantsverdriet E, Ottoy J, Somers C, De Roeck E, Struyfs H, Soetewey F, et al. The Cerebrospinal Fluid Abeta1-42/Abeta1-40 Ratio Improves Concordance with Amyloid-PET for Diagnosing Alzheimer's Disease in a Clinical Setting. J Alzheimers Dis. 2017;60(2):561-76.
149. Leuzy A, Cicognola C, Chiotis K, Saint-Aubert L, Lemoine L, Andreasen N, et al. Longitudinal tau and metabolic PET imaging in relation to novel CSF tau measures in Alzheimer's disease. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2019.

7. APÊNDICE

Apêndice 1- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para sujeitos normais - controles, página 1 de 5.

Projeto: Biomarcadores na doença de Alzheimer e Comprometimento Cognitivo Leve: estudo de métodos de Ressonância Magnética funcional e marcadores liquóricos e plasmáticos.

Pesquisador responsável: Dr. Marcio L. F. Balthazar Data:_____

Prezado(a) Senhor(a):

Favor ler estas 4 (quatro) folhas cuidadosamente. Elas explicarão a você o presente estudo e o ajudará a decidir se quer tomar parte dele. Se precisar de qualquer informação adicional após, estaremos à sua disposição para responder as dúvidas que você possa ter.

Doença de Alzheimer (DA)

É uma doença que começa geralmente no idoso e afeta aos poucos a memória e outras habilidades mentais como linguagem, orientação, habilidades manuais, podendo ter sintomas psiquiátricos como depressão, alucinações, delírios, dificultando o dia-a-dia do paciente. Em nosso estudo, pretendemos avaliar pessoas com doença de Alzheimer em sua fase inicial.

Comprometimento Cognitivo Leve (CCL)

É o termo usado para pessoas que apresentam algum problema cognitivo (memória, linguagem, atenção, etc.) sem que isso não comprometa de forma significativa a independência da pessoa no dia-a-dia. Quem tem CCL tem chance aumentada de vir a desenvolver DA no futuro.

O Estudo

O estudo que estamos realizando tem por objetivo principal detectar possíveis alterações iniciais em pessoas com CCL e DA, através de exames de sangue, líquor e ressonância magnética do cérebro. Esse tipo de estudo é importante para que se possa melhorar o diagnóstico precoce dessas doenças e, no futuro, tornar o tratamento mais efetivo. Sabe-se que a doença de Alzheimer está relacionada a alterações em algumas

proteínas que se depositam no cérebro, como por exemplo, proteínas chamadas tau e beta- amiloide Nesse projeto de pesquisa pretendemos fazer a dosagem dessas proteínas e relacioná-las com os sintomas de memória, entre outros, assim como com imagens do cérebro (por meio de exame de ressonância magnética) e a genética do paciente (presença ou não de um gene que pode aumentar o risco de desenvolvimento da doença de Alzheimer). Esse gene, entretanto, não dá certeza se a pessoa virá a ter essa doença, apenas mostra se ela/ele tem chance maior de vir a desenvolvê-la.

Os exames das pessoas normais são fundamentais para entendermos melhor as causas da doença. Eles serão comparados com os exames dos pacientes, visando melhorar o diagnóstico precoce da doença de Alzheimer.

Procedimentos: As pessoas voluntárias serão perguntadas sobre a autorização para coleta de 10ml do sangue para os estudos. Não é necessário estar em jejum e nem interromper medicações utilizadas.

Será perguntada também sobre a realização de testes psicológicos (similares a testes psicotécnicos) e ressonância magnética cerebral. Estes exames não são invasivos e não causam danos ao paciente. O exame de Ressonância Magnética funcional não trás nenhum risco para o indivíduo. Não podem realizar esse exame apenas aqueles que possuem metal no corpo (como próteses, fios, secundários a cirurgias anteriores) ou têm medo ou pânico de locais fechados.

Risco e Desconforto: A coleta de sangue será feita por punção venosa, como é feito em exames de sangue de rotina

Ressonância Magnética: O procedimento de ressonância magnética é semelhante a uma tomografia. Um alto falante dentro do campo magnético possibilita a constante comunicação com as pessoas responsáveis pelo exame. Durante todo o tempo o pessoal médico e paramédico pode ver e ouvir a pessoa, que pode ser removida se for preciso. O procedimento pode durar entre 30 a 45 minutos. O exame de Ressonância Magnética funcional não trás nenhum risco para o paciente. Não podem realizar esse exame apenas aqueles que possuem metal no corpo (como próteses, fios, secundários a cirurgias anteriores) ou têm medo ou pânico de locais fechados.

O único desconforto relacionado a este exame é o ruído intermitente durante os primeiros 15 minutos. Depois disso o ruído será muito menor. O pessoal técnico providenciará tapa-ouvidos para que o exame seja mais confortável.

Exame de sangue – material genético:
Neste estudo, pretendemos avaliar a presença de variantes de um gene que, de acordo com pesquisas em populações de outros países, pode ser um fator de risco para o desenvolvimento de doença de Alzheimer. É o gene da apolipoproteína E, que pode apresentar 5 alelos, numerados de ε1 a ε5. A presença de alelos ε4 pode conferir risco aumentado para desenvolver a doença, porém não significa que a pessoa irá necessariamente desenvolvê-la. Quaisquer dúvidas relacionadas a esse exame, favor contatar o Dr. Marcio Balthazar. Se houver necessidade, os indivíduos poderão ser orientados no ambulatório de Neurogenética do HC Unicamp, sob supervisão da Prof[a]. Dra. Íscia Lopes-Cendes.

O sr (a). tem o direito de ser informado sobre o resultado de seu exame:

( ) desejo ser informado dos resultados do exame genético;

( ) não desejo ser informado dos resultados do exame genético.

Benefícios: Melhor entendimento da Doença de Alzheimer para ajudar na criação futura de novos métodos diagnósticos e terapêuticos. Não existe benefício imediato para o paciente.

Recusa ou descontinuação da participação: Durante o decorrer do estudo informaremos ao paciente o andamento da pesquisa, podendo este deixar de participar da pesquisa a qualquer momento, sem prejuízo no atendimento que recebe pelo HC – UNICAMP, caso decida não colaborar com a equipe, pois a participação do paciente é voluntária.

Sigilo: As informações recebidas durante e depois do estudo e a privacidade dos pacientes serão mantidas em sigilo. Os resultados serão sempre analisados em grupo, estatisticamente, não sendo possível identificar de forma individual qualquer paciente. Caso tenha alguma dúvida deverá procurar o pesquisador Marcio Balthazar nos telefones (19) 3521-7754 ou 3521-9217, ou no e-mail mbalth@unicamp.br

Armazenamento de Material Biológico: Após o estudo realizado, geralmente sobra alguma quantidade de líquor e soro, que tem a capacidade de ser avaliada em novas pesquisas futuras, sem a necessidade de realizar procedimentos de punção, com todos os seus riscos e desconfortos. Toda nova pesquisa a ser realizada com o material

armazenado será submetida para aprovação do Comite de Ética em Pesquisa da Unicamp e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Eu:

( ) concordo em participar do presente estudo, porém NÃO AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, devendo o mesmo ser descartado ao final desta pesquisa.

( ) concordo em participar do presente estudo e AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, sendo necessário meu consentimento a cada nova pesquisa, que deverá ser aprovada pelo CEP institucional e, se for o caso, pela CONEP.

( ) concordo em participar do presente estudo e AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, dispensando meu consentimento a cada nova pesquisa, que deverá ser aprovada pelo CEP institucional e, se for o caso, pela CONEP.

Eu confirmo que Dr. Marcio Balthazar me explicou o objetivo do estudo, os procedimentos aos quais serei submetido e os riscos, desconforto e possíveis vantagens advindas desse projeto de pesquisa. Eu li, e/ou me foi explicado, assim como compreendi e recebi uma cópia deste formulário de consentimento e estou de pleno acordo em participar do estudo.

Paciente/Responsável:_____Idade: ____

RG:_____

Endereço:_____

Assinatura : _____

Responsabilidade do pesquisador.

Eu expliquei a_____o objetivo do estudo, os procedimentos requeridos e os possíveis riscos e vantagens que poderão advir do estudo, usando o melhor do meu conhecimento. Eu me comprometo a fornecer uma cópia desse formulário de consentimento ao participante ou responsável.

Dr. Marcio L. F. Balthazar
Email.: mbalth@unicamp.br
Tel.: (19) 3521-7754/3521-9217

Outros Membros da Equipe e telefones:
1)
2)
3)
4)
5) Comitê de Ética em Pesquisa Tel: (19) 3521-8936
Email. cep@fcm.unicamp.br
Rua Tessália Vieira de Camargo, 126 – Caixa Postal 6111
13083-887 Campinas-SP

Qualquer intercorrências médicas, ligar para qualquer um dos membros da equipe.

Apêndice 2- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) - para pacientes com sintomas clínicos de Doença de Alzheimer e Comprometimento Cognitivo Leve -, página 1 de 5.

Projeto: Biomarcadores na doença de Alzheimer e Comprometimento Cognitivo Leve: estudo de métodos de Ressonância Magnética funcional e marcadores liquóricos e plasmáticos.

Pesquisador responsável: Dr. Marcio L. F. Balthazar Data:_____

Prezado(a) Senhor(a):

Favor ler estas 4 (quatro) folhas cuidadosamente. Elas explicarão a você o presente estudo e o ajudará a decidir se quer tomar parte dele. Se precisar de qualquer informação adicional após, estaremos à sua disposição para responder as dúvidas que você possa ter.

Doença de Alzheimer (DA)

É uma doença que começa geralmente no idoso e afeta aos poucos a memória e outras habilidades mentais como linguagem, orientação, habilidades manuais, podendo ter sintomas psiquiátricos como depressão, alucinações, delírios, dificultando o dia-a-dia do paciente. Em nosso estudo, pretendemos avaliar pessoas com doença de Alzheimer em sua fase inicial.

Comprometimento Cognitivo Leve (CCL)

É o termo usado para pessoas que apresentam algum problema cognitivo (memória, linguagem, atenção, etc.) sem que isso não comprometa de forma significativa a independência da pessoa no dia-a-dia. Quem tem CCL tem chance aumentada de vir a desenvolver DA no futuro.

O Estudo

O estudo que estamos realizando tem por objetivo principal detectar possíveis alterações iniciais em pessoas com CCL e DA, através de exames de sangue, líquor e ressonância magnética do cérebro. Esse tipo de estudo é importante para que se possa melhorar o diagnóstico precoce dessas doenças e, no futuro, tornar o tratamento mais efetivo. Sabe-se que a doença de Alzheimer está relacionada a alterações em algumas

proteínas que se depositam no cérebro, como por exemplo, proteínas chamadas tau e beta-amiloide. Nesse projeto de pesquisa pretendemos fazer a dosagem dessas proteínas e relacioná-las com os sintomas de memória, entre outros, assim como com imagens do cérebro (por meio de exame de ressonância magnética) e a genética do paciente (presença ou não de um gene que pode aumentar o risco de desenvolvimento da doença de Alzheimer). Esse gene, entretanto, não dá certeza se a pessoa virá a ter essa doença, apenas mostra se ela/ele tem chance maior de vir a desenvolvê-la.

Esses exames são fundamentais para entendermos melhor as causas da doença. Eles serão comparados com os exames de voluntários não-diagnosticados com Doença de Alzheimer, visando melhorar o diagnóstico precoce da mesma.

Procedimentos: O paciente durante procedimento diagnóstico no ambulatório de neurologia da UNICAMP / HC será perguntado da autorização para coleta de 10ml do líquor (obtida pela punção lombar) e 10ml do sangue para os estudos. Não é necessário estar em jejum e nem interromper medicações utilizadas.

O paciente que se dispuser a participar do estudo fará algumas consultas com o médico neurologista para avaliação do seu problema. Fará testes psicológicos (similares a testes psicotécnicos) e ressonância magnética cerebral. Estes exames não são invasivos e não causam danos ao paciente. O exame de Ressonância Magnética funcional não trás nenhum risco para o paciente. Não podem realizar esse exame apenas aqueles que possuem metal no corpo (como próteses, fios, secundários a cirurgias anteriores) ou têm medo ou pânico de locais fechados.

Risco e Desconforto: A coleta do líquor será realizada nas costas (região lombar). A dor que acompanha a punção lombar é semelhante aquela da coleta de sangue. O desconforto será mínimo, pois será realizada com anestesia local por profissional treinado e devidamente habilitado para a realização de punção lombar. Após submeter-se a punção lombar, o paciente deverá permanecer em repouso em casa, por 24 horas, e aumentar a ingestão de líquidos. Este repouso é importante para evitar dor de cabeça após a punção, impossibilitando a realização das atividades habituais. Se houver dor, mesmo com o repouso, o paciente deverá permanecer por mais alguns dias sem atividades e ingerir a medicação prescrita pelo seu médico. Este tipo de dor de cabeça não traz qualquer prejuízo ao paciente, mas necessita de repouso para desaparecer.

O material é descartável e as agulhas atuais (modelo 22G x 3.5 = 70x7) são mais finas e de excelente qualidade. Caso ocorra qualquer desconforto após o procedimento, o paciente deverá contactar a equipe de atendimento do HC - UNICAMP e a equipe de pesquisa, que orientarão as medidas a serem tomadas para aliviar os sintomas, sem nenhum custo.

Ressonância Magnética: O procedimento de ressonância magnética é semelhante a uma tomografia. Um alto falante dentro do campo magnético possibilita a constante comunicação com as pessoas responsáveis pelo exame. Durante todo o tempo o pessoal médico e paramédico pode ver e ouvir a pessoa, que pode ser removida se for preciso. O procedimento pode durar entre 30 a 45 minutos. O exame de Ressonância Magnética funcional não traz nenhum risco para o paciente. Não podem realizar esse exame apenas aqueles que possuem metal no corpo (como próteses, fios, secundários a cirurgias anteriores) ou têm medo ou pânico de locais fechados.

O único desconforto relacionado a este exame é o ruído intermitente durante os primeiros 15 minutos. Depois disso o ruído será muito menor. O pessoal técnico providenciará tapa-ouvidos para que o exame seja mais confortável.

Exame de sangue – material genético:

Neste estudo, pretendemos avaliar a presença de variantes de um gene que, de acordo com pesquisas em populações de outros países, pode ser um fator de risco para o desenvolvimento de doença de Alzheimer. É o gene da apolipoproteína E, que pode apresentar 5 alelos, numerados de ε1 a ε5. A presença de alelos ε4 pode conferir risco aumentado para desenvolver a doença, porém não significa que a pessoa irá necessariamente desenvolvê-la. Quaisquer dúvidas relacionadas a esse exame, favor contatar o Dr. Marcio Balthazar. Se houver necessidade, os indivíduos poderão ser orientados no ambulatório de Neurogenética do HC Unicamp, sob supervisão da Prof[a]. Dra. Íscia Lopes-Cendes.

O sr (a). tem o direito de ser informado sobre o resultado de seu exame:

( ) desejo ser informado dos resultados do exame genético;

( ) não desejo ser informado dos resultados do exame genético.

Benefícios: Melhor entendimento da Doença de Alzheimer para ajudar na criação futura de novos métodos diagnósticos e terapêuticos. Não existe benefício imediato para o paciente.

Recusa ou descontinuação da participação: Durante o decorrer do estudo informaremos ao paciente o andamento da pesquisa, podendo este deixar de participar da pesquisa a qualquer momento, sem prejuízo no atendimento que recebe pelo HC – UNICAMP, caso decida não colaborar com a equipe, pois a participação do paciente é voluntária.

Sigilo: As informações recebidas durante e depois do estudo e a privacidade dos pacientes serão mantidas em sigilo. Os resultados serão sempre analisados em grupo, estatisticamente, não sendo possível identificar de forma individual qualquer paciente. Caso tenha alguma dúvida deverá procurar o pesquisador nos telefones (19) 3521-7754 ou 3521-9217 e no email mbalth@unicamp.br

Armazenamento de Material Biológico: Após o estudo realizado, geralmente sobra alguma quantidade de líquor e soro, que tem a capacidade de ser avaliada em novas pesquisas futuras, sem a necessidade de realizar procedimentos de punção. Toda nova pesquisa a ser realizada com o material armazenado será submetida para aprovação do Comite de Ética em Pesquisa da Unicamp e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Eu:

( ) concordo em participar do presente estudo, porém NÃO AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, devendo o mesmo ser descartado ao final desta pesquisa.

( ) concordo em participar do presente estudo e AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, sendo necessário meu consentimento a cada nova pesquisa, que deverá ser aprovada pelo CEP institucional e, se for o caso, pela CONEP.

( ) concordo em participar do presente estudo e AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, dispensando meu consentimento a cada nova pesquisa, que deverá ser aprovada pelo CEP institucional e, se for o caso, pela CONEP.

Eu confirmo que o Dr. Marcio Balthazar me explicou o objetivo do estudo, os procedimentos aos quais serei submetido e os riscos, desconforto e possíveis

vantagens advindas desse projeto de pesquisa. Eu li, e/ou me foi explicado, assim como compreendi e recebi uma cópia deste formulário de consentimento e estou de pleno acordo em participar do estudo.

Paciente/Responsável:_____Idade: ____

RG:_____

Endereço:_____

Assinatura : _____

Responsabilidade do pesquisador.

Eu expliquei a_____o objetivo do estudo, os procedimentos requeridos e os possíveis riscos e vantagens que poderão advir do estudo, usando o melhor do meu conhecimento. Eu me comprometo a fornecer uma cópia desse formulário de consentimento ao participante ou responsável.

Dr. Marcio L. F. Balthazar
Email.: mbalth@unicamp.br
Tel.: (19) 3521-7754/3521-9217

Outros Membros da Equipe e telefones:
1)
2)
3)
4)
5) Comitê de Ética em Pesquisa Tel: (19) 3521-8936
Email. cep@fcm.unicamp.br
Rua Tessália Vieira de Camargo, 126 – Caixa Postal 6111
13083-887 Campinas-SP

Qualquer intercorrências médicas, ligar para qualquer um dos membros da equipe.

8. ANEXOS

Anexo 1:

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Biomarcadores na doença de Alzheimer e Comprometimento Cognitivo Leve: estudo de métodos de Ressonância Magnética funcional e marcadores liquóricos e plasmáticos

Pesquisador: Marcio Luiz Figueredo Balthazar

Área Temática: Área 1. Genética Humana.
(Trata-se de pesquisa envolvendo genética humana não contemplada acima.);

Versão: 2

CAAE: 09634412.5.0000.5404

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas - UNICAMP

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 188.021

Data da Relatoria: 19/12/2012

Apresentação do Projeto:

O pesquisador esclarece que a doença de Alzheimer (DA) é uma das condições clínicas que mais têm aumentado sua prevalência, sobretudo pelo envelhecimento da população. É também, dentre as doenças mais prevalentes, aquela que não tem prevenção efetiva ou tratamento eficaz. Assim, um dos aspectos mais relevantes em relação à pesquisa da DA é o desenvolvimento de biomarcadores que possam caracterizar esta doença de forma precoce, visando um melhor manejo com os fármacos atuais e com a perspectiva de surgimento de novas drogas que possam interferir na sua história natural. Os critérios mais recentes para diagnóstico da DA (NIA- Alzheimer's Association 2011) já incluem alguns biomarcadores, o que torna imperativo o seu estudo em nosso país. A Ressonância Magnética funcional é um método com alto potencial para tornar-se um biomarcador de imagem, com a utilização do método sem tarefa cognitiva (conectividade funcional intrínseca), no qual é possível identificar a integridade de conexão de determinadas redes neurofuncionais. Pretende-se correlacionar este método com neuroimagem estrutural (volumetria, morfometria baseada em voxels, tratografia, espessura cortical). Todos estes dados serão avaliados em conjunto com variáveis cognitivas, neuropsiquiátricas e funcionais. Este projeto caracteriza uma nova linha de pesquisa em nossa Instituição e pode contribuir de forma importante para a criação de uma rede nacional de neuroimagem na DA nos moldes da ADNI, que existe nos EUA, Europa e

Japão.

Objetivo da Pesquisa:

(1) Comparar a dosagem em LCR de ßA40, ßA42 e proteína t-tau e p-tau, assim como a razão entre elas, em pacientes com demência na DA - fase leve, pacientes com CCLa ;(2) Comparar a dosagem em plasma e LCR de IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, a-TNF, ¿1-antiquimotripsina e TGFß em pacientes com DDA leve e pacientes com CCLa. Compararemos também a dosagem plasmática em idosos normais APOE4 + e APOE4 -;(3) Verificar se há correlação entre os dados dos itens (1) e (2) com o desempenho cognitivo, neuropsiquiátrico e funcional nos grupos, considerando o Mini-Exame do Estado Mental (MEEM), o Teste de Aprendizado Auditivo-Verbal de Rey (TAAVR), o inventário neuropsiquiátrico e a Escala Clínica de Demência;(4) Comparar os grupos quanto aos dados de RM estrutural (densidade de substância cinzenta e espessura cortical) e funcional em espaço nativo (grau de conectividade funcional intrínseca da Default Mode Network e Salience Network); (5) Desenvolver algoritmos que levem em conta os dados neuropsicológicos (memória episódica), de neuroimagem e biomarcadores em LCR e plasma visando classificar os indivíduos de forma automatizada dentro de cada grupo.(6) Acompanhar longitudinalmente o padrão de conectividade funcional da DMN e a dosagem das provas inflamatórias em plasma nos idosos normais APOE4+ e CCLa, repetindo o exame de RMf e plasma a cada 6 meses.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os exames propostos neste projeto são seguros e utilizados de forma rotineira na prática clínica neurológica. Os desconfortos previstos compreendem a punção lombar (realizada com anestesia local por profissional treinado e devidamente habilitado), o exame de ressonância magnética (ruído intermitente durante os primeiros 15 minutos) e a coleta de sangue para os estudos bioquímicos e de genética molecular. Não haverá benefícios diretos aos sujeitos de pesquisa, sendo que o estudo deverá resultar em benefícios sociais pela construção do conhecimento como um todo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto tem financiamento FAPESP (modalidade JP), para início em Abril de 2013. Tem potencial para trazer benefícios futuros aos pacientes portadores de doença de Alzheimer.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto de pesquisa gerado pela Plataforma Brasil contém todos os itens adequadamente preenchidos, incluindo cronograma e orçamento detalhado, citando como fonte de financiamento da FAPESP. A folha de rosto foi assinada pelo pesquisador principal e pelo reponsável da proponente (superintendente do HC/Unicamp), complementada por carta de exclarecimento da FAPESP no que se refere ao "patrocinador" do estudo. Foram apresentados dois modelos de TCLE, um aos pacientes e outro aos indivíduos controle, com detalhamento do estudo. As recomendações do parecer consubstanciado foram atendidas

Recomendações:

1. Lembramos que o TCLE deve ser elaborado em duas vias, sendo uma retida pelo sujeito da pesquisa ou

por seu representante legal e uma arquivada pelo pesquisador (resolução 196/96 CNS/MS, artigo IV.2 ¿d¿). 2. Se o TCLE tiver mais de uma página, o sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, e o pesquisador responsável deverão rubricar todas as folhas desse documento, apondo suas assinaturas na última página do referido termo (Carta Circular nº. 003/2011/CONEP/CNS).

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado após resposta a pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

CAMPINAS, 23 de Janeiro de 2013

Assinador por:
Carlos Eduardo Steiner
(Coordenador)

MINISTÉRIO DA SAÚDE - Conselho Nacional de Saúde - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP

PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

Projeto de Pesquisa:
Biomarcadores na doença de Alzheimer e Comprometimento Cognitivo Leve: estudo de métodos de Ressonância Magnética funcional e marcadores liquóricos e plasmáticos

Informações Preliminares

Responsável Principal

CPF/Documento: 267.283.968-96	Nome: Marcio Luiz Figueredo Balthazar
Telefone: 1992109435	E-mail: mbalth@gmail.com

Instituição Proponente

CNPJ:	Nome da Instituição: Hospital de Clínicas - UNICAMP

Essa submissão de emenda é exclusiva do seu Centro Coordenador?

A emenda é exclusiva de seu Centro Coordenador, então as alterações realizadas em seu projeto, em virtude da emenda, NÃO serão replicadas nos Centros Participantes vinculados e nos Comitês de Ética das Instituições Coparticipantes, quando da sua aprovação.

É um estudo internacional? Não

■ **Equipe de Pesquisa**

CPF/Documento	Nome
318.622.278-88	ANA CARLETTI
279.086.661-91	Fernando Cendes
067.093.971-49	Benito Pereira Damasceno
944.569.928-91	Leonilda Maria Barbosa dos Santos

Área de Estudo

Área Temática Especial

Genética Humana:
(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;)

Grandes Áreas do Conhecimento (CNPq)

- Grande Área 4. Ciências da Saúde

Propósito Principal do Estudo (OMS)

- Clínico

Título Público da Pesquisa: Biomarcadores na doença de Alzheimer e Comprometimento Cognitivo Leve: estudo de métodos de Ressonância Magnética funcional e marcadores liquóricos e plasmáticos

Contato Público

CPF/Documento	Nome	Telefone	E-mail
267.283.968-96	Marcio Luiz Figueredo Balthazar	1992109435	mbalth@gmail.com

Contato Científico: Marcio Luiz Figueredo Balthazar

Desenho de Estudo / Apoio Financeiro

Desenho do Estudo: Observacional

Condições de saúde ou problemas

Condição de saúde ou Problema
Comprometimento Cognitivo Leve
doença de Alzheimer

Descritores Gerais para as Condições de Saúde

CID1-10:Classificação Internacional de Doenças

Código CID	Descrição CID
F00	Demencia na doenca de Alzheimer (G30.-+)
F06.7	Transtorno cognitivo leve

Descritores Específicos para as Condições de Saúde

CID1-10:Classificação Internacional de Doenças

Código CID	Descrição CID
G30	Doenca de Alzheimer
F06.7	Transtorno cognitivo leve

Desenho:

Estudo observacional, caso-controle, longitudinal

Apoio Financeiro

CNPJ	Nome	E-mail	Telefone	Tipo
43.828.151/0001-45	FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO			Institucional Principal

Palavra Chave

Palavra-chave
doença de Alzheimer
comprometimento cognitivo leve
biomarcadores
ressonância magnética funcional
neuroinflamação
proteína beta amiloide
proteína tau

Detalhamento do Estudo

Resumo:

A doença de Alzheimer (DA) é uma das condições clínicas que mais têm aumentado sua prevalência, sobretudo pelo envelhecimento da população. É também, dentre as doenças mais prevalentes, aquela que não tem prevenção efetiva ou tratamento eficaz. Assim, um dos aspectos mais relevantes em relação à pesquisa da DA é o desenvolvimento de biomarcadores que possam caracterizar esta doença de forma precoce, visando um melhor manejo com os fármacos atuais e com a perspectiva de surgimento de novas drogas que possam interferir na sua história natural. Os critérios mais recentes para diagnóstico da DA (NIA- Alzheimer's Association 2011) já incluem alguns biomarcadores, o que torna imperativo o seu estudo em nosso país. Neste projeto, os principais objetivos são: 1) iniciar uma nova linha de pesquisa translacional em DA em nossa Instituição, que promova pesquisas em vários aspectos da doença. De forma específica, o estudo de mecanismos fisiopatológicos como dosagem de proteína beta-amiloide e proteínas tau total e tau fosforilada no LCR e marcadores inflamatórios como as interleucinas (IL) 1, IL 6, IL 10, IL 12, IL 18, fator de necrose tumoral alfa, alfa1-antiquimotripsina e TGFß em plasma e LCR. 2) A criação de condições para que nosso centro participe ativamente da versão brasileira do Alzheimer¿s Disease Neuroimaging Initiative (ADNI - Brasil), em fase de discussão pela Academia Brasileira de Neurologia. De forma específica, estudaremos técnicas de neuroimagem funcional e estrutural. A Ressonância Magnética funcional é um método com alto potencial para tornar-se um biomarcador de imagem, com a utilização do método sem tarefa cognitiva (conectividade funcional intrínseca), no qual é possível identificar a integridade de conexão de determinadas redes neurofuncionais. Pretendemos correlacionar este método com neuroimagem estrutural (volumetria, morfometria baseada em voxels, tratografia, espessura cortical). Todos estes dados serão avaliados em conjunto com variáveis cognitivas, neuropsiquiátricas e funcionais. Este projeto caracteriza uma nova linha de pesquisa em nossa Instituição e pode contribuir de forma importante para a criação de uma rede nacional de neuroimagem na DA nos moldes da ADNI, que existe nos EUA, Europa e Japão.

Introdução:

A doença de Alzheimer (DA) é um grave problema de saúde pública que tende a se intensificar devido, sobretudo, ao envelhecimento da população. A prevalência da DA dobra, em média, a cada 5 anos passando de 1% aos 60 anos e chegando a mais de 40% da população com mais de 85 anos de idade1. Em um estudo realizado na cidade de Catanduva/SP, foi encontrada uma prevalência de demência de 7,1% na população acima de 65 anos2. Estima-se que, em todo o mundo, quase 30 milhões de pessoas sofram de DA3. Nos EUA, a DA representa a sexta causa de morte e é a única doença entre as dez causas mais comuns que não pode ser prevenida ou curada. Ainda, considerando-se a última década, é a única dentre as dez que teve um aumento importante em sua taxa de mortalidade4.Um dos principais aspectos da pesquisa contemporânea em DA é encontrar biomarcadores que possam facilitar o diagnóstico, principalmente nas fases iniciais da doença ou até mesmo antes que haja o desenvolvimento de demência. Isso se deve, sobretudo, ao melhor prognóstico com o tratamento farmacológico e não-farmacológico, mas também pela perspectiva do desenvolvimento de novas drogas que possam mudar a história natural desta patologia. Estas são as fases da doença em que as novas drogas modificadoras de sua evolução (atualmente em fase III de experimentação) teriam maior eficácia. Muitas das novas drogas tentadas em fase II falharam possivelmente porque foram usadas na fase de demência estabelecida conforme os critérios DSM-IV e outros. Do ponto de vista econômico, uma intervenção que possa retardar o início dos sintomas da demência na DA em cinco anos resultaria em uma diminuição de 57% no número de pacientes com demência na DA e diminuição da projeção de custos de cerca de 45%5. Nesse contexto, tem sido usado o conceito de Comprometimento Cognitivo Leve (CCL) que é um termo clínico aplicado a pacientes com uma ou mais alterações cognitivas objetivas, sem que haja prejuízo significativo das atividades de vida diária, ou seja, sem que sejam preenchidos critérios para diagnóstico de demência. Embora não haja um critério universalmente aceito, a maioria dos pesquisadores considera necessários: uma queixa cognitiva (mais comumente memória episódica), preferencialmente confirmada por uma pessoa próxima; comprometimento cognitivo objetivo, com desempenho inferior em testes neuropsicológicos ao esperado para pessoas da mesma faixa etária e escolaridade; atividades de vida diária preservadas ou minimamente comprometidas6. O entendimento da fisiopatologia da DA aumentou significativamente nos últimos 20 anos, o que exigiu uma revisão em 2011 dos critérios diagnósticos mais utilizados (NINCDS-ADRDA)7. Uma das mudanças mais importantes foi a incorporação de biomarcadores de neuroimagem e líquido cefalorraquidiano (LCR) e a formalização de diferentes estágios da doença, que vão desde demência na DA até DA pré-clínica (conceito restrito para fins de pesquisa). Biomarcadores são parâmetros fisiológicos, bioquímicos ou anatômicos que podem ser medidos in vivo e que refletem características específicas dos processos fisiopatológicos relacionados à doença8.Em relação à DA, as características anátomo-patológicas mais marcantes são a presença anormal de placas neuríticas (PN), emaranhados neurofibrilares (ENF) e diminuição de densidade sináptica. As PN são compostas por um núcleo central contendo o peptídeo beta-amiloide (ßA) circundada por astrócitos, micróglia e neuritos distróficos geralmente contendo filamentos helicoidais pareados9. Resumidamente, o peptídeo ßA se origina após duas clivagens proteolíticas na

proteína precursora do ßA (PPßA), que são realizadas pelas enzimas ¿ e ß-secretase. A PPßA também pode ser clivada pela ¿-secretase, o que evita a formação do ßA. Os ENF contém filamentos helicoidais pareados originados da hiperfosforilação da proteína tau (uma proteína associada aos microtúbulos), o que gera desestabilização do citoesqueleto celular e morte neuronal10.Há alguns fatores de risco conhecidos para a DA de início tardio, como idade, doenças vasculares e fatores genéticos como a presença do alelo ¿4 da apolipoproteína E (APOE4), uma proteína carreadora de colesterol envolvida no metabolismo das placas neuríticas (PN)11. Existem 5 alelos para a APOE, numerados de ¿1 a ¿5, sendo o mais comum o ¿3 (cerca de 90% da população caucasiana com 1 alelo e 60% com 2 alelos), o ¿2, cuja presença pode conferir proteção contra o depósito de peptídeo ß-amilóide (ßA) e o ¿4, com cerca de 30 % da população com 1 alelo11. Myers et al. (1996) mostraram que a chance de desenvolver DA em uma população caucasiana esteve diretamente relacionada à quantidade de alelos ¿412. Nesse estudo, 55% do grupo homozigoto (APOE ¿4/¿4) desenvolveu DA até a idade de 80 anos, contra 27% do grupo ¿3/¿4 e 9% do grupo ¿3/¿3 até a idade de 85 anos. Vários mecanismos têm sido propostos para explicar a causa da relação entre APOE4 e DA. Geralmente é aceito que há interação com o peptídeo ßA, aumentando sua deposição nas placas e diminuindo seu clearance13.O melhor conhecimento da fisiopatologia da DA levou ao desenvolvimento de pesquisas que procuram encontrar diferentes biomarcadores tanto em fluidos corporais, como em neuroimagem. Estas técnicas permitem detectar evidências dos processos fisiopatológicos da DA in vivo. É sabido que o processo fisiopatológico da DA, assim como a presença de alterações cognitivas sutis, começam anos antes do desenvolvimento dos sintomas sugestivos de CCL ou demência na DA, e essas alterações podem ser detectadas ainda na fase pré-clínica. A despeito disso, alguns indivíduos que apresentam evidência dos processos fisiopatológicos da DA, nunca desenvolvem os sintomas da doença. Justamente por isso, os estudos acerca de biomarcadores devem ser incentivados, buscando tanto um melhor entendimento do processos fisiopatológicos, quanto uma melhor acurácia na sensibilidade e especificidade desses métodos. O modelo teórico da sequência temporal dos eventos fisiopatológicos na DA aponta o peptídeo ßA como peça-chave inicial no desencadeamento do processo. Esse estágio inicial da DA pré-clínica (estágio 1 ou amiloidose assintomática) pode ser demonstrado por meio de biomarcadores como diminuição do ßA-42 no LCR ou alta captação do marcador para ßA em exames de PET. Com a progressão do processo, surgem evidências de neurodegeneração, com aumento de proteína tau total e fosforilada (tau-t e tau-p) no LCR, além de evidências de disfunção neuronal (detectadas por meio de exames de FDG-PET ou Ressonância Magnética funcional - RMf). Nessa fase pré-clínica também é possível encontrar alterações estruturais, como diminuição de espessura cortical e atrofia hipocampal. Essas alterações se intensificam com a progressão da doença e, já na fase de demência leve na DA, esses biomarcadores atingem um platô e tendem a permanecer estáveis. Nas fases moderada e avançada, há intensificação das alterações desses biomarcadores5.Neste projeto de pesquisa, propomos estudar marcadores de LCR, marcadores plasmáticos e de neuroimagem funcional e estrutural.1.1 Líquido cefalorraquidiano na DA e CCLA dosagem no LCR da ßA42 e proteínas tau total (tau-t) e tau fosforilada na treonina 181 (tau-p) é biomarcador mais bem estabelecido dentre os propostos neste projeto de pesquisa. Em geral, ocorre uma diminuição nos níveis de ßA42 (principal componente das PN) e aumento de tau-t e tau-p (devido à degeneração neuronal associada ao acúmulo intracelular de emaranhados neurofibrilares). Hansson et al. (2006) mostraram que a combinação destes marcadores no LCR apresentou sensibilidade de 95% e especificidade de 83% como fator preditivo de conversão de CCL para DA14. Em um estudo multicêntrico, Mattsson et al. (2009) encontraram um sensibilidade de 83%, porém ainda não recomendam seu uso na prática clínica rotineira15.Conforme descrito na Introdução, alterações da ßA42 no LCR já podem ser detectadas tanto na fase de CCL, quanto na DA pré-clínica, onde já pode ser observada diminuição do teor desta proteína no LCR16. Aumento da proteína tau-t e tau-p também já podem ser demonstrados em fases iniciais do processo neurodegenerativo. Do mesmo modo, nos pacientes com CCL que evoluem para DA, estes marcadores já se encontram alterados15.Vários estudos demonstraram a validade da utilização dos biomarcadores no LCR na detecção de DA incipiente ou mesmo nos pacientes com CCL que desenvolverão DA17,18,19,20,21. Mais recentemente, em indivíduos saudáveis com diminuição de níveis de ßA no LCR, observou-se relação com pior desempenho em testes de evocação tardia22. Uma curva mais acentuada de queda nos níveis de ßA42 no LCR existe durante início do processo patológico da doença e relativa estabilidade com sua progressão, ao contrário dos níveis de proteína tau, que mudam lentamente durante a evolução23.Em estudo mais recente em 100 pacientes com confirmação patológica de DA e demência não-DA e 100 indivíduos controles, os níveis de biomarcadores no LCR tiveram acurácia boa. Os indivíduos com demência foram discriminados dos controles com sensibilidade de 86% e especificidade de 89%. Os níveis de ßA42 e tau-t no LCR discriminaram pacientes com DA de controles e outras demências de forma contundente, com sensibilidade de 90% e especificidade de 89%. Pacientes com DA foram discriminados de outras demências com medidas de tau-p e ßA42, com sensibilidade de 80% e especificidade de 93%24. A combinação de ßA baixa e proteína tau alta no LCR predisseram a presença de patologia de DA postmortem, em uma amostra de pacientes com diagnóstico de DA, outras demências e outras doenças neurológicas. A razão do nível de tau-p para o de ßA42 teve sensibilidade de 91,6% e especificidade de 85,7%25. Estudo ainda mais recente mostra ainda que a dosagem baixa de BA e alta de tau-t e tau-p no LCR se correlacionam com o padrão-ouro para o diagnóstico anátomo-patológico de DA, ou seja a presença de placas neuríticas e emaranhados neurofibrilares em biópsias cerebrais de pacientes com DA in vivo26. Esses achados dão ainda mais suporte ao fato de como os biomarcadores de LCR refletem a patologia cerebral da DA in vivo.Essas evidências foram extensamente revisadas na série de artigos da revisão dos critérios diagnósticos de DA e recomendações da NIA/AA 2011 e a dosagem dessas proteínas no LCR fazem parte dos critérios para fins de pesquisa5,6,7,8. No artigo ¿Recomendações para o diagnóstico da doença de Alzheimer¿, da Academia Brasileira de Neurologia, de 2011, Frota et al. afirmam que: ¿a positividade de biomarcadores que reflitam o processo patogênico da DA (marcadores moleculares através de PET ou líquor; ou neuroimagem estrutural e funcional), quando presentes, aumentam o grau de confiabilidade do diagnóstico clínico da demência da DA provável¿27. Nessa mesma série de artigos, Caramelli et al. (2011) tratam especificamente da questão do LCR e recomendam como norma: ¿A dosagem do peptídeo ß-amiloide 1-42 e das proteínas tau e tau-fosforilada no LCR pode ser empregada em protocolos de pesquisa ou em ensaios clínicos terapêuticos¿28. Dada a relevância deste tipo de exame, acreditamos ser imperativo a implementação desta linha de pesquisa em nossa instituição. Pretendemos também estudar no LCR outros processos fisiopatológicos relevantes na DA, como neuroinflamação, que será descrita com mais detalhe na sessão abaixo.1.2 Biomarcadores plasmáticos Existem outros fatores causais para a DA, além das alterações descritas acima, como resposta inflamatória local, disfunção mitocondrial, alteração de neurotransmissores secundária a perda dos neurônios colinérgicos do núcleo basal de Meynert, além de perda sináptica precoce. DA, assim, é uma doença de múltiplas causas, e é possível que cada um desses fatores fisiopatológicos contribua de forma diferente para a gênese dos sintomas cognitivos de cada paciente. Fatores causais comuns que ligam todos os possíveis mecanismos patológicos na DA são o estresse oxidativo e a neuroinflamação29. Assim, para a melhor compreensão da fisiopatologia da DA, é fundamental aprofundar o estudo de agentes relacionados à neuroinflamação, assim como correlacioná-los com marcadores de neurodegeneração. Alguns autores sugerem que a neuroinflamação seja tão importante para a gênese da DA quanto as PN e os ENF, embora não haja consenso se os processos inflamatórios podem causar ou apenas resultem da neurodegeneração29. Uma das hipóteses que admite que a inflamação contribui para causar neurodegeneração afirma que os vários fatores de risco para DA causam comprometimento vascular e desregulação celular, o que gera estresse oxidativo e ativação de resposta imunológica30. Processos neuroinflamatórios têm sido cada vez mais implicados na gênese e na progressão da fisiopatologia da DA. Este é um campo de estudo bastante amplo, já que inflamação é um processo complexo que envolve componentes celulares (papel da micróglia e astrócitos), mediadores pró e antiinflamatórios, como complemento e quimiocinas, citocinas inflamatórias relacionadas tanto à resposta imune inata quanto à resposta imune adaptativa, como certas interleucinas (IL-1, Il-2, IL-6, IL-12, entre outras), e fator de necrose tumoral alfa (a-TNF)31. Nesse estudo, procuraremos nos ater ao papel das citocinas inflamatórias, que são uma classe de mediadores inflamatórios implicados na DA e secretados pela micróglia e por astrócitos que circundam as placas neuríticas31. Há evidências também de que o aumento da expressão de certas citocinas, como a IL-1, podem favorecer o catabolismo da PPßA e assim, aumentar a formação da placa contendo ßA32. O processo inflamatório resultante pode influenciar no depósito de ßA e ENF que, uma vez formados, continuam a estimular resposta inflamatória, com ativação microglial e produção de outras interleucinas, especialmente em portadores de APOE4, levando ao desenvolvimento de um feedback positivo que mantém uma resposta neuroinflamatória sustentada mediada por citocinas30,32. A relação entre citocinas pró-inflamatórias e proteínas de fase aguda com a PN não é totalmente compreendida. Alguns autores afirmam que a gênese da DA se dá pelo desbalanço entre produção e remoção das placas contendo ßA. A DA de início tardio se daria por um comprometimento da capacidade de remoção dessas placas32. Há crescente evidência de que proteínas de fase aguda desempenham um papel importante no transporte de ßA do cérebro para o sangue e para o LCR, e de que os níveis dessas proteínas são fortemente regulados por mediadores inflamatórios32.As interleucinas podem também estar relacionadas à patogênese da DA através de outros processos patológicos. Por exemplo, Griffin (1998) mostrou que IL-1 pode aumentar a atividade da enzima acetilcolinesterase, além de ativação microglial e de astrócitos, que produzem mais mediadores inflamatórios33. A IL-6, além de ativação

microglial, pode promover astrogliose34. a-TNF tem papel tanto anti quanto pró-apoptótico, além de ser responsável por grande parte da atividade neurotóxica de monócitos e micróglia31. Além desses fatores, parece haver associação entre DA e vários polimorfismos de genes que originam citocinas pró-inflamatórias, como IL-135,36 , IL-637, a-TNF38,39, e ¿1-antiquimotripsina, uma proteína de fase aguda40,41. Embora a literatura forneça ampla evidência sobre a associação entre neuroinflamação e DA, não há consenso sobre quais citocinas estariam mais envolvidas, e os resultados de diferentes estudos são por vezes inconsistentes42. Além de ocorrer no sistema nervoso central, há forte evidência de que o sistema imunológico periférico também está ativado além do normal em pacientes com DA. A despeito desse fato, permanecem controvérsias sobre quais proteínas inflamatórias estão alteradas na DA e em idosos com declínio cognitivo. Há evidências quanto ao aumento de proteínas inflamatórias como proteína C- reativa (PCR), interleucinas (IL) 1 e 6 , a-TNF, a1- antiquimotripsina, entre outras29,43,44. Também, não há consenso sobre quais mecanismos fisiopatológicos fariam com que a resposta inflamatória periférica levaria à neurodegeneração. Ainda, há discordância entre estudos em relação à concentração dessas substâncias no plasma e no LCR, por exemplo, em relação à IL-6, que pode estar aumentada no plasma, mas não no LCR45. Recente metanálise que considerou 40 estudos de dosagem de citocinas no plasma e 14 estudos no LCR reforçam o papel da resposta inflamatória na DA. Os autores encontraram concentrações plasmáticas mais altas nos pacientes de IL-6, a-TNF, IL-1, TGF-ß, IL-12 e IL-18; e, no LCR, apenas de TGF-ß42.Assim, processos mediados por proteínas de fase aguda e citocinas pró-inflamatórias podem desempenhar um papel fundamental na gênese da DA esporádica de início tardio. Quatro diferentes estudos epidemiológicos prospectivos recentes mostraram que indivíduos não-demenciados com aumento de certas proteínas de fase aguda têm risco aumentado de desenvolver DA46,47,48,49. Esses dados dão mais suporte para a teoria de que mecanismos relacionados à inflamação podem contribuir para o desenvolvimento de DA.Embora a literatura sobre neuroinflamação e DA seja vasta, há relativamente poucos estudos que busquem integrar e correlacionar fatores causais como risco genético, marcadores inflamatórios e de neurodegeneração com aspectos clínicos e de neuroimagem. Há inúmeros indícios de que todos esses fatores possam estar relacionados. Por exemplo, APOE4 pode estar envolvida na resposta inflamatória na DA50,51, assim como pode haver correlação entre níveis de ßA no LCR e de resposta inflamatória. Ainda, Jefferson et al. (2007) mostraram que citocinas pró-inflamatórias podem estar associadas a redução volumétrica cerebral total52. Estudo recente verificou que há correlação entre níveis de IL-6 e a-TNF e sintomas neuropsiquiátricos comuns na DA53. Porém, há poucos estudos que tentam correlacionar esses marcadores inflamatórios com as principais características de neuroimagem estrutural na DA inicial, que é a atrofia de estruturas mediais temporais, notadamente hipocampos e córtices entorrinais54,55,56,57 e alteração da espessura cortical de certas regiões temporais e parietais58. 1.3 Ressonância Magnética funcional A organização cerebral das funções cognitivas pode ser vista como um sistema de redes neurofuncionais interconexas, cada qual contribuindo de forma específica para o funcionamento do sistema como um todo59,60.As doenças neurodegenerativas como a DA, estão entre as principais patologias que podem desintegrar essa organização cerebral, causando tanto problemas cognitivos (memória, atenção, linguagem, praxias, funções executivas), como sintomas psiquiátricos (apatia, depressão, desinibição, mudança de personalidade, entre outros). Novos métodos em RM funcional podem ser úteis na identificação destas redes neurofuncionais. Um exemplo é a análise da modulação espontânea do sinal BOLD (¿blood oxigenation level dependent¿), na ausência de um paradigma experimental ou de qualquer outro estímulo explícito. Esta análise é conhecida como conectividade funcional intrínseca (RMfc) ou "resting-state fMRI". Os exames por RMfc podem detectar correlações interregionais de flutuações do sinal BOLD espontâneo. Diversos estudos mostraram que na ausência de tarefas, ocorre atividade espontânea com oscilações síncronas do sinal BOLD, geralmente em baixa freqüência (0,01 a 0,1 Hz), dentro de grupos de regiões corticais e subcorticais espacialmente distintos, mas funcionalmente relacionados. Essas oscilações síncronas ocorrem tanto em repouso, como em pessoas sob anestesia geral ou durante o sono, mas também durante determinada atividade mental61,62,63. Assim, em concordância com estudos de fisiologia sináptica baseada em redes, regiões com atividade de base síncronas, apresentam conexões anatômicas e funcionais diretas ou indiretas64,65. Dessa forma, exames por RMfc são capazes de detectar redes neuronais interconectadas funcionalmente em pessoas normais e, potencialmente, sua alteração nas doenças neurodegenerativas.A rede neuronal mais estudada na DA é a default mode network (DMN). A DMN é constituída por algumas áreas chaves como giro do cíngulo posterior, precúneo, córtex pré-frontal medial anterior, formação hipocampal, entre outras. Historicamente, desde os primeiros anos de estudo de neuroimagem funcional, constatou-se que determinados grupos de regiões cerebrais se ativavam mesmo na ausência de tarefas cognitivas. Além disso, essas mesmas áreas se ¿deativavam¿, ou seja, apresentavam menor grau de ativação em relação à linha de base, quando indivíduos realizavam tarefas cognitivas como testes de atenção ou de memória operacional66. Outra característica deste sistema é que sua menor ativação facilita ou aumenta a eficácia do desempenho em determinadas tarefas cognitivas. Alguns autores acreditam que haja uma anticorrelação entre tarefas voltadas a um objetivo externo ou influxo de informações sensoriais e as funções citadas para a DMN. Assim, ativação do DMN causaria inibição ou ¿aumentaria o filtro¿ em relação a inputs sensoriais do meio externo e sua ¿deativação¿, facilitaria o desempenho em tarefas cognitivas. Essas teorias vão de encontro aos estudos sobre DMN na DA67. Em resumo, alguns estudos mostram que há uma desintegração da conectividade funcional (associada a atrofia/disfunção das estruturas anatômicas) da DMN mesmo na fase inicial da DA68,69. Outros estudos apontam que há uma menor deativação na DMN quando pacientes com DA executam tarefas cognitivas, o que justificaria em parte o desempenho inferior destes pacientes70,71. Ainda, alguns autores acreditam que possa haver associação entre a menor deativação da DMN (e consequentemente uma ativação neuronal espontânea maior do que a esperada) e a alteração neuropatológica mais característica dessa doença, que é depósito anômalo de peptídeo ßA. Segundo essa teoria (¿hipótese metabólica¿) a alteração funcional da DMN precederia e até poderia causar as alterações anatômicas típicas da doença66.O método de RMfc é atrativo como potencial biomarcador na DA por uma série de razões: é um método não invasivo (inclusive sem necessidade de injeção de contraste) e pode ser repetido várias vezes no decorrer de um estudo longitudinal. O tempo de aquisição das imagens é relativamente curto (aproximadamente 10 minutos) e há vários tipos de softwares gratuitos na internet para análise dos dados. Há tanto substrato teórico (disfunção de redes neurofuncionais causando determinados padrões de desempenho cognitivo característicos de cada demência) quanto demonstrações efetivas de sua alteração nas demências. Pretendemos também correlacionar os achados de RMfc com neuroimagem estrutural, utilizando métodos como volumetria de estruturas mediais temporais e espessura cortical. Em relação ao método de análise de espessura cortical em áreas específicas (¿áreas de assinatura da DA¿), recente artigo aponta ser possível detectar, dentre indivíduos normais, aqueles com mais chance de desenvolver declínio cognitivo em 3 anos.

Hipótese:

1)Há correlação entre marcadores inflamatórios, proteínas beta amiloide e tau, conectividade funcional e sintomas clínicos na doença de Alzheimer e Comprometimento Cognitivo Leve;2) O conjunto dos dados de biomarcadores plasmáticos, liquóricos e de neuroimagem é capaz de classificar os indivíduos nos 3 grupos, independente dos dados clínicos.

Objetivo Primário:

(1) Comparar a dosagem em LCR de ßA40, ßA42 e proteína t-tau e p-tau, assim como a razão entre elas, em pacientes com demência na DA - fase leve, pacientes com CCLa ;(2) Comparar a dosagem em plasma e LCR de IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, a-TNF, ¿1- antiquimotripsina e TGFß em pacientes com DDA leve e pacientes com CCLa. Compararemos também a dosagem plasmática em idosos normais APOE4 + e APOE4 -;(3) Verificar se há correlação entre os dados dos itens (1) e (2) com o desempenho cognitivo, neuropsiquiátrico e funcional nos grupos, considerando o Mini-Exame do Estado Mental (MEEM), o Teste de Aprendizado Auditivo-Verbal de Rey (TAAVR), o inventário neuropsiquiátrico e a Escala Clínica de Demência;(4) Comparar os grupos quanto aos dados de RM estrutural (densidade de substância cinzenta e espessura cortical) e funcional em espaço nativo (grau de conectividade funcional intrínseca da Default Mode Network e Salience Network); (5) Desenvolver algoritmos que levem em conta os dados neuropsicológicos (memória episódica), de neuroimagem e biomarcadores em LCR e plasma visando classificar os indivíduos de forma automatizada dentro de cada grupo.(6) Acompanhar longitudinalmente o padrão de conectividade funcional da DMN e a dosagem das provas inflamatórias em plasma nos idosos normais APOE4+ e CCLa, repetindo o exame de RMf e plasma a cada 6 meses.

(2)

Metodologia Proposta:

Serão selecionados 30 pacientes com DDA leve e 30 pacientes com CCLa acompanhados no ambulatório de Neuropsicologia e Demência do Hospital de Clínicas da Unicamp; 30 idosos normais pareados por sexo, idade e escolaridade com os pacientes com DDA e CCLa. Todos os pacientes estarão cientes da coleta de LCR e sangue para fins de pesquisa, assinando um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Os indivíduos do grupo controle serão recrutados da comunidade por meio de convite oral e informal para aqueles que demonstrarem interesse e também deverão assinar um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Os pacientes serão incluídos após passarem por anamnese cuidadosa, inclusive com algum familiar ou responsável e avaliação clínica e neurológica. Todos os sujeitos serão submetidos a uma avaliação neuropsicológica abrangente (conforme abaixo), com testes cognitivos, funcionais e escalas neuropsiquiátricas: Mini-Exame do Estado Mental (MEEM)83; Escala Clínica de Demência (CDR)82; Inventário Neuropsiquiátrico84; Testes de memória episódica: a)Teste de Aprendizado auditivo-verbal de Rey85; b) item de memória visual da Bateria Breve de Rastreio Cognitivo84, Teste de Nomeação de Boston86; Fluência verbal categórica e fonêmica; Teste de percepção vísuo-espacial do Luria Neuropsychological Investigation (LNI)87; Copia da Figura Complexa de Rey; Digit Span direto e indireto do Wechsler Adult Inteligence Scale Revised (WAIS-R)88; Teste de Trilhas A e B; Stroop Test; Teste do Relógio80; Avaliação de Atividades de Vida diária de Pfeffer91.Avaliação por RM:Os exames de RM serão realizados em um aparelho de 3T Achieva-Intera PHILIPS® adquirido dentro do âmbito do projeto CInAPCe-FAPESP.Imagem funcionalImagens de RMf serão adquiridas com resolução temporal de 2 segundos utilizando protocolo de Echo Planar Image (EPI). A duração das aquisições das EPI será de 10 minutos totalizando 300 volumes ao longo do tempo. Será realizado um etapa de pré-processamento das imagens com correção de movimento, correção no tempo, normalização e suavização, através do SPM 8.Parâmetros: Espessura de 3mm, TR = 2s, TE = 30ms, field of view = AP, voxel = 3 x 3 x 3 mm.Após o pré-processamento, usaremos a análise espacial probabilística de componente independente (Independent Component Analysis ¿ ICA), através do software FSL (http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/) para selecionar as redes de conexão intrínseca de interesse. O grau de conectividade dessas redes, através da medida de seus respectivos t-scores serão usados na comparação entre as diversas condições clínicas entre si e entre essas e os controles.
Também serão usadas na correlação com escores neuropsiquiátricos e cognitivos.Exames de LCR e sangueAmostras de LCR e sangue serão armazenadas em tubos de polipropileno e estocadas a -80º C até a realização dos ensaios propostos. O LCR (10 ml) será retirado e a contagem de células determinada imediatamente antes da estocagem. Será colhida também uma amostra de 10 ml de sangue venoso.Genótipo APOE: Os genótipos serão obtidos por amplificação do DNA genômico com Proteína C-reativa sujeito à enzima de restrição CfoI (Roche, Basel, Suiça), usando primers específicos.Quantificação das proteínas T-tau e P-tau: As análises serão realizadas através dos kits INNOTESTR h TAU Ag e INNOTESTR PHOSPHO-TAU (181P) (Innogenetics, Gent, Belgium). Estes testes são ensaios imunoenzimáticos (ELISA) em que as proteínas (t-tau e p-tau) são capturadas por anticorpos monoclonais específicos. Dosagem de ßA 40 e ßA 42: As análises serão realizadas através dos kits INNOTEST® ß-AMYLOID(1-42) (Innogenetics, Gent, Belgium).Dosagem de citocinas: As IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, TGFß, TNF¿ serão quantificadas no soro, LCR e sobrenadante de cultura de leucócitos pelo método de ELISA.Dosagem de Proteína C-reativa e ¿1- antiquimotripsina: Os níveis de Proteína C-reativa e ¿1- antiquimotripsina serão dosados pelo método de nefelometria cinética.

Critério de Inclusão:

Grupo DDA:Critérios do NIA e Alzheimer¿s Association para DDA provável7;Escala Clínica de Demência (CDR)82 = 1.Grupo CCL amnésticoCritérios do NIA e Alzheimer¿s Association para CCL6;Comprometimento objetivo, obrigatório e não necessariamente exclusivo de memória episódica;CDR = 0,5.Grupo Idosos normais:CDR= 0;Desempenho cognitivo normal para idade e escolaridade.

Critério de Exclusão:

Critérios de Exclusão:
¿ História de outra doença neurológica ou psiquiátrica prévia;
¿ História de traumatismo crânio-encefálico com perda de consciência por mais de 30 minutos;
¿ História de exposição crônica a substâncias neurotóxicas ou alcoolismo;
¿ Doença sistêmica descompensada;

Riscos:

Os exames propostos neste projeto são seguros e utilizados de forma rotineira na prática clínica neurológica. O desconforto resultante da punção lombar será mínimo, pois será realizada com anestesia local por profissional treinado e devidamente habilitado para a realização do procedimento. Após submeter-se a punção lombar, o paciente deverá permanecer em repouso em casa, por 24 horas, e aumentar a ingestão de líquidos. Este repouso é importante para evitar dor de cabeça após a punção, impossibilitando a realização das atividades habituais. Se houver dor, mesmo com o repouso, o paciente deverá permanecer por mais alguns dias sem atividades e ingerir a medicação prescrita pelo seu médico. Este tipo de dor de cabeça não traz qualquer prejuízo ao paciente, mas necessita de repouso para desaparecer. O material a ser usado é descartável e as agulhas atuais (modelo 22G x 3.5 = 70x7) são mais finas e de excelente qualidade. Caso ocorra qualquer desconforto após o procedimento, o paciente deverá contactar a equipe de atendimento do HC - UNICAMP e a equipe de pesquisa, que orientarão as medidas a serem tomadas para aliviar os sintomas, sem nenhum custo.
O exame de Ressonância Magnética funcional não traz nenhum risco para o paciente. Não podem realizar esse exame apenas aqueles que possuem metal no corpo (como próteses, fios, secundários a cirurgias anteriores) ou têm medo ou pânico de locais fechados. O único desconforto relacionado a este exame é o ruído intermitente durante os primeiros 15 minutos. Depois disso o ruído será muito menor. O pessoal técnico providenciará tapa-ouvidos para que o exame seja mais confortável.

Benefícios:

Não há benefício direto ao participar da pesquisa.

Metodologia de Análise de Dados:

- descrição de média e desvio-padrão das diferentes variáveis clínicas, epidemiológicas, liquóricas, plasmáticas e de volume de substância cinzenta;

- regressão linear múltipla entre as diversas variáveis clínicas, liquóricas, plasmáticas e de ressonância magnética;

- teste t - pareado para avaliar a diferença entre os resultados obtidos nos tempos zero, 1, 2 e 3.

Desfecho Primário:

Avaliar o padrão de mudança nos biomarcadores descritos e sua correlação com dados clínicos nos pacientes com DA leve e CCL.

Tamanho da Amostra no Brasil: 90

Países de Recrutamento

País de Origem do Estudo	País	Nº de participantes da pesquisa
Sim	BRASIL	90

Outras Informações

Haverá uso de fontes secundárias de dados (prontuários, dados demográficos, etc)?

Sim

Detalhamento:

Serão avaliados dados referentes à avaliação neuropsicológica, conforme descrito no projeto, e fatores de risco para demências como presença de hipertensão, diabetes, dislipidemia, tireoideopatia, tabagismo, etilismo e índice de massa corporal.

Informe o número de indivíduos abordados pessoalmente, recrutados, ou que sofrerão algum tipo de intervenção neste centro de pesquisa:

90

Grupos em que serão divididos os participantes da pesquisa neste centro

ID Grupo	Nº de Indivíduos	Intervenções a serem realizadas
Doença de Alzheimer leve	30	avaliação neuropsicológica, ressonância magnética, exames sanguíneos e de líquor
Controles	30	avaliação neuropsicológica, ressonância magnética de crânio, exames sanguíneos
Comprometimento Cognitivo Leve	30	avaliação neuropsicológica, ressonância magnética de crânio, exames sanguíneos e de líquor

O Estudo é Multicêntrico no Brasil?

Não

Propõe dispensa do TCLE?

Não

Haverá retenção de amostras para armazenamento em banco?

Sim

Justificativa:

As amostras serão analisadas e armazenadas para estudo futuro, caso essa proposição seja aceita pelo indivíduo, conforme consta do TCLE.

Cronograma de Execução

Identificação da Etapa	Início (DD/MM/AAAA)	Término (DD/MM/AAAA)
Coleta dos dados	01/04/2013	01/04/2014
Conclusão da análise, redação de artigos científicos	01/10/2014	31/03/2015
Análises preliminaries	01/04/2014	01/10/2014

Orçamento Financeiro

Identificação de Orçamento	Tipo	Valor em Reais (R$)
Reserva Técnica	Outros	R$ 21.731,61
Reserva de Importação	Outros	R$ 13.000,00
Benefícios complementares	Outros	R$ 24.000,00
Materiais de consume	Custeio	R$ 110.000,00
Material permanente	Capital	R$ 27.112,00
bolsa jovem pesquisador	Bolsas	R$ 152.136,00
Total em R$		R$ 347.979,61

Bibliografia:

Cummings JL, Cole G. Alzheimer Disease. JAMA 2002; 18:2335-38. Herrera Jr E, Caramelli P, Silveira AS, Nitrini R. Epidemiologic Survey of Dementia in a Community-Dwelling Brazilian Population. Alzheimer disease and Associated disorders 2002; 16(2):103-108. 3. Wilmo A, Jonsson L, Winblad B. An estimate of the worldwide prevalence and direct costs of dementia in 2003. Dement Geriatr Cogn Disord 2006;21(3):175-81. 4. Alzheimer¿s Association 2011. Alzheimer¿s Disease Facts and Figures. http://alz.org/alzheimers_disease_facts_and_figures.asp?type=homepageflash 5. Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer¿s disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer¿s Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer¿s disease. Alzheimer's and Dementia. 2011 May;7(3):280¿292. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman HH, Fox NC, et al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer¿s disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer¿s Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. Alzheimer's and Dementia. 2011 May;7(3):270¿279. 7. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR, Kawas CH, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer`s Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer¿s disease. Alzheimers Dement. 2011;7(3):263¿269. 8. Jack CR, Albert MS, Knopman DS, McKhann GM, Sperling RA, Carrillo MC, et al. Introduction to the recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer¿s Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer¿s disease. Alzheimers Dement. 2011;7(3):257¿262. 9. Eckman CB, Eckman EA. An update on the amyloid hypothesis. Neurol Clin 2007;25:669-682. 10. Poirier J, Danik M, Blass JP. Pathophysiology of the Alzheimer syndrome. In: Gauthier S. Clinical diagnosis and management of Alzheimer¿s disease. London: Martin Dunitz Ed; 2001. p.17-27. 11. Corder EH, Lannfelt L, Bogdanovic N, et al. The role of APOE polymorphisms in late-onset dementias. Cell Mol Life Sci 1998; 54:928-34. 12. Myers RH, Schaefer EJ, Wilson PW, et al. Apolipoprotein E epsilon4 association with dementia in a population-based study: the Framinghan study. Neurology 1996;46(3)673-7. 13. Mahley RW, Weisgraber KH, Huang Y. Apolipoprotein E4: a causative factor and therapeutic target in neuropathology, including Alzheimer's disease. Proc Natl Acad Sci U S A

2006;103:5644-5651. 14. Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Londos E, Blennow K, Minthon L. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. Lancet Neurol 2006;(3):228-34. 15. Mattsson N, Zetterberg H, Hansson O, et al. CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. JAMA 2009;302:385-393. 16. Jack CR Jr, Knopman DS, Jagust WJ, et al. Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. Lancet Neurol 2010; 9: 119-28. 17. Zetterberg H, Wahlund LO, Blennow K. Cerebrospinal fluid markers for prediction of Alzheimer¿s disease. Neurosci Lett 2003; 352: 67-69. 18. Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer¿s disease.
Lancet 2006; 368: 387-403. 19. Mattson N, Zetterberg H, Hansson O et al. CSF biomarkers and incipient Alzheimer Disease in Patients with mild cognitive impairment. JAMA 2009; 302: 385-393. 20. Mittchel AJ. CSF phosphorylated tau in the diagnosis and prognosis of mild cognitive impairment and Alzheimer¿s disease: a meta-analysis of 51 studies. J Neurol Neurosurg Psiquiatr 2009; 80: 966-975. 21. Vemuri P, Wiste HJ, Weigand SD, Shaw LM, Trojanowski JQ, Weiner MW, et al., Alzheimer¿s Disease Neuroimaging Initiative. MRI and CSF biomarkers in normal, MCI, and AD subjects: predicting future clinical change. Neurology 2009; 73:294 ¿301. 22. Stomrud E, Hansson O, Zetterberg H, Blennow K, Minthon L, Londos E. Correlation of longitudinal cerebrospinal fluid biomarkers with cognitive decline in healthy older adults. Arch Neurol 2010; 67: 217-223. 23. Caroli A, Frisoni GB, The Alzheimer¿s Disease Neuroimaging Initiative. The dynamics of Alzheimer¿s disease biomarkers in the Alzheimer¿s Disease Neuroimaging Initiative cohort. Neurobiol Aging 2010; 31: 1263-1274. 24. Engelborghs S, De Vreese K, Van de Casteele T et al. Diagnostic performance of a CSF-biomarker panel in autopsy-confirmed dementia. Neurobiol Aging 2008; 29: 1143-1159. 25. Tapiola T, Alafuzoff I, Herukka SK et al. Cerebrospinal fluid B-amyloid 42 and Tau proteins as biomarkers of Alzheimer-type pathologic changes in the brain. Arch Neurol 2009; 66: 382-389. 26. Seppala TT, Nerg O, Koivisto AM, Rummukainen J, Puli L, Zetterberg H, et al. CSF biomarkers for Alzheimer disease correlate with cortical brain biopsy findings. Neurology. 2012 May 15;78(20):1568¿1575. 27. Frota NA, Nitrini R, Damasceno BP, Forlenza O, Dias-Tosta E, Silva AB, Herrera Jr E, Magaldi RM, Group Recommendations in Alzheimer¿s Disease and Vascular Dementia of the Brazilian Academy of Neurology. Criteria for the diagnosis of Alzheimer¿s Disease. Recommendations of the Scientific Department of Cognitive Neurology and Aging of the Brazilian Academy of Neurology. Dement & Neuropsychol 2011; 5: 146-152. 28. Caramelli P, Teixeira AL, Buchpiegel CA, Lee HW, Livramento JA, Fernandez LL, Anghinah R. Diagnóstico de doença de Alzheimer no Brasil. Exames complementares. Dement. Neuropsychol. 2011;5 supl.1:11-20. 29. McNaull BB, Todd S, McGuinness B, Passmore AP. Inflammation and Anti-Inflammatory Strategies for Alzheimer's Disease - A Mini-Review. Gerontology 2009. 30. Hayes A, Green EK, Pritchard A, et al. A polymorphic variation in the interleukin 1A gene increases brain microglial cell activity in Alzheimer's disease. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2004;75:1475-1477. 31. Heneka M, Obanion M. Inflammatory processes in Alzheimer's disease. Journal of Neuroimmunology. 2007 Mar.;184(1-2):69¿91. 32. Eikelenboom P, Veerhuis R, Scheper W, Rozemuller AJ, van Gool WA, Hoozemans JJ. The significance of neuroinflammation in understanding Alzheimer's disease. J Neural Transm 2006;113:1685-1695. 33. Griffin WS, Sheng JG, Royston MC, Gentleman SM, McKenzie JE, Graham, D.I., Roberts GW, Mrak RE. Glial-neuronal interactions in Alzheimer's disease: the potential role of a `cytokine cycle¿ in disease progression. 1998 Jan.;8(1):65¿72. 34. Selmaj KW, Farooq M, Norton WT, Raine CS, Brosnan CF. Proliferation of astrocytes in vitro in response to cytokines. A primary role for tumor necrosis factor. J. Immunol, 1990:144, 129¿135. 35. Nicoll JA, Mrak RE, Graham DI, Stewart J, Wilcock G, MacGowan S, et al. Association of interleukin-1 gene polymorphisms with Alzheimer's disease. Annals of Neurology 2000, 47(3):365-368. 36. Ji-liang Hu, Gang Li, De-xiang Zhou, Yu-xi Zou, Zhi-shan Zhu, Ru-xiang Xu, Xiao-dan Jiang and Yan-jun Zeng. Genetic analysis of interleukin-1A C(-889)T polymorphism with Alzheimer disease. 2009 Feb.;29(1):81¿85. 37. Papassotiropoulos A, Bagli M, Jessen F, Bayer TA, Maier W, Rao ML, Heun R,. A genetic variation of the inflammatory cytokine interleukin-6 delays the initial onset and reduces the risk for sporadic Alzheimer's disease. Ann. Neurol., 1999:45, 666¿668. 38. McCusker SM, Curran MD, Dynan KB, McCullagh CD, Urquhart DD, Middleton D, et al. Association between polymorphism in regulatory region of gene encoding tumour necrosis factor ¿ and risk of Alzheimer's disease and vascular dementia: a case-control study. The Lancet, 2001 (357) 9254:436-439. 39. Perry RT, Collins JS, Harrell LE, Acton RT, Go RC. Investigation of association of 13 polymorphisms in eight genes in southeastern African American Alzheimer disease patients as compared to age-matched controls. Am J Med Genet 2001;105:332-342. 40. Kamboh MI, Minster RL, Kenney M, et al. Alpha-1-antichymotrypsin (ACT or SERPINA3) polymorphism may affect age-at-onset and disease duration of Alzheimer's disease. Neurobiol Aging 2006;27:1435-1439. 41. Licastro F, Chiappelli M, Grimaldi LM, et al. A new promoter polymorphism in the alpha-1-antichymotrypsin gene is a disease modifier of Alzheimer's disease. Neurobiol Aging 2005;26:449-453. 42. Swardfager W, Lanctôt K, Rothenburg L, Wong A, Cappell J, Herrmann N. A Meta-Analysis of Cytokines in Alzheimer's Disease. Biological Psychiatry. 2010 Nov.;68(10):930¿941. 43. Combs CK. Inflammation and Microglia Actions in Alzheimer's Disease. J Neuroimmune Pharmacol 2009;4(4):380¿388. 44. Rojo LE, Fernandez JA, Maccioni AA, Jimenez JM, Maccioni RB: Neuroinflammation: implications for the pathogenesis and molecular diagnosis of Alzheimer¿s disease. Arch Med Res 2008; 39: 1¿16. 45. Tarkowski E, Blennow K, Wallin A, Tarkowski A (1999): Intracerebral production of tumor necrosis factor-alpha, a local neuroprotective agent, in Alzheimer disease and vascular dementia. J Clin Immunol 19:223¿230. 46. Schmidt R, Schmidt H, Curb JD, Masaki K, White LR, Launer LJ. Early inflammation and dementia: a 25-year follow-up of the Honolulu-Asia Aging Study. Ann Neurol 2002;52:168-174. 47. Yaffe K, Lindquist K, Penninx BW, et al. Inflammatory markers and cognition in well-functioning African-American and white elders. Neurology 2003;61:76-80. 48. Engelhart MJ, Geerlings MI, Meijer J, et al. Inflammatory proteins in plasma and the risk of dementia: the Rotterdam study. Arch Neurol 2004;61:668-672. 49. Dik MG, Jonker C, Hack CE, Smit JH, Comijs HC, Eikelenboom P. Serum inflammatory proteins and cognitive decline in older persons. Neurology 2005;64:1371-1377. 50. LaDu MJ, Shah JA, Reardon CA, et al. Apolipoprotein E and apolipoprotein E receptors modulate A beta-induced glial neuroinflammatory responses. Neurochem Int 2001;39:427-434. 51. Olgiati P, Politis A, Malitas P, et al. APOE epsilon-4 allele and cytokine production in Alzheimer's disease. Int J Geriatr Psychiatry 2009. 52. Jefferson AL, Massaro JM, Wolf PA, et al. Inflammatory biomarkers are associated with total brain volume: the Framingham Heart Study. Neurology 2007;68:1032-1038. 53. Holmes C, Cunningham C, Zotova E, Culliford D, Perry VH. Proinflammatory cytokines, sickness behavior, and Alzheimer disease. Neurology. 2011;77(3):212¿218. 54. Basso M, Yang J, Warren L, et al. Volumetry of amygdala and hippocampus and memory performance in Alzheimer's disease. Psychiatry Res 2006;146:251-261. 55. Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Dekosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J, et al. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. Lancet Neurol 2007;6:734-46. 56. Marchiani NCP, Balthazar ML, Cendes F, Damasceno BP. Hippocampal atrophy and verbal episodic memory performance in amnestic mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease: a preliminary study. Dement. Neuropsychol. 2008;2(1):37-41. 57. Visser PJ, Verhey FR, Hofman PA, Scheltens P, Jolles J. Medial temporal lobe atrophy predicts Alzheimer's disease in patients with minor cognitive impairment. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2002;72:491-497. 58. Bakkour A, Morris JC, Dickerson BC. The cortical signature of prodromal AD: Regional thinning predicts mild AD dementia. Neurology. 2009 Mar. 23;72(12):1048¿1055. 59. Luria, A. R. (1973). The working brain. New York: Basic Books. 60. Mesulam MM. From sensation to cognition. Brain 1998;121:1013-1052. 61. Fox MD, Raichle ME. Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. Nat Rev Neurosci 2007;8(9):700-711. 62. Deshpande G, Santhanam P, Hu X. Instantaneous and causal connectivity in resting state brain networks derived from functional MRI data. NeuroImage. 2010; (22):1-10. 63. van den Heuvel MP, Pol HE. Exploring the brain network: A review on resting-state fMRI functional connectivity. European Neuropsychopharmacology. 2010;20 (8):519-534. 64. Bi G, Poo M. Distributed synaptic modification in neural networks induced by patterned stimulation. Nature 1999;401:792¿796. 65. Katz LC, Shatz CJ. Synaptic activity and the construction of cortical circuits. Science 1996;274:1133¿ 1138. 66. Buckner RL, Andrews-Hanna JR, Schacter DL. The Brain's Default Network: Anatomy, Function, and Relevance to Disease. Ann N Y Acad Sci 2008;1124(1):1-38. 67. Fransson P. Spontaneous low-frequency BOLD signal fluctuations: An fMRI investigation of the resting-state default mode of brain function hypothesis. Hum Brain Mapp 2005;26(1):15-29. 68. Zhang HY, Wang SJ, Liu B, Ma ZL, Yang M, Zhang ZJ, et al. Resting Brain Connectivity: Changes during the Progress of Alzheimer Disease. Radiology 2010;256(2):598-606. 69. Greicius MD, Srivastava G, Reiss AL, Menon V. Default-mode network activity distinguishes Alzheimer¿s disease from healthy aging: Evidence from functional MRI. PNAS 2004; 101:4637¿4642. 70. Functional MRI assessment of task- induced deactivation of the default mode network in Alzheimer's disease and at-risk older individuals. Behav Neurol 2009;21(1):77-91. 71. Persson J, Lind J, Larsson A, Ingvar M, Sleegers K, van Broeckhoven C, et al. Altered deactivation in individuals with genetic risk for Alzheimer's disease.
Neuropsychologia 2008;46(6):1679-1687. 72. Dickerson BC, Stoub TR, Shah RC, et al. Alzheimer-signature MRI biomarker predicts AD dementia in cognitively normal adults. Neurology 2011;76:1395-1402. 73. Seibert TM, Brewer JB. Default network correlations analyzed on native surfaces. J Neurosci Methods 2011;198:301-11. 74. Seibert TM, Majid DS, Aron AR, Corey-Bloom J, Brewer JB. Stability of resting fMRI interregional correlations analyzed in subject-native space: a one-year longitudinal study in healthy adults and premanifest Huntington's disease. Neuroimage 2012;59:2452-63. Seibert TM, Murphy EA, Kaestner EJ, Brewer JB. Interregional Correlations in Parkinson Disease and Parkinson-related Dementia

with Resting Functional MR Imaging. Radiology 2012;263:226-34. Balthazar ML, Yasuda CL, Pereira FR, Pedro T, Damasceno BP, Cendes F. Differences in grey and white matter atrophy in amnestic mild cognitive impairment and mild Alzheimer¿s disease. European Journal of Neurology. 2009 Apr. 1;16(4):468¿474. 77. Balthazar ML, Yasuda CL, Cendes F, Damasceno BP. Learning, retrieval, and recognition are compromised in aMCI and mild AD: Are distinct episodic memory processes mediated by the same anatomical structures? J Int Neuropsychol Soc. 2009 Oct. 19;16(01):205. 78. Balthazar ML, Yasuda CL, Pereira FRS, Bergo FPG, Cendes F, Damasceno BP. Coordinated and circumlocutory semantic naming errors are related to anterolateral temporal lobes in mild AD, amnestic mild cognitive impairment, and normal aging. J Int Neuropsychol Soc. 2010 Nov.;16(6):1099¿1107. 79. de Oliveira MS, Balthazar ML, D'Abreu A, Yasuda CL, Damasceno BP, Cendes F, et al. MR imaging texture analysis of the corpus callosum and thalamus in amnestic mild cognitive impairment and mild Alzheimer disease. American Journal of Neuroradiology. 2011 Jan.;32(1):60¿66. 80. Balthazar MLF, Damasceno BP. Dysexecutive mild cognitive impairment associated to frontal atrophy: case report. Dement. Neuropsychol. 2008;2(1):76-79. 81. Pedro T, Weiler M, Yasuda CL, D¿Abreu AC, Damasceno BP, Cendes F, Balthazar ML. Volumetric Brain Changes in Thalamus, Corpus Callosum and Medial Temporal Structures: Mild Alzheimer Disease Compared with Amnestic Mild Cognitive Impairment. Dement Ger Cogn Disord. 2012 (no prelo). 82. Morris JC. The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. Neurology 1993; 43: 2412-4. 83. Brucki SM, Nitrini R, Caramelli P, et al. Suggestions for utilization of the mini-mental state examination in Brazil. Arq Neuropsiquiatr 2003; 61: 777-81. 84. Cummings JL, Mega M, Gray K, et al. The Neuropsychiatric Inventory: comprehensive assessment of psychopathology in dementia. Neurology 1994;44:2308¿2314. 85. Rey A. L¿examen clinique in psychologie. Paris :Press Universitaire de France; 1964. 86. Nitrini R, Caramelli P, Porto CS, et al. Uma bateria cognitiva cognitiva breve com alta acurácia no diagnóstico de doença de Alzheimer em população com grande heterogeneidade educacional. Arq Neuropsiquiatr 2006;64(supl. 1):200. 87. Kaplan EF, Goodglass H, Weintraub S. The Boston Naming Test (2nd ed.). Philadelphia: Lea & Febiger; 1983. 88. Christensen A-L,. Luria¿s Neuropsychological Investigation. Copenhagen: Munksgaard; 1979. 89. Wechsler D. Manual for the Wechsler Memory Scale-Revised (WMS-R). San Antonio: The Psychological Corporation 1987. 90. Clock drawing in Alzheimer's disease. A novel measure of dementia severity. J Am Geriatr Soc 1989;37(8):725-729. 91.Pfeffer RI, Kurosaki TT, Harrah CH, Jr., Chance JM, Filos S. Measurement of functional activities in older adults in the community. J Gerontol. 1982;37(3):323-9.

Upload de Documentos

Arquivo Anexos:

Tipo	Arquivo
Parecer do Colegiado	PB_PARECER_COLEGIADO_187991.pdf
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	JP_CEP.pdf
Outros	emendaana.pdf
Parecer do Relator	PB_PARECER_RELATOR_143968.pdf
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE controle.doc
Outros	Fapesp CONEP.pdf
Parecer do Colegiado	PB_PARECER_COLEGIADO_162208.pdf
Parecer do Relator	PB_PARECER_RELATOR_170253.pdf
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE pacientes.doc
Folha de Rosto	Folha de Rosto.pdf
Outros	Resposta ao CEP ¿ Unicamp.docx
Outros	JP CEP.pdf
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	JP_CEP.pdf

Finalizar

Manter sigilo da integra do projeto de pesquisa: Não

Justificativa da Emenda:

Gostaria de pedir a inclusão da minha da minha aluna de mestrado Ana Flávia Mac Knight Carletti Cassani, RA 180825 como pesquisadora assistente no parecer número 188.021 com o título da pesquisa "Biomarcadores na doença de Alzheimer e Comprometimento Cognitivo Leve: estudo de métodos de Ressonância magnética funcional e marcadores liquóricos e plasmáticos", pois a mesma realiza a avaliação dos voluntários da pesquisa, participa da classificação dos grupos e da coleta e análise dos dados do projeto citado acima. Seu projeto de mestrado intitulado "Perfusão por Ressonância Magnética (arterial spin labeling) em pacientes com doença de Alzheimer leve e CCL e sua relação com desempenho cognitivo" utiliza os mesmos dados coletados para a pesquisa com o parecer 188.021. Não houve nenhuma mudança no projeto. Tive que adicionar novamente o mesmo projeto como Brochura/projeto detalhado. Grato

Anexo 2:

Mini- Exame do Estado Mental (Folstein, 1975)

ORIENTAÇÃO TEMPORAL (5 pontos)

- Dia da Semana (1 ponto) _____
- Dia do mês (1 ponto) _____
- Mês (1 ponto)_____
- Ano (1 ponto)_____
- Hora aproximada (1 ponto)_____

ORIENTAÇÃO ESPACIAL (5 pontos)

- Local genérico (residência, hospital, clínica) (1 ponto)_____
- Local específico (andar ou setor) (1 ponto)_____
- Bairro ou rua próxima (1 ponto)_____
- Cidade (1 ponto)_____
- Estado (1 ponto)_____

MEMÓRIA DE FIXAÇÃO (3 pontos)

- Repetir: Caneca, tapete, tijolo.

1 ponto para cada palavra repetida na primeira tentativa_____

Repita até três palavras serem repetidas (máximo de 5 tentativas)

ATENÇÃO E CÁLCULO

- Subtração: Sete seriado (100-7 sucessivamente), por 5 vezes ou a palavra MUNDO de trás para frente

(1 ponto para cada resposta correta)_____

MEMÓRIA DE EVOCAÇÃO (3 pontos)

- Lembrar as 3 palavras repetidas anteriormente (em MEMÓRIA DE FIXAÇÃO)

1 ponto por palavra certa_____

LINGUAGEM (8 pontos)

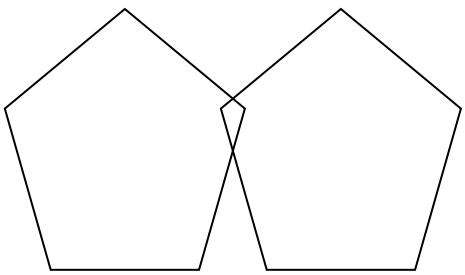
- Nomear objetos: um relógio e uma caneta (2 pontos)_____
- Repetir: “nem aqui, nem ali, nem lá” (1ponto)_____
- Seguir comando verbal: “pegue este papel com a mão direita, dobre ao

meio e coloque no chão” (3 pontos)_____

- Ler e seguir comando escrito (FRASE): “feche os olhos” (1 ponto)
- Escrever uma frase (1 ponto)_____

PRAXIA CONSTRUTIVA (1 ponto)

- Copiar um desenho (1 ponto)_____



ESCORE _____/30

Unidade Saúde Mental / HC - Unicamp

Avaliação Neuropsicológica

Paciente	HC	Data

Teste de Aprendizagem Auditivo Verbal de Rey

Lista A	A1	A2	A3	A4	A5	Lista B	B1	A6	A7 (20 linhas)	Lista A
Tambor						Carteira				Tambor
Cortina						Guarda				Cortina
Sino						Ave				Sino
Café						Sapato				Café
Escola						Forno				Escola
Pai						Montanha				Pai
Lua						Óculos				Lua
Jardim						Toalha				Jardim
Chapéu						Nuvem				Chapéu
Cantor						Barco				Cantor
Nariz						Carneiro				Nariz
Peru						Canhão				Peru
Cor						Lápis				Cor
Casa						Igreja				Casa
Rio						Peixe				Rio

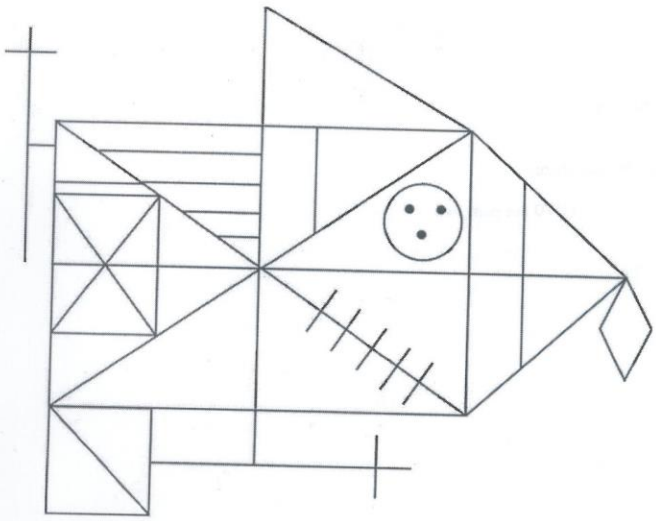
Corretas										

Lista para reconhecimento

Sino (A)	Lar (SA)	Toalha (B)	Barco (B)	Óculos (B)
Janela (SA)	Peixe (B)	Cortina (A)	Estola (FA)	Bota (SB)
Chapéu (A)	Lua (A)	Flor (SA)	Pai (A)	Sapato (B)
Música (SA)	Pino (FA)	Cor (A)	Água (SA)	Professor (SA)
Guarda (B)	Rua (FA)	Carteira (B)	Cantor (A)	Forno (B)
Nariz (A)	Ave (B)	Canhão (B)	Bule (SA)	Ninho (SB)
Chuva (SB)	Montanha (B)	Giz (SA)	Nuvem (B)	Filho (SA)
Escola (A)	Café (A)	Igreja (B)	Casa (A)	Tambor (A)
Papel (FA)	Asa (SA)	Peru (A)	Feixe (FB)	Rapé (FA)
Lápis (B)	Rio (A)	Torno (FB)	Jardim (A)	Carneiro (B)

(A): Palavras da Lista A
(B): Palavras da Lista B
(SA ou SB): Palavras com associação semântica com palavras da lista A ou B

Teste das Figuras Complexas de *Rey*



Dígitos (*WAIS – III*)

DIRETO:

3 – 8 – 7
6 – 4 – 3 – 9
7 – 2 – 6 – 6
4 – 2 – 7 – 3 – 1
7 – 5 – 6 – 3 – 6
6 – 1 – 9 – 4 – 7 – 3
3 – 9 – 2 – 4 – 8 – 7
5 – 9 – 1 – 7 – 4 – 2 – 3
4 – 1 – 7 – 9 – 3 – 8 – 6
5 – 8 – 1 – 9 – 2 – 6 – 4 – 7
3 – 8 – 2 – 9 – 5 –1 – 7 – 4

Pontos:_____

INVERSO:

5 – 9
2 – 8 – 3
4 – 1 – 5
3 – 2 – 7 – 9
4 – 9 – 6 – 8
1 – 5 – 2 – 8 – 6
6 – 1 – 6 – 4 – 3
5 – 3 – 9 – 4 – 1 – 8
7 – 2 – 4 – 8 – 5 – 6
8 – 1 – 2 – 9 – 3 – 6 – 5
4 – 7 – 3 – 9 – 1 – 2 – 8

Pontos:_____

Teste de *Stroop**

LARANJA	VERMELHO	VERDE	LARANJA	AZUL	LARANJA	VERDE	AZUL
VERMELHO	AZUL	VERDE	LARANJA	AZUL	LARANJA	VERMELHO	VERDE
AZUL	VERMELHO	VERDE	VERMELHO	LARANJA	AZUL	VERDE	AZUL
LARANJA	VERMELHO	AZUL	VERMELHO	VERDE	AZUL	LARANJA	VERMELHO
VERMELHO	VERDE	VERMELHO	LARANJA	VERDE	LARANJA	AZUL	LARANJA
VERDE	LARANJA	VERMELHO	LARANJA	AZUL	LARANJA	VERDE	VERMELHO
AZUL	VERMELHO	VERDE	AZUL	VERMELHO	VERDE	AZUL	LARANJA
VERMELHO	VERDE	AZUL	VERDE	LARANJA	AZUL	VERDE	VERMELHO

CONGRUENTE – Tempo:_____(min) _____(seg) Número de erros: _____

VERDE	LARANJA	VERMELHO	AZUL	LARANJA	VERMELHO	AZUL	VERDE
AZUL	LARANJA	AZUL	VERMELHO	VERDE	AZUL	LARANJA	VERMELHO
VERMELHO	VERDE	LARANJA	AZUL	VERMELHO	LARANJA	VERMELHO	VERDE
VERDE	LARANJA	VERMELHO	AZUL	VERMELHO	LARANJA	VERDE	LARANJA
AZUL	LARANJA	AZUL	VERMELHO	LARANJA	VERDE	VERMELHO	VERDE
AZUL	VERMELHO	LARANJA	AZUL	VERMELHO	VERDE	LARANJA	AZUL
VERMELHO	AZUL	VERMELHO	VERDE	LARANJA	AZUL	LARANJA	VERDE
VERDE	AZUL	VERDE	VERMELHO	AZUL	VERDE	LARANJA	VERDE

INCONGRUENTE – Tempo:_____(min) _____(seg) Número de erros: _____

Teste do Desenho do Relógio (modo de correção de Sunderland)

Desenhar as etapas:

1. Círculo grande

2. Números do relógio

3. Marcar 11 horas e 10 minutos nos ponteiros

Teste de Fluência Verbal Semântica (nomes de ANIMAIS em 1 minuto)

Teste de Fluência Verbal Fonológica (em 1 minuto)

F

A

S

Teste de Percepção visuo-espacial de *Luria*

G12 ( ) 4

G13 ( ) 5

G14 ( ) 5

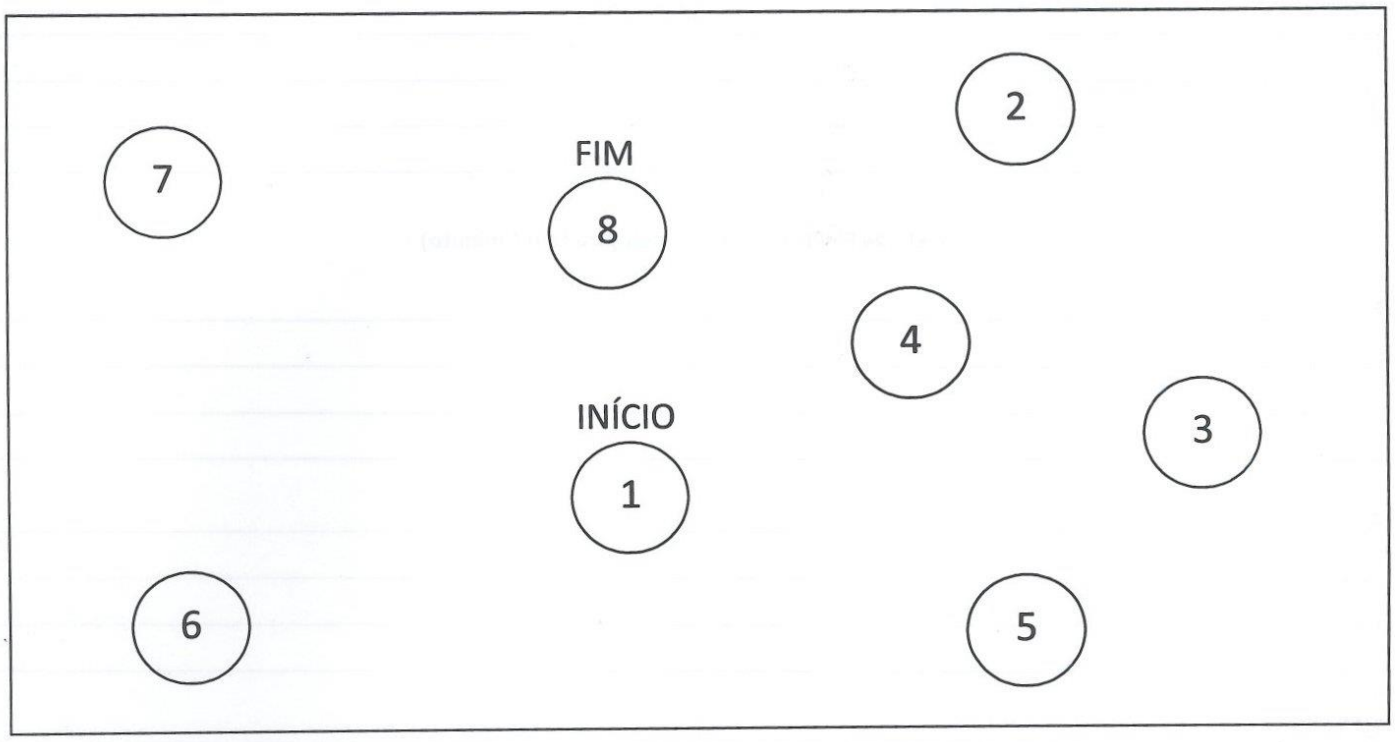
G17 ( ) 1

G18 ( ) 1

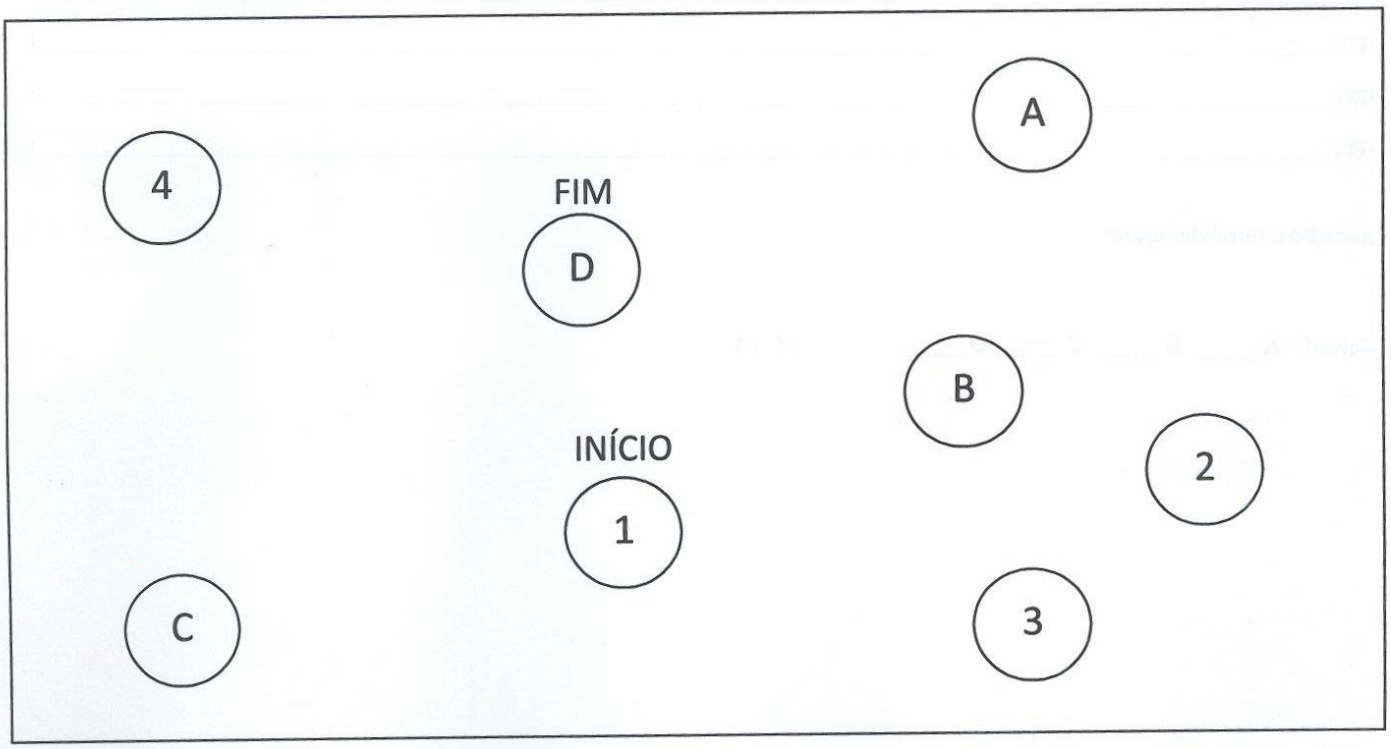
Rotação mental de figuras

Ratcliff: A____ B____ C____ D____ ( ) 4

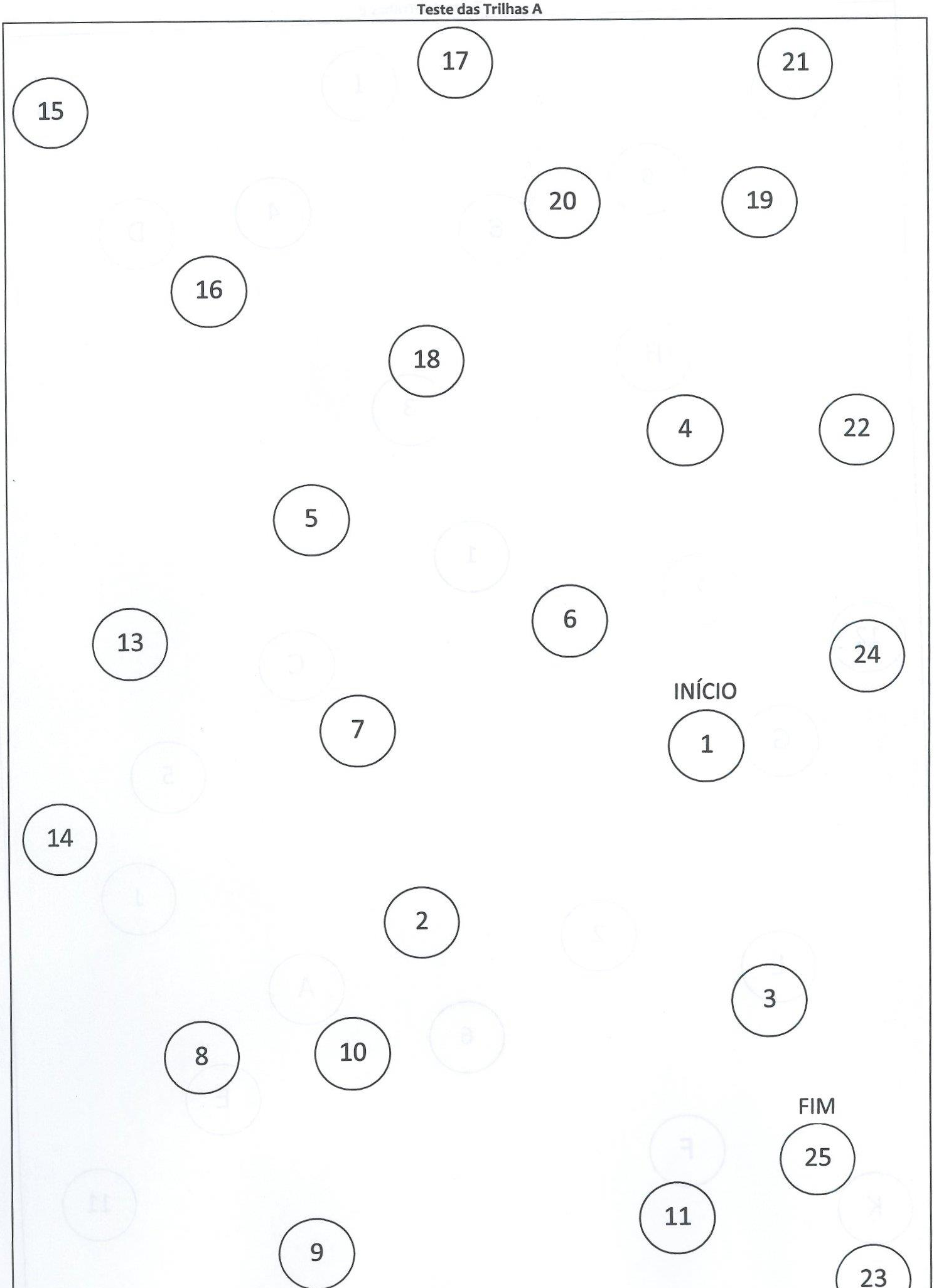
Teste das Trilhas A (TREINO)



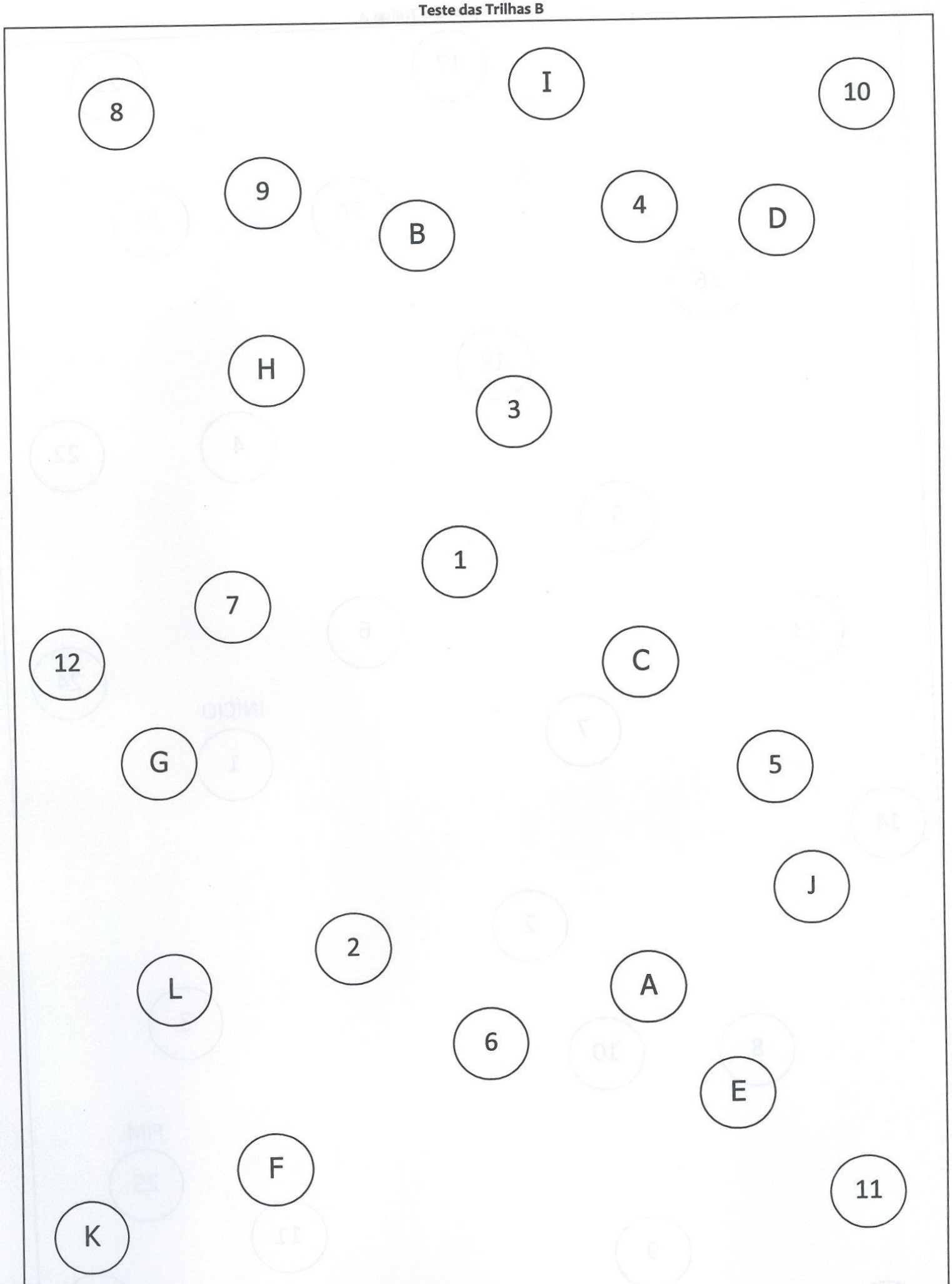
Teste das Trilhas B (TREINO)



Teste das Trilhas A



Teste das Trilhas B



Teste de Nomeação de Boston

FIGURA	CORRETO SEM PISTA	COM PISTA	COM PISTA FONÊMICA
1 – cama (uma peça de mobília)			
2 – árvore (uma coisa que cresce lá fora)			
3 – lápis (usado para escrever)			
4 – casa (um tipo de edifício)			
5 – apito (usado para assobiar)			
6 – tesoura (usado para cortar)			
7 – pente (usado para arrumar o cabelo)			
8 – flor (cresce no jardim)			
9 – serrote (usado por marceneiros)			
10 – escova (usada na boca)			
11 – helicóptero (usado para voar)			
12 – vassoura (usada para limpeza)			
13 – polvo (um animal marinho)			
14 – cogumelo (algo para comer)			
15 – cabide (usa no armário)			
16 – cadeira de rodas (tem em hospital)			
17 – camelo (um animal)			
18 – máscara (parte de fantasia)			
19 – brigadeiro – bolo (algo para comer)			
20 – banco (usado para sentar)			
21 – raquete (usa em esportes)			
22 – caracol – lesma (um animal)			
23 – vulcão (um tipo de montanha)			
24 – cavalo-marinho (animal marinho)			
25 – dardo – flecha (você atira ele)			
26 – canoa – bote (usado na água)			
27 – globo terrestre (um tipo de mapa)			
28 – buquê arranjo (usado para decorar)			
29 – tamanduá (um animal)			
30 – gaita (instrumento musical)			
31 – elefante (um animal)			
32 – caju (fruta)			
33 – iglu – oca – forno à lenha (tipo de casa)			
34 – pernas de pau (usadas para ficar alto)			
35 – dominó (jogo)			
36 – cactos (planta)			
37 – escada rolante (você anda nela)			
38 – violino (instrumento musical)			
39 – rede (você deita nela)			
40 – relógio cuco (parte de relógio)			
41 – peru (ave)			
42 – termômetro (os médicos usam)			
43 – Cristo Redentor (localizado no Rio de Janeiro)			
44 – focinheira (cachorro usa)			
45 – saci (personagem do folclore)			
46 – funil (usado com líquidos)			
47 – sanfona (instrumento musical)			
48 – forca (usada pelo carrasco)			
49 – beterraba – nabo – cebola (legume)			
50 – grampeador (prende papéis)			
51 – tranca – trinco – tramela (tem na porta)			
52 – fita métrica – trena (pedreiro usa)			
53 – lupa (usada para olhar à distância)			
54 – pegador – pinça de gelo (utensílio)			
55 – Pão de Açúcar (localizado no Rio de Janeiro)			
56 – estribo (usado em animais)			
57 – treliça – cerca – grade (tem no jardim)			
58 – estojo ou caixa de lápis (para desenho)			
59 – furadeira (usada para perfurar)			
60 – ampulheta (medir tempo)			
	TOTAL:	(60)	

IDTN-E

	Sempre	Algumas vezes	Raramente	Nunca
Tudo é um grande esforço para mim.	4	3	2	1
Nada do que eu faço é certo.	4	3	2	1
Eu me sinto culpado(a).	4	3	2	1
Eu preferiria estar morto(a)	4	3	2	1
Eu me sinto frustrado(a).	4	3	2	1
Eu tenho dificuldades em encontrar prazer.	4	3	2	1

Inventário de Depressão de Beck - BDI

1. 0 Não me sinto triste.
   1 Eu me sinto triste.
   2 Estou sempre triste e não consigo sair disso.
   3 Estou tão triste ou infeliz que não consigo suportar.

2. 0 Não estou especialmente desanimado quanto ao futuro.
   1 Eu me sinto desanimado quanto ao futuro.
   2 Acho que não tenho mais nada por esperar.
   3 Acho que o futuro é sem esperanças e tenho impressão que as coisas não podem melhorar.

3. 0 Não me sinto um fracasso.
   1 Acho que fracassei mais do que uma pessoa comum.
   2 Quando olho para trás em minha vida, tudo o que vejo é uma porção de fracassos
   3 Acho que sou um fracasso completo quanto pessoa

4. 0 Tenho tanto prazer em tudo como sempre tive.
   1 Não sinto mais prazer nas coisas como antes.
   2 Não encontro um prazer real em mais nada.
   3 Estou insatisfeito ou aborrecido com tudo.

5. 0 Não me sinto particularmente culpado.
   1 Eu me sinto culpado grande parte do tempo.
   2 Eu me sinto culpado na maior parte do tempo .
   3 Eu me sinto culpado o tempo todo.

6. 0 Não acho que esteja sendo punido.
   1 Acho que posso ser punido.
   2 Creio que serei punido.
   3 Acho que estou sendo punido.

7. 0 Não me sinto decepcionado comigo mesmo.
   1 Estou decepcionado comigo mesmo.
   2 Estou enojado de mim.
   3 Eu me odeio.

8. 0 Não acho que sou pior que os outros.
   1 Critico-me por minhas fraquezas ou erros.
   2 Eu me culpo sempre por minhas falhas.
   3 Eu me culpo por tudo de mau que acontece.

9. 0 Não tenho quaisquer idéias de me matar.
   1 As vezes penso em me matar, mas não levo isso a diante.
   2 Gostaria de me matar.
   3 Eu me mataria se tivesse oportunidade.

10. 0 Não choro mais do que o habitual.
    1 Choro mais agora do que costumava.
    2 Atualmente, choro o tempo todo.
    3 Eu costumava conseguir chorar, mas agora não consigo, mesmo querendo.

11. 0 Não sou mais irritado agora do que já fui.
    1 Fico aborrecido ou irritado mais facilmente do que costumava.
    2 Atualmente, sinto-me irritado o tempo todo.
    3 Já não me irrito mais com as coisas como antes.

12. 0 Não perdi o interesse pelas outras pessoas.
    1 Interesso-me menos do que antes pelas outras pessoas.
    2 Perdi a maior parte de meu interesse nas outras pessoas.
    3 Perdi todo meu interesse nas outras pessoas.

13. 0 Tomo decisões tão bem quanto antes.
    1 Adio minhas decisões mais do que antes.
    2 Tenho mais dificuldade em tomar decisões do que antes.
    3 Não consigo mais tomar decisão alguma.

14. 0 Não acho que minha aparência seja pior do que antes.
    1 Preocupo-me por estar parecendo velho ou sem atrativos.
    2 Acho que há mudanças permanentes em minha aparência que me fazem parecer sem atrativos.
    3 Considero-me feio.

15. 0 Posso trabalhar tão bem quanto antes.
    1 Preciso de um esforço extra para começar qualquer coisa.
    2 Tenho que me esforçar muito para fazer qualquer coisa.
    3 Não consigo mais fazer nenhum trabalho.

16. 0 Durmo tão bem quanto de costume.
    1 Não durmo tão bem quanto costumava.
    2 Acordo 1 a 2 horas mais cedo que de costume e tenho dificuldade de voltar a dormir.
    3 Acordo várias horas mais cedo do que costumava e não consigo voltar a dormir.

17. 0 Não fico mais cansado como ficava.
    1 Fico cansado com mais facilidade do que antes.
    2 Sinto-me cansado ao fazer qualquer coisa.
    3 Estou cansado demais para fazer qualquer coisa.

18. 0 Meu apetite continua como de costume.
    1 Meu apetite não é tão bom como costumava ser.
    2 Meu apetite está muito pior agora.
    3 Não tenho mais nenhum apetite.

19. 0 Não tenho perdido muito peso, se é que perdi algum recentemente.
    1 Emagreci mais de 2,5 Kg.
    2 Emagreci mais de 5 Kg.
    3 Emagreci mais de 7 Kg.
    Estou tentando perder peso de propósito, comendo menos: Sim( )Não( )

20. 0 Não estou mais preocupado com a minha saúde do que o habitual.
    1 Problemas físicos (dores de cabeça, estômago, prisão de ventre, etc...) me preocupam.
    2 Estou preocupado com problemas físicos e é difícil pensar em outras coisas.
    3 Estou preocupado com os meus problemas físicos e isso me impede de pensar em outras coisas.

21. 0 Ultimamente não tenho observado mudanças em meu interesse sexual.
    1 Estou menos interessado em sexo do que costumava.
    2 Estou bem menos interessado em sexo atualmente.
    3 Perdi completamente o interesse sexual.

Escala de Ansiedade de Beck - BAI

Na última semana você teve ou sentiu:	Não	Sim, de forma suave - não incomod ou muito	Sim, de maneira moderada - foi desagradável mas suportei	Sim, intensamente - quase não consegui suportar
1 - Dormência ou formigamento				
2 - Sensações de calor:				
3 – Tremores nas pernas				
4Incapacidade de relaxar				
5 - Medo de acontecimentos ruins:				
6 – Atordoado ou tonto:				
7 - Coração batendo forte e rápido:				
8 – Sem de equilíbrio				
9-Aterrorizado				
10Nervosismo				
11 - Sensação de sufoco:				
12- Tremores nas mãos				
13- Trêmulo				
14- Medo de perder o controle:				
15- Dificuldade de respirar:				
16- Medo de morrer:				
17- Assustado				
18- Ingestão ou desconforto abdominal:				
19- Desmaios:				
20 Rubor facial:				
21- Sudorese (não devido				

DR modelo soma dos boxes (Morris et al.,1983)

Função	Comprometimento Funcional				
	Nenhum 0	Questionável 0,5	Leve 1	Moderado 2	Grave 3
Memória	Não há perda de memória ou esquecimento leve e inconstante	Esquecimento leve mas consistente. Esquecimento "benigno". Lembrança parcial dos eventos.	Perda moderada da memória para eventos recentes, interferindo com as atividades do cotidiano.	Perda grave da memória. Apenas material altamente conhecido continua preservado. Informações novas são rapidamente perdidas.	Perda grave da memória. Apenas resquícios de memória estão presentes.
Orientação	Completamente orientado	Completamente orientado, exceto pela presença de discretas dificuldades nas relações temporais	Dificuldade moderada nas relações temporais. Orientado no espaço. Pode apresentar desorientação geográfica.	Dificuldade grave nas relações temporais. Usualmente desorientado no tempo e freqüentemente no espaço.	Orientado somente quanto à pessoa.
Julgamento e resolução de problemas	Resolve problemas do dia-a-dia e lida bem com negócios e finanças. Julgamento é bom em relação ao seu perfomance anterior	Comprometimento discreto na capacidade de resolução de problemas, similaridades e diferenças	Dificuldade moderada na resolução de problemas, similaridades e diferenças. Julgamento social usualmente mantido	Comprometimento grave na resolução de problemas, similaridades e diferenças. Julgamento social usualmente comprometido.	Completamente incapaz de emitir julgamento e resolver problemas.
AVDI's comunitárias	Independente para os níveis usuais de trabalho, compras e participação em grupos sociais e voluntários	Comprometimento leve	Incapaz de funcionar independente, embora ainda consiga realizar algumas. Apresenta-se normal no contato casual.	Completamente incapaz de funcionar adequadamente fora do domicílio, apesar de não aparentar.	Completamente incapaz de funcionar adequadamente fora do domicílio. Aparenta estar muito comprometido para tais funções.
AVDI's domiciliares (tarefas domésticas)	Vida doméstica, hobbies e interesses intelectuais preservados	Comprometimento leve	Comprometimento leve mas já estabelecido. Incapaz de realizar tarefas, hobbies ou atividades mais difíceis.	Apenas tarefas simples estão preservadas. Interesses bastante restritos.	Completamente incapaz
AVD's básicas	Independente no auto-cuidado		Necessita de ajuda	Requer assistência para vestir-se, higiene pessoal e cuidado pessoal	Requer assistência completa no cuidado pessoal. Presença de incontinência.

INDICE DE PFEFFER

Avaliação das Atividades de Vida Diária, segundo Pfeffer

0. Normal
1. Faz, com dificuldade
2. Necessita de ajuda
3. Não é capaz

0. Nunca o fez, mas poderia fazê-lo
1. Nunca o fez e agora teria dificuldade

	0	1	2	3	0	1
Ele (Ela) é capaz de preparar uma comida? Ele (Ela) manuseia seu próprio dinheiro? Ele (Ela) é capaz de manusear seus próprios remédios? Ele (Ela)é capaz de comprar roupas, comida, coisas para casa sozinho? Ele (Ela) é capaz de esquentar a água para o café e apagar o fogo? Ele (Ela) é capaz de manter-se em dia com as atualidades, com os acontecimentos da comunidade ou da vizinhança? Ele (Ela) é capaz de prestar atenção, entender e discutir um programa de rádio ou televisão, um jornal ou uma revista? Ele (Ela) é capaz de lembrar-se de compromissos, acontecimentos, familiares, feriados?						
Ele (Ela) é capaz de passear pela vizinhança e encontrar o caminho de volta para casa?						
Ele (Ela) é pode ser deixado (a) em casa sozinho (a) de forma segura? 0. Normal 1. Sim, com precauções 2. Sim, por curtos períodos 3. Não poderia 0. Nunca ficou, mas poderia ficar agora 1. Nunca ficou e agora teria dificuldade						
PONTUAÇÃO						

Inventário neuropsiquiátrico

Pontuação:

Freqüência 1 Ocasional __ menos de uma vez por semana

2 Comum __ cerca de uma vez por semana
3 Freqüente __ várias vezes por semana, mas menos que todos os dias
4 Muito freqüente __ uma vez por dia ou mais

Intensidade 1 Leve - 2 Moderada - 3 Acentuada.

ITEM A - DELÍRIOS O paciente acredita em coisas que você sabe não serem reais? Por exemplo, insiste que alguém está tentando fazer-lhe mal ou roubá-lo? Diz que seus parentes não são quem dizem ser ou que a casa onde mora não é a sua? Não é apenas uma desconfiança; estou interessado em saber se o paciente está achando que realmente essas coisas estão acontecendo com ele.

Sim	Não

1. O paciente acredita estar em perigo - que outros estão planejando machucá-lo?
2. O paciente acredita que está sendo roubado?
3. O paciente acredita que está sendo traído pelo cônjuge?
4. O paciente acredita que hóspedes indesejados estão morando em sua casa?
5. O paciente acredita que seu cônjuge ou outras pessoas não são quem alegam ser?
6. O paciente acredita que sua casa não é a sua casa?
7. O paciente acredita que seus parentes planejam abandoná-lo?
8. O paciente acredita que personagens de televisão ou revistas estão presentes em sua casa? (tenta conversar ou interagir com eles?)
9. O paciente acredita em outras coisas estranhas sobre as quais não conversamos?

Frequência	Intensidade
Ocasional- comum- frequente- muito frequente	Leve- moderada- grave

ITEM B- ALUCINAÇÕES O paciente vê ou ouve coisas? Parece ver, ouvir ou sentir coisas que não estão presentes? Por esta pergunta não estou pensando em crença falsas, como, por exemplo, a de dizer que alguém que morreu ainda está vivo, mas sim se ele realmente diz ver essas pessoas, se a escuta falando etc.

Sim	Não

1. O paciente relata ouvir vozes ou age como se ouvisse vozes?
2. O Paciente conversa com pessoas que não estão ali?
3. O paciente relata ver coisas que não são vistas pelos outros ou se comporta como se visse coisas que os outros não vêem (pessoas, animais, luzes, etc.)?
4. O paciente afirma sentir cheiros não percebidos pelos outros?
5. O paciente afirma sentir coisas tocando ou se arrastando por sua pele?
6. O paciente diz sentir gostos sem qualquer causa aparente?
7. O paciente descreve qualquer outra experiência sensorial incomum sobre a qual não tenhamos conversado?

Frequência	Intensidade
Ocasional- comum- frequente- muito frequente	Leve- moderada- grave

ITEM C- AGITAÇÃO/AGRESSÃO O paciente passa por períodos em que se recusa a ajudar ou não deixa que os outros o ajudem? É difícil de se lidar com ele?

Sim	Não

1. O paciente fica zangado com quem tenta cuidar dele ou resiste a atividades como banho ou troca de roupa?
2. O paciente é teimoso, só faz o que quer?
3. O paciente é pouco cooperativo, recusa ajuda dos outros?
4. O paciente apresenta algum outro comportamento que o torna difícil de se lidar?
5. O paciente grita ou pragueja de raiva?
6. O paciente bate as portas, chuta a mobília, atira coisas longe?
7. O paciente faz menção de ferir ou bater nos outros?
8. O paciente apresenta algum outro tipo de comportamento agressivo ou agitado?

Frequência	Intensidade
Ocasional- comum- frequente- muito frequente	Leve- moderada- grave

ITEM D- DEPRESSÃO/DISFORIA O paciente parece triste ou deprimido? Diz sentir-se triste ou deprimido?

Sim	Não

1. O paciente passa por períodos em que chora ou se lamenta?
2. O Paciente diz ou age como se estivesse triste ou de baixo astral?
3. O paciente se menospreza ou diz que se sente um fracassado?
4. O paciente considera-se má pessoa, digno de punição
5. O paciente parece desanimado ou diz não ter mais futuro?
6. O paciente considera-se um peso para a família, achando que viveriam melhor sem ele?
7. O paciente manifesta desejo de morrer ou fala em se matar?
8. O paciente exibe algum outro sinal de depressão ou tristeza?

Frequência	Intensidade
Ocasional- comum- frequente- muito frequente	Leve- moderada- grave

ITEM E- ANSIEDADE O paciente é muito nervoso, preocupado, ou assustado sem razão aparente? Parece muito tenso e inquieto? Tem medo de ficar longe de você?

Sim	Não

1. O paciente diz que está preocupado sobre eventos planejados?
2. O paciente tem períodos de se sentir trêmulo, incapaz de relaxar ou de se sentir excessivamente tenso?
3. O paciente tem períodos (ou queixa de) falta-de-ar, engasgos, ou soluços sem razão aparente?
4. O paciente se queixa de "frio na barriga" ou de palpitações ou aceleração do coração associados a nervosismo? Não justificados por saúde precária?
5. O paciente evita certos lugares ou situações que o deixam mais nervoso, como andar de carro, encontrar amigos ou andar em multidões?

6. O paciente fica nervoso e zangado quando se separa de você (ou de seu acompanhante)? (Pode se agarrar a você para não ser separado?)
7. O paciente exibe algum outro sinal de ansiedade?

Frequência	Intensidade
Ocasional- comum- frequente- muito frequente	Leve- moderada- grave

ITEM F- ELAÇÃO/EUFORIA O paciente parece muito animado ou feliz sem razão aparente? Não estou me referindo à alegria normal de ver amigos, ganhar presentes ou passar tempo com gente da família. Quero saber se o paciente apresenta um bom-humor persistentemente anormal ou acha graça de coisas que os outros não acham.

Sim	Não

1. O paciente parece se sentir bem demais ou excessivamente feliz em comparação ao seu normal?

2. O paciente acha graça e ri de coisas que os outros não acham engraçado?
3. O paciente parece ter um senso de humor pueril, com tendência a zombar ou rir de modo inapropriado (como quando alguma coisa infeliz acontece com alguém?)
4. O paciente conta piadas ou faz comentários pouco engraçados para os outros, mas parecem engraçados para ele?

5. O paciente faz artes, como beliscar os outros e brincar de se esconder só para se divertir?
6. O paciente se gaba ou proclama ter mais talentos ou bens do que é verdade?
7. O paciente exibe algum outro sinal de se sentir exageradamente bem ou feliz?

Frequência	Intensidade
Ocasional- comum- frequente- muito frequente	Leve- moderada- grave

ITEM G -APATIA/INDIFERENÇA O paciente perdeu o interesse pelo mundo à sua volta? Perdeu interesse em fazer coisas ou lhe falta motivação para dar início a atividades novas? Tem sido mais difícil engajá-lo em conversas ou afazeres cotidianos? Anda apático ou indiferente?

Sim	Não

1. O paciente parece menos espontâneo e ativo do que o normal?
2. O paciente tem puxado menos conversa do que antes?
3. O paciente está menos carinhoso ou emotivo do que o normal?
4. O paciente tem contribuído menos para as atividades domésticas rotineiras?
5. O paciente parece menos interessado na vida e nos planos dos outros?
6. O paciente perdeu o interesse pelos amigos e parentes?
7. O paciente está menos entusiasmado em relação aos seus interesses habituais?
8. O paciente exibe algum outro sinal de que não liga em fazer coisas novas?

Frequência	Intensidade
Ocasional- comum- frequente- muito frequente	Leve- moderada- grave

ITEM H-DESINIBIÇÃO O paciente parece agir impulsivamente, sem pensar? Tem feito ou dito coisas que não são feitas ou ditas em público? Tem feito coisas constrangedoras para você ou para os outros?

Sim	Não

1. O paciente age impulsivamente, sem considerar as conseqüências?
2. O paciente conversa com estranhos como se os conhecesse?
3. O paciente diz coisas duras para os outros ou que pode magoá-las?
4. O paciente diz coisas grosseiras ou faz comentários sexuais que normalmente não faria ?
5. O paciente fala abertamente sobre assuntos muito pessoais ou Particulares que normalmente não traria a público?
6. O paciente toma liberdades, toca ou abraça os outros de um jeito que foge ao seu caráter habitual?
7. O paciente exibe algum outro sinal de perda de controle sobre seus impulsos?

Frequência	Intensidade
Ocasional- comum- frequente- muito frequente	Leve- moderada- grave

ITEM I-IRRITAÇÃO/LABILIDADE O paciente fica irritado e se perturba com facilidade? Seu humor varia muito? Está anormalmente impaciente? Não nos referimos à frustração pela perda de memória ou pela incapacidade de realizar tarefas rotineiras; desejamos saber se o paciente tem andado anormalmente irritado e impaciente ou apresenta oscilações

Sim	Não

1. O paciente anda de mau humor, se descontrolando à toa por coisas menores?
2. O Paciente muda de humor de repente, de educado em um momento a zangado no outro.
3. O paciente apresenta lampejos imprevisíveis de raiva?
4. O paciente anda intolerante, reclamando de atrasos ou da demora de atividades programadas?
5. O paciente anda mal-humorado e irritado?
6. O paciente discute à toa, dificultando lidar-se com ele?
7. O paciente exibe outros sinais de irritação?

Frequência	Intensidade
Ocasional- comum- frequente- muito frequente	Leve- moderada- grave

ITEM J- COMPORTAMENTO MOTOR ABERRANTE O paciente perambula a esmo, faz coisas repetidas como abrir e fechar gavetas ou armários, remexe as coisas à sua volta repetidamente ou fica dando nós em fios e barbantes?

Sim	Não

1. O paciente perambula pela casa sem razão aparente?
2. O paciente vasculha gavetas ou armários?
3. O paciente se veste e despe repetidamente?
4. O paciente desempenha atividades ou "hábitos" repetitivos continuamente?
5. O paciente se engaja em atividades repetitivas, como manipular seus botões, mexer em coisas, dar nós em barbantes, etc.?
6. O paciente se mexe muito, não consegue ficar sentado, bate com os pés ou os dedos o tempo todo?

7. O paciente desempenha alguma outra atividade de maneira repetitiva sobre a qual não conversamos?

Frequência	Intensidade
Ocasional- comum- frequente- muito frequente	Leve- moderada- grave

ITEM L- SONO O paciente tem tido dificuldade em dormir (não considere se apenas levanta uma ou duas vezes à noite para ir ao banheiro e volta logo a dormir)? Fica de pé à noite? Perambula à noite, se veste ou perturba seu sono?

Sim	Não

1. O paciente tem dificuldade em pegar no sono?
2. O paciente levanta à noite (não considere se apenas levanta uma ou duas vezes à noite para ir ao banheiro e volta logo a dormir)?
3. O paciente perambula, anda de um lado a outro ou se envolve em atividades inapropriadas à noite?
4. O paciente o acorda à noite?
5. O paciente acorda, se veste e faz menção de sair, pensando que já amanheceu e está na hora de começar o dia?

6. O paciente acorda cedo demais de manhã (antes da sua hora habitual)?
7. O paciente dorme demais de dia?
8. O paciente apresenta algum outro comportamento noturno que o incomoda e sobre o qual não falamos?

Frequência	Intensidade
Ocasional- comum- frequente- muito frequente	Leve- moderada- grave

ITEM M- APETITE E DISTÚRBIOS ALIMENTARES O paciente apresentou algum distúrbio do apetite, peso ou mudança alimentar (considere NA se estiver incapacitado e precisar ser alimentado)? Houve alguma diferença em suas preferências alimentares?

Sim	Não

1. O paciente tem tido menos apetite?
2. O paciente tem tido mais apetite?
3. O paciente perdeu peso?
4. O paciente ganhou peso?
5. O paciente apresentou alguma mudança no comportamento alimentar, como colocar muita comida na boca de uma só vez?
6. O paciente apresentou alguma mudança no tipo de comida que gosta, como doces em excesso ou outros tipos específicos de alimento?
7. O paciente desenvolveu comportamentos alimentares novos, como comer exatamente os mesmos tipos de coisas todos os dias ou ingerir os alimentos exatamente na mesma ordem?
8. O paciente apresentou alguma outra alteração de apetite ou alimentar sobre a qual não conversamos?

Frequência	Intensidade
Ocasional- comum- frequente- muito frequente	Leve- moderada- grave