

ANALIA NUSYA DE M. GARCIA

POLIMORFISMOS DOS GENES *CYP46* E *APOE* E DECLÍNIO
COGNITIVO EM IDOSOS RESIDENTES NO DISTRITO DE
FERNANDO DE NORONHA/PE

RECIFE

2011

Analia Nusya de M. Garcia

Polimorfismos dos genes *CYP46* e *APOE* e
declínio cognitivo em idosos residentes no
Distrito de Fernando de Noronha/PE

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Neuropsiquiatria
e Ciências do Comportamento da
Universidade Federal de
Pernambuco, para obtenção do título
de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Ataíde
Junior

Recife

2011

Analia Nuya de M. Garcia

Polimorfismos dos genes *CYP46* e *APOE* e
declínio cognitivo em idosos residentes no
Distrito de Fernando de Noronha/PE

Banca examinadora:

Membros:

Profa. Dra. Maria Tereza Cartaxo Muniz

Profa. Dra. Ana Célia Oliveira dos Santos

Prof. Dr. Luiz Ataíde Junior

Prof., Dr. Alcidézio Luiz Sales Barros

Profa. Dra. Neide Santos

SUPLENTE:

Profa. Dra. Kátia Petribu

Prof. Dr. Otávio Gomes Lins

Recife

2011

AGRADECIMENTOS

À Deus, fonte de toda sabedoria e Senhor de toda Ciência.

Aos meus pais, José Maria e Necita pelo amor e exemplo de vida.

Ao meu orientador, Prof. Luiz Ataíde Junior, pela confiança no nosso trabalho.

Aos colegas professores do ICB-UPE, em especial às Profas Maria Tereza Cartaxo, Ana Célia Oliveira e Elizabete Malaquias, pelo apoio, orientação e dedicação, sem os quais, não seria possível a concretização deste trabalho.

Aos amigos Lorena Rodrigues, Eliane Medeiros, Helker Silva, Hugo Rafael Souza e Renan Silva pela colaboração e amizade compartilhadas durante todo o doutorado.

Aos colegas, professores e funcionários do programa de doutorado em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento da UFPE, pela atenção e parceria durante o curso.

À todos os idosos de Fernando de Noronha que possibilitaram, com sua participação, a realização deste trabalho.

“O mais triste do envelhecimento é a perda do poder dos pensamentos;
“pois, na essência do bom pensar é que conseguimos nos sentir eternamente jovens.”

Carlos Henrique Mascarenhas Pires

RESUMO

O Declínio Cognitivo Leve (DCL) é um estado mental considerado a zona de transição entre o envelhecimento normal e a fase mais inicial de demência, sendo uma fase importante para a precocidade diagnóstica. Nos últimos anos, pesquisas estão sendo desenvolvidas na busca de marcadores genéticos para esta zona de pré-demência, como os polimorfismos dos genes da apolipoproteína E (*APOE*) representada por 3 alelos (*E2*, *E3*, *E4*) e do colesterol 24S-hidroxilase (*CYP46*) com alelos *T* e *C*. Indivíduos portadores do *APOE E4* tem fator de risco quatro vezes maior de desenvolver a Demência de Alzheimer e dez vezes mais probabilidade se tiver associado os polimorfismos dos genes *APOE* e *CYP46*. O objetivo deste estudo foi investigar a possível associação entre o polimorfismo dos genes *CYP46(T/C)*, *APOE E4* e a presença de DCL na população idosa do Distrito de Fernando de Noronha, totalizando uma seleção de 52 indivíduos. A avaliação clínica foi realizada através de exame físico, funcional e mental. Foram aplicados testes neuropsiquiátricos (Mini Exame do Estado Mental, Teste de Fluência Verbal, Teste do Relógio) e a identificação do genótipo dos polimorfismos do *APOE* e *CYP46* pelo método de PCR-RFLP. Como resultados observou-se que 87% da amostra apresentou declínio cognitivo leve. No Mini Exame do Estado Mental, Teste de Fluência Verbal e Teste do Relógio foi observado declínio cognitivo em 42,8%, 31,9% e 53,2% respectivamente. Foi observada uma frequência alélica de 10% para o alelo *E4*. Não foi observada associação entre *APOE E4* e declínio cognitivo. Os alelos *T* ($p = 0,628$) e *C* ($p = 0,2076$) do gene *Cyp46* não estão associadas ao DCL na população estudada. Não foi observada associação ($p = 0,4286$), quando analisado o sinergismo entre o polimorfismo dos genes *Cyp46(T/C)* e *APOE E4* no desenvolvimento do DCL. Nesta população, os resultados sugerem que os polimorfismos dos genes *Cyp46(T/C)* e *APOE E4* não estão associados ao DCL.

Palavras-chaves: *APOE*. *CYP46*. Idoso. Declínio Cognitivo Leve. Polimorfismo.

ABSTRACT

Mild cognitive impairment (MCI) is considered to be the transition zone between normal aging and the most initial stage of dementia. It is an important phase for early diagnosis. Over the last few years, research has been developed to find genetic markers for this pre-dementia zone, such as the apolipoprotein E (APOE) consists of three alleles (E2, E3, E4) and cholesterol 24S-hydroxylase (CYP46) with alleles T and C. Individuals carrying the APOE E4 risk factor is for times more likely to develop Alzheimer's disease and ten times more likely to have associated the two polymorphism of *Cyp46* and *APOE* genes. The aim of this study was to investigate associations of *Cyp46* and *APOE* polymorphisms with the presence of MCI in elderly population of Fernando de Noronha District with fifty-two participants. Neuropsychiatric tests were used for clinical assessments (Mini Mental, Verbal Fluency Test, Clock Test). The PCR-RFLP method was used for genotyping of *Cyp46* and *APOE*. It was observed that 87% of the sample had mild cognitive impairment (MCI). The tests MMSE, Verbal Fluency Test and the Clock Test were observed cognitive impairment in 42.8%, 31.9% and 53.2% respectively. Was observed an allele frequency of 10% of E4 allele. No association was observed between the *APOE E4* polymorphism and mild cognitive impairment. There was no association of alleles T ($p = 0.628$) and C ($p = 0.2076$) of the *CYP46* gene with MCI in the population. There was also no association ($p = 0.4286$) when analyzed for synergism between polymorphisms of *CYP46* and *APOE4* genes in the development of MCI. The results of this study suggest that this population the polymorphisms of *APOE* and *CYP46* genes are not associated with MCI.

Key words: *APOE*. *CYP46*. Elderly. Mild cognitive impairment. Polymorphism

LISTA DE ABREVIATURAS

APOE- Apolipoproteína E

AVDs- Atividades de Vida Diária

CDR- Clinical Dementia Rating

CYP 46- 24S hidroxilase

D A – Demência de Alzheimer

DCL- Déficit Cognitivo Leve

DMSO-Dimetilsulfóxido

dNTPs-desoxirribonucleotídeos trifosfatados

FV –Teste de Fluência Verbal

GDS- Escala de Depressão Geriátrica

HDL- Lipoproteínas de alta densidade (High Density Lipoproteins)

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

LDL- Lipoproteínas de baixa densidade (Low Density Lipoproteins)

LOAD- Lower Alzheimer Disease (Doença de Alzheimer Tardia)

MEEM- Mini Exame do Estado Mental

MgCL₂- Cloreto de magnésio

Msp1- Proteína 1 da superfície de merozoito (merozoite surface protein)

NINCDS-ADRDA - Instituto Nacional de Doenças Neurológicas e Comunicativas e Acidente Vascular Cerebral (NINCDS) e Associação da Doença de Alzheimer e Doenças Relacionadas (ADRDA)

OMS- Organização Mundial da Saúde

ONU – Organização das Nações Unidas

PCR-RFLP- reação em cadeia da polimerase- polimorfismo de comprimento por fragmento de restrição

SNP- Polimorfismo de base única (Single Nucleotide Polymorphisms)

TR- Teste do Relógio

Tris –HCL- Tris Hidrocloro

VLDL- Lipoproteínas de muito baixa densidade (Very low density lipoprotein)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.10 PROCESSO DE ENVELHECIMENTO	11
1.2 O IDOSO E A TRANSIÇÃO DEMOGRÁFICA	13
1.3 ENVELHECIMENTO CEREBRAL E FUNÇÕES COGNITIVAS	15
1.4 DECLÍNIO COGNITIVO LEVE	18
1.5 DEMÊNCIA DE ALZHEIMER	21
1.6 Fatores Genéticos no Desenvolvimento da D.A	25
1.6.1 Apolipoproteína E	26
1.6.2 CYP 46	29
1.70 DISTRITO DE FERNANDO DE NORONHA E SUA POPULAÇÃO IDOSA	32
2 JUSTIFICATIVA	34
3 OBJETIVOS	35
3.1 Geral	35
3.2 Específicos	35
4 MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.1 Tipo de Estudo	36
4.2 Local de Estudo	36
4.3 Período do Estudo	37
4.4 População do Estudo	37
4.5 Instrumentos	37
4.5.1 Protocolo	37
4.5.2 Avaliação cognitiva	37
4.5.3 Critérios de exclusão	38
4.6 Extração do DNA	38
4.7 Identificação dos Polimorfismos	39
4.7.1 Identificação do Polimorfismo do APOE	39
4.7.2 Identificação do Polimorfismo CYP 46	40
5 Considerações Éticas	41
6 ARTIGO DE REVISÃO:	
-Cyp46 Polymorphisms in Alzheimer's Disease: A Review	42

7 ARTIGOS ORIGINAIS:	
7.1-APOE-ε4 polymorphism and cognitive deficit among the elderly population of Fernando de Noronha	47
7.2-APOE4, Cyp46 polymorphisms and cognitive deficit in elderly population from Fernando de Noronha- Brazil	53
8 CONCLUSÕES	68
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS	69
APÊNDICE 1 – Protocolo	70
APÊNDICE 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	76
ANEXO 1 - Aprovação do Comitê de Ética	77
REFERÊNCIAS	79

1.INTRODUÇÃO

1.1 O PROCESSO DE ENVELHECIMENTO

Envelhecer é um processo progressivo de redução de atividade levada pelo declínio físico. A velhice é um processo irrevogável e inevitável da vida. William Shakespeare com muita aptidão descreveu a última fase da vida de um ser humano como sendo “Última de todas, que termina esta estranha história repleta de eventos, é a segunda infância, sem dentes, sem olhos, sem nada.” (As Sete Idades do Homem trecho da peça *Como Gostais*, de Shakespeare).

Várias são as definições para tal processo, destacando-se dentre elas, a definição clássica de Confort (1960) de que “o envelhecimento é caracterizado por um aumento da susceptibilidade de morrer, ou uma perda de vigor, com aumento cronológico de idade ou com a passagem do ciclo da vida”. Campedelli (1994) descreve que, envelhecer é um processo sequencial, acumulativo, irreversível, universal, não patológico de deteriorização de um organismo maduro, próprio a todos os membros de uma espécie, de maneira que este, com o tempo, torna-se incapaz frente ao estresse do meio ambiente e, portanto, tem aumentada a possibilidade de morrer.

O envelhecimento da população mundial é um fenômeno novo ao qual mesmo os países mais ricos e desenvolvidos ainda estão tentando se adaptar. O que era no passado privilégio de alguns passou a ser uma experiência de um número crescente de pessoas em todo o mundo. Envelhecer no final deste século não é proeza reservada a uma pequena parcela da população. No entanto, no que se refere ao envelhecimento populacional, os países desenvolvidos diferem substancialmente dos subdesenvolvidos, uma vez que os mecanismos que levam a tal envelhecimento são distintos (VERAS, RAMOS e KALACHE, 1987).

O processo de envelhecimento é de natureza multifatorial, fatores genéticos e biológicos influenciam na longevidade, como também, fatores sociais e ecológicos, que passam a ser determinantes de um estilo de vida, o qual repercutirá não só no tempo, como também na qualidade do envelhecer (AMOSUN & REDDY, 1997).

Assim, o envelhecimento fisiológico compreende uma série de alterações nas funções orgânicas e mentais devido exclusivamente aos efeitos da idade avançada sobre o organismo fazendo com que o mesmo perca a capacidade de manter o equilíbrio homeostático e que todas as funções fisiológicas gradualmente comecem a declinar, com a diminuição progressiva da reserva funcional (CANCELA, 2007).

Segundo critérios da Organização das Nações Unidas (1985) considera-se, como idosa, a população de 60 anos ou mais. Em geral, para os países desenvolvidos, onde a expectativa média de vida é maior, costuma-se adotar os 65 anos como limite mínimo.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), indivíduo idoso é aquele que cronologicamente, tem 65 anos ou mais. Idade considerada como marco de início da velhice, pois parece ser a idade à partir do qual aumentam as incidências de problemas específicos do envelhecimento tais como diminuição da acuidade visual, auditiva e olfativa, dificuldades de manutenção do equilíbrio postural, incontinências, incidência de quedas, osteoporose, dificuldades de locomoção, demência, depressão e isolamento (PACHECO, 1997).

1.2 O IDOSO E A TRANSIÇÃO DEMOGRÁFICA

Envelhecer deixou, há muito, de ser um fenômeno característico dos países desenvolvidos. Segundo as projeções estatísticas entre 1950 e 2025, a população de idosos no Brasil crescerá 16 vezes e a população total 5 vezes, o que o colocará, em termos absolutos, como a sexta população de idosos do mundo, isto é, com mais de 32 milhões de pessoas com 60 anos ou mais (IBGE, 2000; CARVALHO E GARCIA, 2003).

A população brasileira, assim como da América Latina e Caribe, vem sofrendo, nas últimas cinco décadas, transições decorrentes de mudanças nos níveis de mortalidade e fecundidade. Essas mudanças fizeram com que a população passasse de um regime demográfico de alta natalidade e mortalidade para outro, primeiramente com baixa mortalidade e a seguir, baixa fecundidade, determinando-se um processo denominado transição demográfica e isso levou a um envelhecimento da população (RAMOS et al., 1993; LEBRÃO, 2007).

Como destaca Carvalho e Garcia (2003), para muitas pessoas, é a queda da mortalidade que faz com que a população idosa aumente. No entanto, como bem observado pelos autores, esse fenômeno apenas colabora para que o rejuvenescimento das populações ocorra, uma vez que a queda da mortalidade se concentra, majoritariamente, nas populações mais jovens, proporcionando um aumento no número de mulheres sobreviventes nas idades reprodutivas, elevando, assim, o número de nascimentos e produzindo uma maior proporção de jovens na população. A queda da mortalidade só produziria o envelhecimento populacional caso ela se concentrasse na população idosa, uma vez que, nesse caso, não há influência na fecundidade da população e o resultado seria um aumento na proporção de idosos. Esse fenômeno só mais recentemente tem se verificado no Brasil. Sendo assim pode-se dizer que o envelhecimento da população brasileira é reflexo direto da queda da fecundidade, que se iniciou no fim dos anos 60.

Cabe ressaltar que entre as décadas de 1940 e 1960, houve uma significativa redução das taxas de mortalidade, o que por sua vez acarretou um relativo aumento da taxa de crescimento populacional. Porém, esse fato não provocou mudanças notáveis na estrutura etária da população. Só a partir dos anos 60, quando houve o declínio da

fecundidade (proporcionando uma diminuição do ritmo de crescimento populacional), é que se pode considerar uma real mudança na distribuição etária brasileira. No Brasil, o declínio da mortalidade que deu início à transição demográfica foi determinado mais pela ação médico-sanitário, políticas urbanas de saúde pública como vacinação, melhorias nas condições de saneamento básico, com consequente redução das doenças transmissíveis e pelo desenvolvimento tecnológico da medicina (RAMOS et al.,1993).

O amplo crescimento da população idosa brasileira, refletindo o seu passado de taxas de crescimento populacional elevadas, implica em um crescimento maior dos grupos etários mais velhos. Entre 2000 e 2050 as pessoas acima de 70 anos aumentarão 6,8% no contingente de idosos, passando de 61,7% para 68,5%, crescimento este que é menor do que aquele observado entre os acima de 80 anos que aumentarão a sua participação em 7,9% incrementando em mais de 50% o seu peso entre os idosos.

O processo de envelhecimento da população brasileira acontece sob uma conjuntura sócio-demográfica que, além das consequências imediatas e indiretas das variações nos níveis e padrões das variáveis demográficas e aqueles outros elementos considerados até o momento, aponta por um enfraquecimento da base familiar como suporte na velhice (FREITAS et al., 2006).

Neste sentido, as mudanças nos arranjos familiares, envolvendo desde uma redução no número de parentes até a constituição dos domicílios dos idosos, ao lado das tensões entre o suporte familiar e as fragilizadas formas institucionais de suporte à velhice, por uma política neoliberal que coloca em segundo plano as políticas sociais, juntamente com os fenômenos apontados, têm que ser considerados no diagnóstico e na formulação de políticas, projetos e ações que visam o bem estar da população idosa brasileira e a sua futura qualidade de vida (MOREIRA, 1998).

1.3 ENVELHECIMENTO CEREBRAL E FUNÇÕES COGNITIVAS

O envelhecimento não é apenas definido de forma cronológica, podendo ser, definido como um processo dinâmico onde há modificações tanto morfológicas como funcionais, bioquímicas e psicológicas que determinam progressiva perda da capacidade de adaptação do indivíduo ao meio ambiente, ocasionando maior vulnerabilidade e maior incidência de processos patológicos que determinam por levá-lo à morte (PAPALEO NETTO et al., 2006).

Knorst et al; (2001) afirmam que o envelhecimento fisiológico provoca declínio nas reservas funcionais em todos os sistemas orgânicos, ocorrendo de forma distinta em cada indivíduo. Zimerman (2000) destaca algumas alterações marcantes do envelhecimento, classificadas sob três aspectos: físicos, sociais e psicológicos. Entre os aspectos físicos observa-se declínio da produção de células novas, também como do paladar e olfato, encurvamento postural, perda neuronal e atrofia cerebral, entre outras.

Quanto aos aspectos sociais o envelhecimento populacional provoca modificações no *status* do velho e no relacionamento com os que lhe cercam. Assim como, o envelhecimento provoca alterações corporais, também o psicológico do indivíduo idoso apresenta alterações que podem provocar dificuldades de adaptação, depressão e baixa auto-estima. Estas alterações estão com frequência associadas às perdas orgânicas progressivas que ocorrem com o envelhecimento e às condições mórbidas e patológicas também associadas ao processo, favorecendo o surgimento de novos padrões de condições de saúde e de doença. Contudo, o envelhecimento não pode ser considerado patológico ou incapacitante, pois uma significativa fração da população idosa apresenta disfunções ou incapacidades e ainda assim não podem ser consideradas doentes (ZIMERMAN, 2000). Dentre as alterações vislumbradas durante o processo do envelhecimento se destacam os transtornos cognitivos pela significativa alteração funcional que compromete a qualidade de vida do idoso (GUERREIRO e CALDAS, 2001).

Segundo Joynt (1994) estima-se que o cérebro tenha em média 10 bilhões de células, apresentando uma perda progressiva de 10.000 a 100.000 células diariamente, principalmente a partir dos trinta anos de idade onde existe uma redução no número de células nervosas variável em diferentes partes do cérebro. Por exemplo, o tronco cerebral, apresenta maior resistência à perda celular, entretanto o hipocampo apresenta uma rápida redução no número de células.

Alguns fatores determinam a intensidade e a velocidade dos declínios cerebrais, predisposição genética, potencial dos mecanismos de defesa e de restauração e acúmulo de danos celulares gerados pela agressão dos radicais livres. Anatomicamente o cérebro envelhecido apresenta-se atrófico, ocorre perda neuronal, presença de placas senis e degeneração neurofibrilar, afetando diretamente a cognição (PAPALEO NETTO et al., 2006).

O declínio cerebral nos idosos pode ocorrer devido a alguns fatores, como carências nutricionais, perda das células nervosas, diminuição do contato entre uma célula nervosa e outra pela redução de seus dendritos, modificação na parede da célula nervosa, declínio da produção de substâncias e aumento da degradação das mesmas, diminuição do metabolismo da glicose no cérebro e ainda por alteração nas mitocôndrias (CANSADO e HORTA, 2002)

Segundo Rayfer (2002), dentre os primeiros sintomas decorrentes do envelhecimento cerebral estão os declínios cognitivos que ocorrem com instalação rápida e progressiva e com possibilidades de adaptação. Os declínios cognitivos são percebidos com a diminuição da memória, percepção, lembrança e concentração; resultantes do declínio da função cerebral que ocorrem geralmente entre os 50 e 60 anos de vida.

Carvalho Filho e Papaleo Netto (2006) descrevem que ao envelhecer ocorre uma diminuição na liberação de neurotransmissores e na velocidade da transmissão da informação cerebral, resultando nas frequentes queixas relacionadas a distúrbios de memória. Segundo Okamoto e Bertolucci (2004) as memórias recente e de evocação são as mais comprometidas com o processo do envelhecimento e acrescenta que independentemente de qualquer doença, em geral, a memória para fatos imediatos é a principal função cognitiva afetada.

Sendo então, a memória uma das funções cognitivas mais comprometidas pelo envelhecimento cerebral, existem fortes evidências que uma variedade de diferentes estruturas e sistemas, mediados por diferentes neurotransmissores, que respondam pela função de atenção. A atenção funciona como filtro, selecionando informações consideradas importantes e coordenando a realização de trabalhos simultâneos. Vale ressaltar que a aceleração do declínio funcional ocorre de acordo com a idade, isto é, as perdas funcionais aumentam com o avançar da idade, havendo um efeito cumulativo de alterações funcionais, com degeneração progressiva dos mecanismos que regulam as respostas celulares e orgânicas, conduzindo a um desequilíbrio do organismo como um todo (GUERREIRO e CALDAS, 2001).

1.4 DECLÍNIO COGNITIVO LEVE

O declínio cognitivo no idoso pode ser observado segundo dois paradigmas: o fisiológico e o patológico. Foram descritas as alterações morfofuncionais esperadas no processo do envelhecimento, contudo além de todas as alterações citadas anteriormente, a autonomia e independência, tão necessárias para o desempenho funcional do idoso, podem ser comprometidas quando a elas somam-se processos patológicos (SCAZUFCA et al., 2002).

Com a instalação do mecanismo de envelhecimento pode ser estabelecido um processo fisiológico que caracteriza um declínio cognitivo sem demência, usualmente chamado de declínio cognitivo leve (DCL), existindo uma recomendação da Academia Americana de Neurologia para a identificação precoce do DCL na tentativa de um diagnóstico igualmente precoce dos quadros demenciais (CHARCHAT-FICHMAN et al., 2005).

O desenvolvimento de declínio cognitivo em idosos tem sido associado a fatores intrínsecos e extrínsecos. A literatura destaca fatores como a baixa escolaridade, idade avançada, hipertensão arterial, história de acidente vascular encefálico, associação com incapacidade funcional, comorbidades, pouco contato social, atividade intelectual pobre, tabagismo, viver sozinho, sedentarismo e saúde percebida negativamente. A depressão, pode preceder o desenvolvimento da demência ou coexistir com a doença (CARTHERY-GOULART et al., 2007). As áreas mais afetadas no DCL é a aprendizagem e a memorização de novas informações, embora possam notar-se problemas de linguagem, das capacidades visuo-espaciais ou do raciocínio. Muitas vezes pode haver uma dificuldade sutil nas atividades instrumentais de vida diária (PETERSEN et al., 2001).

O DCL pode ser entendido como um estágio de transição entre as alterações cognitivas do envelhecimento eugérico e a fase inicial das demências (CHARCHAT-FICHMAN et al., 2005; APOSTOLOVA et al., 2006).

O DCL pode apresentar taxas de conversão para DA de aproximadamente 10 a 15% ao ano e se adicionado aos fatores genéticos observa-se uma maior predisposição. A maioria dos pacientes desenvolvem DA depois dos 70 anos. Porém, 2% a 5% dos pacientes desenvolvem a doença na quarta ou quinta década de vida e metade dos pacientes, de início precoce, herdaram mutações genéticas e seus descendentes tem 50% risco de desenvolver doença de Alzheimer (PETERSEN et al., 2001).

Indivíduos com DCL podem permanecer estáveis ou voltar à normalidade ao longo do tempo, porém mais da metade progride para uma demência dentro de cinco anos. Sendo esta condição um estado de risco para demência, sua identificação pode levar a uma prevenção secundária pelo controle dos fatores de risco associados (GAUTHIER et al., 2006). Neste contexto questiona-se quais são esses fatores que estão associados ao declínio cognitivo e quais seriam aqueles que poderiam atuar até mesmo como protetores. Além disso, como avaliar indivíduos nestas condições e de que maneira intervir são questionamentos que podem beneficiar os mais velhos e seus familiares (BOTTINO e MORENO, 2006).

Para uma avaliação neuropsicológica adequada, além das funções cognitivas, outros domínios são considerados. Avalia-se o desempenho do idoso em suas atividades de vida diária, uma vez que existe uma correlação positiva entre demência e incapacidade funcional, isto é, as características do declínio cognitivo interferem de forma significativa na capacidade funcional do idoso (LITVOC, 2006). Leva-se em conta a presença de sintomas depressivos pois o quadro clínico da depressão assemelha-se ao de demência (pseudodemência), podendo causar confusão no diagnóstico. Além disso, os sintomas depressivos são parte integrante da demência, sendo um distúrbio neuropsiquiátrico frequentemente associado. O estilo de vida também é investigado, tendo em vista que comportamentos, hábitos e condições sociais, educacionais e de saúde constituem fatores de risco para o desenvolvimento de declínio cognitivo (SCALCO, 2006).

A trajetória clínica do DCL pode ser dividida em três categorias: 1) DCL amnésico, aquele com maior chance de desenvolvimento de demência tipo Alzheimer (DA); 2) DCL com comprometimento leve de múltiplos domínios cognitivos, podendo desenvolver um grupo de síndromes demenciais, sendo a doença de Alzheimer (DA) um caminho possível; 3) DCL com declínio de uma única função cognitiva diferente da memória com maior chance de estabelecimento de uma demência fronto-temporal. Todas as três categorias podem permanecer estáveis e não evoluir para as síndromes demenciais (PETERSEN et al., 2001; WINBLAD et al., 2004).

Tendo em vista os fatores de risco para a progressão de uma demência, deve-se considerar que os profissionais de saúde possam monitorar de perto os indivíduos que se encontram nessas condições com ou sem declínio cognitivo leve. Existem evidências indicando que intervenções planejadas são benéficas na prevenção da instalação precoce do declínio cognitivo (CHERTKOW et al., 2008).

1.5 DEMÊNCIA DE ALZHEIMER (DA)

Quando se fala em doenças mais prevalentes na velhice, é importante enfatizar a parcela que cabe aos transtornos mentais e uma das formas mais comuns de alterações psiquiátricas nesse grupo etário é a demência (REYS et al., 2006). A doença se torna cada vez mais prevalente na população e pode ser entendida como síndrome caracterizada por declínio de memória associado ao declínio de pelo menos uma outra função cognitiva (linguagem, gnosis, praxias ou funções executivas) tendo repercussões no desempenho das atividades cotidianas do indivíduo (CARAMELLI e BARBOSA, 2002; MACHADO et al., 2007).

Os achados neuropatológicos evidenciam que idosos com DCL, principalmente na forma amnésica, formam placas senis e emaranhados neurofibrilares, muito semelhante ao padrão neuropatológico observado na Doença de Alzheimer (DA), mas em um estágio insuficiente para predizer um diagnóstico de DA provável, sendo portanto o DCL considerado por muitos uma entidade de transição ou pré-demencial da DA (CHARCHAT-FICHMAN et al., 2005).

A ocorrência dos transtornos demenciais aumenta exponencialmente com a idade, dobrando, aproximadamente, a cada 5,1 anos, a partir dos 60 anos de idade. Após os 64 anos de idade a prevalência é de cerca de 5 a 10%, e a incidência anual é de cerca de 1 a 2 %, passando, após os 75 anos de idade, para 15 a 20% e 2 a 4%, respectivamente. De acordo com a literatura, a prevalência das demências muda de 1,4% dos indivíduos entre 65 e 69 anos para 20,8% daqueles entre 85 e 89 anos, chegando a alcançar aproximadamente 38,6% daqueles entre 90 e 95 anos (FORLENZA e CARAMELLI, 2000; MACHADO, 2002).

Em um estudo epidemiológico para identificação de demência em idosos em São Paulo foi verificado que a DA figurava com 54,1% dos casos (HERRERA et al., 1998). A prevalência desta entidade clínica aumenta com a idade afetando cerca de 1,5% da população com idade entre 65-69 anos, 21% entre 85-86 anos e 39% acima dos 90 anos, correspondendo a cerca de 60% de todas as demências (ENGELHARDT et al., 2001; GALLUCCI et al., 2005).

A DA foi descrita em 1907, pelo neurologista alemão Alois Alzheimer que a definiu como um tipo de demência de caráter primário, progressivo e degenerativo, de início lento e gradual. A demência é uma síndrome, ou seja, um grupo de sinais e sintomas que formam um conjunto e que podem ser causados por uma série de doenças subjacentes, relacionadas a perdas neuronais e danos à estrutura cerebral. O padrão central da demência é o prejuízo da memória. Além disso, a síndrome demencial inclui pelo menos um dos seguintes prejuízos cognitivos: afasia (prejuízo na linguagem secundário à ruptura da função cerebral), apraxia (incapacidade de realizar atividades motoras complexas, apesar da capacidade motora intacta); agnosia (falha em reconhecer ou identificar objetos, apesar de funções sensoriais intactas) e perturbação nas funções de execução como planejamento, organização, sequência e abstração. Cada um desses prejuízos cognitivos gera prejuízo significativo também no funcionamento das capacidades funcionais e sociais, o que representa um declínio significativo em relação a um nível anteriormente superior de funcionamento (BUSSE e BLAZER, 1999; FORLENZA e CARAMELLI, 2000).

A DA pode ser dividida em três estágios, com sintomas que se sobrepõem e variam de acordo com cada paciente (VIEIRA, 1996; SAVONITTI, 2000). A fase inicial da DA é caracterizada, especialmente, por comprometimento da memória recente, atenção, capacidade associativa e orientação espacial, distúrbios de movimentos e posturas, além de descuido com a aparência e higiene. Labilidade humoral também é percebida, assim como, anomia que é a perda da faculdade de nomear objetos. Na fase intermediária ocorre primordialmente o agravamento dos sintomas já presentes, podendo surgir descontrole psicomotor, vagância, hostilidade, agressividade, e distúrbios na linguagem como afasia (desordem de linguagem com origem cerebral), ecolalia (repetição de frases), palilalia (repetição da última palavra), além de embotamento afetivo e apatia. Essa fase é marcada pelo quadro afásico-agnósico-aprático, caracterizado por alterações de linguagem, reconhecimento perceptivo-sensorial e execuções de movimentos dirigidos. Na fase terminal observa-se severo comprometimento intelectual que conduz a total dependência, incapacidade e imobilidade (SAVONITTI, 2000; NITRINI et al., 2005).

As manifestações clínicas ainda compreendem alterações cognitivas, de comportamento, na consolidação da memória, apresentando gradativamente dificuldades em desempenhar as atividades de vida diária (ENGELHARDT et al., 2001; GALLUCCI et al., 2005; DE ABREU et al., 2005). O diagnóstico leva em consideração a história clínica, exames laboratoriais e de neuroimagem, permitindo desta forma, em vida, o diagnóstico, classificando a doença em possível e provável (ENGELHARDT et al., 2001; TRUZZI e LAKS, 2005). O diagnóstico definitivo é feito *post mortem* e requer a presença de novos neurofibrilares e depósitos amilóides no hipocampo e no neocórtex (BOBINSKI et al., 2000).

Para o rastreio dos casos de demência têm sido utilizados testes neuropsicológicos (CARAMELLI e BARBOSA, 2002; JACOBSON et al., 2002; CHARCHAT-FICHMAN et al., 2005). Em cerca de 30% dos estudos têm sido utilizado o Mini Exame do Estado Mental e avaliação cognitiva é complementada por outros testes que investigam diferentes componentes do funcionamento cognitivo (testes de fluência verbal, desenho do relógio, evocação tardia de listas de palavras ou figuras, entre outros) (CARAMELLI e BARBOSA, 2002).

Os critérios diagnósticos do Instituto Nacional de Doenças Neurológicas e Comunicativas e Acidente Vascular Cerebral (NINCDS) e Associação da Doença de Alzheimer e Doenças Relacionadas (ADRDA), elaborados por McKhann e col. (1984), permite a classificação da demência do tipo Alzheimer (DA) em três níveis diferentes:

- DA definitiva - requer a presença de DA provável ou possível com confirmação neuropatológica;
- DA provável - é o diagnóstico de escolha quando a síndrome demencial tem instalação lenta e progressiva e outros fatores etiológicos foram excluídos;
- DA possível - é a alternativa disponível para classificação da doença quando o quadro clínico é atípico ou existe doença física concomitante que pode causar demência.

A escala clínica de estadiamento da demência Clinical Demential Rate (CDR) foi desenvolvida como um instrumento de avaliação global, para estudar prospectivamente a demência do tipo Alzheimer leve. Os autores destacaram no estudo de validação deste instrumento a importância de associar medidas psicométricas e comportamentais para permitir a avaliação de várias características do paciente examinado. A CDR contém cinco graus de comprometimento do desempenho do indivíduo, em cada uma das seguintes categorias: memória, orientação, juízo e solução de problemas, assuntos comunitários, casa e hobbies e cuidado pessoal. A classificação da DA de acordo com CDR é: saudável (CDR=0), questionável (CDR=0,5), leve (CDR=1), moderado (CDR=2) e grave (CDR=3) (HUGHES et al.,1982).

Controvérsias e críticas sobre a aplicação destes critérios à população idosa, não pertencente às clínicas especializadas para a qual esta entidade diagnóstica foi proposta, foram evidenciadas na literatura internacional. As principais limitações foram instabilidade diagnóstica ao longo do tempo, indefinição de testes neuropsicológicos para avaliar funções cognitivas e atividades da vida diária, e ênfase no comprometimento baseado em um grupo controle emparelhado por idade e escolaridade e não em declínio cognitivo (HÄNNINEN et al., 2002).

Do ponto de vista neuropatológico observa-se no cérebro de indivíduos com doença de Alzheimer atrofia cerebral difusa, placas senis, novos neurofibrilares, degenerações grânulo-vacuolares e perda neuronal, porém verifica-se ainda um acúmulo de proteína *b-amilóide* nas placas senis e microtubulina *tau* nos novos neurofibrilares (GALLUCCI et al., 2005; BARNES et al., 2005; ENGELHARDT et al., 2005; JACK et al., 2005; AZEVEDO JUNIOR et al., 2005; GOLBY et al., 2005; JACK et al., 2007; BARNES et al., 2007). Outras características patológicas da doença incluem ativação microglial, diminuição no número de células e das sinapses e uma densa atrofia cerebral (JACK et al., 2007).

Entre os recursos diagnósticos frequentemente utilizados para reforçar o diagnóstico de DA estão os exames de neuroimagem estrutural e os de neuroimagem funcional. Os exames de neuroimagem estrutural tem como objetivo analisar aspectos volumétricos de estruturas como amígdala, hipocampo, giro para-hipocampal e lobo temporal, pois estudos têm apontado estas regiões como principais indicadores de alterações, enquanto que os de neuroimagem funcional baseia-se na avaliação do

metabolismo cerebral (ENGELHARDT et al., 2001; DIXON et al., 2002; MARCHETTI et al., 2002; ENGELHARDT et al., 2005).

Considerando a significativa prevalência desta doença e as consequências que ela pode acarretar na vida dos envolvidos, é de suma importância que os profissionais de saúde saibam identificar indivíduos com risco potencial de desenvolver demência, bem como que estejam preparados para lidar com as demandas destes pacientes. Além disso, precisam saber distinguir entre o envelhecimento normal e o patológico para que as intervenções sejam adequadas e mais eficazes (AZAMBUJA, 2007).

1.6 Fatores de Riscos Genéticos no Desenvolvimento da D.A.

O idoso com declínio cognitivo leve com potencial risco para o desenvolvimento de demência pode perder gradativamente sua capacidade de realizar suas atividades cotidianas e ter seus relacionamentos sociais afetados devido à longa extensão e complexidade que envolve uma doença crônica e degenerativa. Nesse sentido, uma avaliação das funções cognitivas pode detectar precocemente indivíduos nesta situação, o que possibilita ao idoso e seus familiares providências que possam evitar ou retardar a manifestação dos prejuízos sociais e emocionais que o desenvolvimento de uma demência pode acarretar (MACHADO et al., 2007).

A DA é uma doença com uma etiologia bastante heterogênea, envolvendo mecanismos diversos e interligados, ainda não totalmente esclarecidos, o que pode estar dificultando um diagnóstico preciso e um tratamento eficaz. Além do que se sugere que haja uma associação entre fatores genéticos, metabólicos, neuroquímicos e ambientais (FRIDMAN et al., 2004).

Entre todos os fatores envolvidos na instalação da DA, destacam-se os fatores genéticos, como um marcador biológico importante. Este marcador vem sendo buscado por inúmeros grupos de pesquisadores espalhados no mundo (OJOPI et al., 2004; CACCAMO et al., 2011; YAFFE et al., 2011; REDDY et al., 2011).

Mutações nos genes que codificam a proteína precursora B-amilóide (*APP*), *APO-E*, *PSEN1* (Presenilina 1) e *PSEN2* (Presenilina 2), são relacionados ao estabelecimento da doença, sendo estes importantes marcadores genéticos para a DA (FRIDMAN et al., 2004). Os genes *PSEN1* e *PSEN2* estão associados a 40% dos casos de DA com início precoce (TANZI e BETRAN, 2001). Porém, a DA de início precoce foge ao comportamento usual da doença, em que 95% dos casos são de início tardio e, neste caso observa-se uma estreita relação com o alelo *E4* do gene *APOE* que foi uma das primeiras alterações moleculares associadas à patogenética da DA (LAWS et al., 2003).

1.6.1 Apolipoproteína E (APOE)

A *APOE* é uma das muitas classes diferentes de apolipoproteínas (Figura 1), que incluem *APO A*, *APO B*, *APO C*, *APO D* e *APO J*, que exercem suas funções no transporte dos lipídeos do plasma e em outros fluidos corpóreos (OJOPI et al., 2004). A *APOE* é sintetizada principalmente no fígado, sendo o cérebro o segundo local de maior produção de *APOE* com grande participação de astrócitos e células da micróglia (NAIDU et al., 2002).

A *APOE* foi primeiramente descrita como um fator de risco para doenças cardiovasculares, uma vez que alterações na produção desta proteína podem causar diversas doenças envolvidas com a elevação do nível de colesterol e triglicerídeos na circulação (OJOPI et al., 2004; NASSIF et al., 2005).

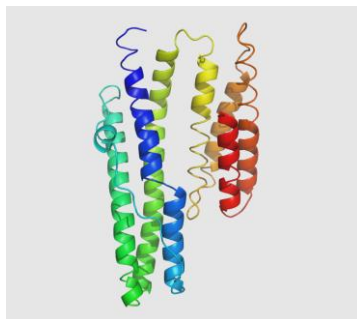


Fig.1 Apolipoproteína E (APOE) (Hatters et al., 2005)

O gene *APOE* humano está localizado no braço longo do cromossomo 19 (19q13.2). Sendo composto por 4 exons, divididos ao longo de 6.740 nucleotídeos no genoma. A região transcrita do gene *APOE* apresenta uma grande quantidade de guanina e citosina que, por formarem três pontes de hidrogênio na dupla fita de DNA, confere à região uma maior estabilidade, dificultando o processo de amplificação e análise laboratorial deste gene pelo método PCR (*Polymerase Chain Reaction*) (OJOPI et al., 2004).

Os humanos possuem três alelos principais do gene *APO E*, decorrentes de apenas duas alterações no DNA, denominados de *E2*, *E3* e *E4* e seus seis genótipos possíveis: *E2/E2*, *E2/E3*, *E2/E4*, *E3/E3*, *E3/E4* e *E4/E4*. As outras variantes do gene *APOE* são chamadas de *E1*, *E5* e *E7*, sendo extremamente raras (OJOPI et al., 2004). A frequência dos alelos *E2*, *E3* e *E4* na população caucasiana em geral é de 8%, 78% e 14% respectivamente (MARTINS et al., 1995). Corbo e Scacchi (1999) analisaram as frequências alélicas e o gene *APOE* em diferentes populações encontrando uma maior prevalência do alelo *E3* em todas as populações analisadas, variando entre 48% a 89%.

O alelo *E4* é solidamente associado com o risco de desenvolvimento de DA, a herança de um ou dois desses alelos eleva até em cinco vezes a probabilidade da doença (FRIDMAN et al., 2004). O alelo *E2* parece estar envolvido com efeito protetor para a DA (TANZI e BETRAN, 2001) conforme estudos realizados em diversas populações incluindo a brasileira (MAYEUX e SCHUPF, 1995; SOUZA et al., 2003).

Na DA, o alelo *APOE E4* atua na formação das placas amilóides e emaranhados neurofibrilares (OJOPI et al., 2004). Tanzi e Bertran (2001) relatam que o aumento do colesterol plasmático está associado ao aumento da deposição da proteína beta-amilóide no cérebro, sugerindo que este alelo *E4* confere um risco aumentado para o desenvolvimento para a DA, através de um mecanismo comum às doenças cardiovasculares que têm seu risco elevado pela hipercolesterolemia.

Puglielli et al., (2004) procuraram elucidar, em cobaias, as funções das isoformas *E3* e *E4* no metabolismo do colesterol, sugerindo que o *E4* se relacionaria com níveis elevados de LDL no plasma sanguíneo e uma pequena, mas significativa diminuição no nível do HDL.

A associação entre a presença do alelo *E4* e o aparecimento de DA parece variar com a idade. A presença de dois alelos *E4* é responsável pelo início precoce da doença, enquanto que somente apenas um alelo *E4* seria responsável pelo desenvolvimento mais tardio da doença (WOLOZIN et al., 2000; OJOPI et al., 2004).

Além do desenvolvimento mais precoce da doença, a presença do alelo *E4* também estão sendo constantemente associados com a redução do volume das estruturas cerebrais do lobo temporal medial, incluindo os hipocampus, em indivíduos com DA e DCL. Estudos têm relacionado à diminuição do metabolismo da formação hipocampal em pacientes com DCL e DA na presença de homozigose ou heterozigose para o alelo *APOE-E* (SMALL,2000;VALENZUELA e SACHDEV,2001). Indivíduos que possuem o alelo *E4* têm o cíngulo posterior também significativamente afetado tanto no DCL quanto na DA, sendo o hipometabolismo encontrado precocemente na DA (KANTARCI et al., 2002).

Estudos têm sugerido que o alelo *E4* é capaz de acelerar a redução dos volumes hipocampais, um dos achados comuns na neuroimagem estrutural da DA (SOUZA et al., 2003; LI et al., 2005). Por outro lado, Doody et al. (2000) descreveram que não existe correlação entre os genótipos da *APOE* e o grau da atrofia dos hipocampus. Small et al. (2000) demonstraram hipometabolismo no cíngulo posterior dos pacientes sem comprometimento da memória, portadores de uma única cópia do alelo *E4*.

Contudo, o alelo *E4* unicamente não é suficiente para o desenvolvimento da DA, apenas aumenta o risco do individuo desenvolver a doença. Isto evidencia a existência de outros determinantes genéticos e ambientais para o estabelecimento da doença (MAYEUX e SCHUPF, 1995; OJOPI et al., 2004; LLORCA et al., 2008).

1.6.2 CYP 46 (24S hidroxilase)

Evidências científicas revelam o envolvimento do metabolismo do colesterol cerebral com a doença de Alzheimer de início tardio (LOAD). Proteínas como a APOE e a CYP46 estão envolvidas com a rota de eliminação do colesterol cerebral e seus polimorfismos estão sendo estudados como marcadores genéticos da LOAD (FERNANDEZ DEL POZO et al., 2006).

O mecanismo de eliminação do colesterol cerebral APOE dependente é conhecido como sendo responsável por apenas 1-2 mg de colesterol lançado diariamente no fluido cérebro-espinhal enquanto adicionalmente 6-7 mg de colesterol cerebral são eliminados diariamente através de uma via alternativa dependente da enzima CYP46 atravessando a barreira hematoencefálica, chegando ao plasma e depois ao fígado onde será eliminado sob forma de ácidos biliares (BJORKHEM et al., 2007) conforme mostra a Figura 2.

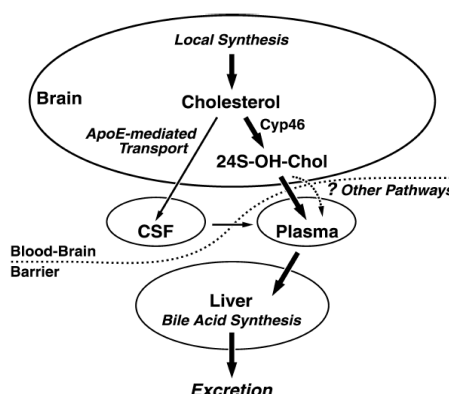


Fig. 2 – Metabolismo do Colesterol Cerebral (RAFFAI et al.,2003)

A hipercolesterolemia então, é reconhecida como fator de risco para DA, tendo em vista que níveis altos de colesterol no cérebro aumentam o depósito da APP (proteína precursora da β -amilóide), e por isso, o emprego de drogas que combatem as dislipidemias, em pacientes portadores de DA, está produzindo uma avaliação positiva (SAMBAMURTI et al., 2004).

O colesterol cerebral é sintetizado localmente e independe da ingestão alimentar. O excesso de colesterol no cérebro resultante da síntese aumentada ou à morte neuronal. A enzima 24S-hidroxilase (CYP46) da família do citocromo P450 é expressa no cérebro principalmente nos neurônios, células piramidais, córtex entorrinal, hipocampus, giro denteado e células de Purkinje participando na regulação da eliminação do colesterol cerebral convertendo seu excesso em 24S-hidroxicolesterol (FERNANDEZ DEL POZO et al., 2006; BJORKHEM et al., 2007).

O aumento da atividade da enzima CYP46 produz um acúmulo de 24S-hidroxicolesterol cuja ação neurotóxica no fluido cérebro-espinhal favorece a formação de radicais livres, promovendo morte neuronal favorecendo a DA (PAPASSOTIROPOULOS et al., 2003; VEGA et al., 2007). Por outro lado a diminuição da atividade da CYP46 levaria ao acúmulo de colesterol cerebral trazendo como consequência maior formação de placas amilóides. Foi identificado que um polimorfismo de uma única base no gene *CYP46 T/C*, estava significativamente associado com o risco do desenvolvimento da DA tardia (WOLOZIN, 2003).

Estudos evidenciam a associação entre o polimorfismo do intron 2 do gene *CYP46* com o risco aumentado para o desenvolvimento da DA (PAPASSOTIROPOULOS et al., 2003; BORRONI et al., 2004; COMBARROS et al., 2004; MA et al., 2006).

A influência do polimorfismo da *CYP46* sobre o risco de desenvolvimento da DA, está focada principalmente sobre SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) rs754203, localizado no íntron entre os exons 2 e 3 no qual ocorre uma transição *T/C*, sendo o alelo *C* o mais frequente nas populações estudadas. Também foi demonstrado que o genótipo *CYP46 TT* está associado com o risco de desenvolvimento da DA tardia (LOAD) nas populações estudadas e foi observado que indivíduos heterozigotos ou *CYP46 C* homozigotos tinham risco para DA diminuído, além de ser registrado um sinergismo genético entre a *APOE E4* e o *CYP46 TT* no desenvolvimento da DA (PAPASSOTIROPOULOS et al., 2003).

Existe, então, a controvérsia sobre qual alelo estaria associado com a LOAD. No estudo de Papassotiropoulos et al.,(2003) na Grécia e Itália, a associação existe entre o alelo *T* e DA, enquanto os trabalhos de Borroni et al.,(2004) na Itália e Combarros et al.,(2004) na Espanha, sugerem a associação com o alelo *C*.

Entretanto, estudos de Kolsch et al.,(2002) na Alemanha, Desai et al.,(2002) nos Estados Unidos, Kabbara et al., (2004) na França, Juhász et al.,(2005) na Hungria, não identificaram nenhuma associação entre o referido polimorfismo e a LOAD. Borroni et al.,(2004) demonstraram na população espanhola, o efeito sinérgico do *APOE E4* juntamente com o *CYP46 C* relacionados com a elevação do declínio cognitivo e desenvolvimento da DA.

Desta forma, em vista de resultados ainda contraditórios, é de fundamental importância que outros estudos sejam realizados com o objetivo de avaliar o possível papel deste polimorfismo em diferentes populações de risco ou portadoras de DCL.

1.7 O DISTRITO DE FERNANDO DE NORONHA E SUA POPULAÇÃO IDOSA

O Estado de Pernambuco está localizado na região Nordeste do Brasil, formado por 185 municípios, distribuídos em 5 meso-regiões: Metropolitana do Recife, Mata Pernambucana, Agreste Pernambucano, Sertão Pernambucano e Sertão do São Francisco, além do Distrito Estadual de Fernando de Noronha. O Arquipélago de Fernando de Noronha, descoberto oficialmente no ano de 1503, por Américo Vespúcio, numa expedição patrocinada pelo fidalgo Fernan de Loronha, só foi ocupado pelos portugueses a partir de 1737, ao ser incorporado à Capitania de Pernambuco, quando foi fundada a Vila dos Remédios (SILVA, 2000).

No contexto da Revolução Pernambucana (1817), os revoltosos enviaram o Capitão José de Barros Falcão de Lacerda à ilha, com a missão de destruir os fortes que a defendiam, e de trazer a guarnização que a ocupava, e o arquivo militar, de volta a Pernambuco. Com a missão cumprida, ao retornar foi detido como rebelde na baía da Traição, e desde então desconhece-se o paradeiro do arquivo militar da ilha (CARNEIRO, 1922). Posteriormente, terminada a Guerra da Independência do Brasil, a administração da ilha passou a ser subordinada ao Ministério da Guerra (1824), que a utilizou como Presídio Militar (BARRETTO, 1958).

Com a criação do Território de Fernando de Noronha (Decreto-lei de 9 de julho de 1942) o presídio foi transferido para a Ilha Grande, no litoral do estado do Rio de Janeiro. Em 1988, após aprovação da nova Constituição Brasileira, o Arquipélago de Fernando de Noronha volta a ser administrado pelo Estado de Pernambuco, na condição de Distrito Estadual (SILVA, 2000).

Em Fernando de Noronha, segundo o censo do IBGE (2000), residiam 2.051 habitantes, sendo 1.059 homens e 992 mulheres. Dos 467 domicílios particulares permanentes, 398 contavam com abastecimento de água na forma de rede geral; 64 com poços ou nascentes e 5 com outras formas de abastecimento. A coleta do lixo abrange a totalidade dos domicílios. Eram 453 domicílios com banheiro ou sanitário, entre os quais, 274 com esgotamento sanitário ligado à rede geral e 14 domicílios sem banheiro ou sanitário. O esgotamento sanitário foi apontado como uma das principais carências, em termos de infraestrutura, por não atender à demanda total do distrito (PAIVA, 2004).

Paiva (2004) relatou que da população de idosos de Fernando de Noronha, 45,7% relata prejuízo à capacidade funcional. Observou níveis satisfatórios de autonomia e independência na população estudada para desenvolver as atividades de vida diária (AVDs). Desta população de idosos, 18,8% desenvolviam atividades domésticas; 8,8% se dedicaram à agropecuária; 7,5% à carreira militar; 63% às áreas de pesca e construção.

A população idosa do distrito é especial, no sentido de manter um estado de alegria e satisfação com a vida, em geral. Para 75% dos idosos as expectativas para o futuro eram positivas; 17,5% não mencionaram expectativa, mas, também não referiram afirmação negativa e 7,5% descreveram o futuro negativamente. 95,5% do grupo afirmaram estar felizes, 2,5% não se sentiram felizes e 2,5 não souberam informar. Os indicadores socioeconômicos, analisados isoladamente, revelaram o perfil de uma população diferenciada, quando comparada a outras do Continente. No entanto, apesar da boa qualidade de vida, o elevado custo de vida na Ilha chega a superar os padrões observados na capital Recife (PAIVA, 2004).

É uma população carente de assistência médica e social, e por estarem residindo em localidade relativamente distante do continente, os problemas de saúde muitas vezes vão se acumulando não apenas devido a distância dos centros de referência, como também pela dificuldade de se instituir ações preventivas que contribuam para o bem estar e melhoria da qualidade de vida dos idosos seja na esfera física, social ou mental.

2 JUSTIFICATIVA

O envelhecimento populacional é um fenômeno do século XXI, atingindo tanto países desenvolvidos como em desenvolvimento. Nesta perspectiva a prevalência de doenças crônicas degenerativas também é crescente acometendo os indivíduos cada vez mais cedo com comprometimento na sua função cognitiva e funcional. Estudos estão sendo dirigidos para investigação de fatores genéticos como fatores de pré disposição ou de risco para a Doença de Alzheimer (DA). Neste contexto, observa-se a inexistência de estudos sobre a população de idosos de Fernando de Noronha; a inexistência de estudos no Brasil com os polimorfismos dos genes *APOE* e *CYP46* associados a declínios cognitivos, resultados inconclusivos em relação ao gene *CYP46* como um fator de risco para a aceleração do declínio cognitivo e possível desenvolvimento de DA e qual dos alelos estaria envolvido na patogênese.

O avanço da biologia molecular associado a fisiopatologia nos permite buscar de forma segura meios de diagnóstico precoce da DA, com a finalidade de retardar o desenvolvimento da doença, favorecendo a preservação da autonomia e independência do indivíduo idoso e garantindo-lhe melhoria na qualidade de vida. Neste sentido, novas abordagens de estudo têm um futuro promissor, podendo indicar populações de genes ou alterações moleculares que possam explicar o surgimento da doença, podendo fornecer as bases para a compreensão e delineamento de novas e mais eficazes abordagens de tratamento ou prevenção da DA.

Considerando a importância do tema abordado e a necessidade de investimento em pesquisa sobre a população idosa brasileira que apresenta características específicas, devido a diversos fatores socioeconômicos, políticos, culturais, inclusive relacionados ao espaço geográfico de um país com dimensões continentais, onde historicamente a iniquidade social vem sendo revelada no cenário de uma sociedade marcada pelos contrastes, de representar, no contexto internacional, uma das dez maiores economias do mundo e ao mesmo tempo ocupar a escala dos sexagésimos países em índice de desenvolvimento humano, este trabalho investigou uma população idosa, cuja situação de isolamento geográfico é uma de suas características mais peculiares.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Determinar a frequência dos polimorfismos dos genes *APOE* e *CYP46* e relacionar com declínio cognitivo em idosos residentes no Distrito de Fernando de Noronha/PE .

3.2 Específicos

- 1- Avaliar as funções cognitivas dos idosos através de testes neuropsicológicos:
- 2- Determinar a frequência genotípica e alélica dos polimorfismos *APOE* (E2, E3 , E4) e *CYP46* rs754203 (T/C);
- 3- Verificar se existe associação entre declínio cognitivo com os polimorfismos dos genes *APOE E4* e *CYP46* rs754203 T/C.

4 - MATERIAIS E MÉTODOS

Esta tese está sendo apresentada por:

-INTRODUÇÃO,

-UM ARTIGO DE REVISÃO:

“Cyp46 Polymorphisms in Alzheimer’s Disease: A Review “

- DOIS ARTIGOS ORIGINAIS:

“*APOE E4* polymorphism and cognitive deficit among the elderly population of Fernando de Noronha”

“*APOE E4*, *Cyp46* polymorphisms and cognitive deficit in elderly population from Fernando de Noronha- Brazil .”

4.1 Tipo de Estudo- analítico (transversal com comparação de grupos)

Estudos analíticos são aqueles delineados para examinar a existência de associação entre uma exposição e uma doença ou condição relacionada à saúde. Os principais delineamentos de estudos analíticos são: a) ecológico; b) seccional (transversal); c) caso-controle (caso-referência); e d) coorte (prospectivo) (LIMA-COSTA e BARRETO, 2003)

4.2 Local de Estudo- Distrito Estadual de Fernando de Noronha/PE

O arquipélago de Fernando de Noronha, paraíso ecológico e turístico brasileiro, localiza-se no Oceano Atlântico a leste do litoral do estado do Rio Grande do Norte. É um distrito estadual, pertencente ao Estado de Pernambuco. A extensão total do arquipélago é de 26 km², sendo que a ilha principal possui 17 km². Em 1988, cerca de 8 km² da ilha foram transformados em Parque Nacional. Desta forma, garantiu-se a preservação das espécies animais e vegetais da região (PAIVA, 2004). Em Fernando de Noronha, segundo o censo do IBGE (2000), residiam 2051 habitantes, sendo 1059 homens e 992 mulheres. A população idosa era de 88 indivíduos.

4.3 Período do Estudo- Foi firmado um Convênio de Cooperação Técnica (087.11.2005) entre a Universidade de Pernambuco (UPE) e a Administração Geral de Fernando de Noronha e o período do estudo foi estabelecido em 4 anos (2006-2010).

4.4 População do Estudo- Foram incluídos no estudo indivíduos com 60 anos e mais, de ambos os gêneros, com independência e autonomia, totalizando 52 idosos.

4.5 Instrumentos

4.5.1 Protocolo (Apêndice 1)

- Dados pessoais (nome, gênero, idade, raça, escolaridade, renda, hábitos, doenças pré-existentes, medicamentos em uso);
- Exame físico- avaliação clínica geriátrica contemplando exame físico e avaliação funcional (atividades de vida diária) e cognitiva

4.5.2 Avaliação cognitiva

Testes neuropsicológicos

Foi aplicado o Mini Exame do Estado Mental (FOLSTEIN,et al.,1975) um teste de rastreamento que permite uma avaliação global do funcionamento cognitivo. É composto por uma avaliação objetiva da orientação, memória, cálculo e linguagem. Funciona como indicador de déficit cognitivo. O escore mínimo esperado por escolaridade: para analfabetos, 19; para escolaridade de 1 a 4 anos, 23; de 5 a 8 anos, 26,5; de 9 a 11 anos, 28; para indivíduos com escolaridade superior a 11 anos, 29. Esta é a escala mais amplamente utilizada na avaliação de declínio cognitivo em idosos.

Para avaliação das funções executivas foram utilizados;

-Teste de Fluência Verbal (FV) categoria semântica (animais/minuto). Avalia linguagem, atenção, organização, estratégia.. Consiste em solicitar à pessoa que fale o maior número possível de animais em um minuto (CHARCHAT-FICHMAN, 2005). Foi utilizado ponto de corte 13 para alfabetizados e 9 para analfabetos (FREITAS et al.,2006).

- Clinical Dementia Rating (CDR) (HOWIESON et al., 1997) escore de 0 para normal, 0,5 para questionável, 1 demência leve, 2 demência moderada, 3 demência grave ;
- NINCDS-ADRDA (MCKHANN et al., 1984) que classifica a demência em possível e provável ;
- Teste do Relógio (TR) com ponto de corte=7 (SUNDERLAND et al., 1989).

4.5.3 Critérios de exclusão .

No protocolo também contemplava :

- Escala Isquêmica de Hachinski com ponto de corte < 4 para D.A (CHOPRA e HACHINSKI,1990)
- Critérios para o diagnóstico de Demência por Corpúsculos de Lewy (MCKEITH et al.,1985)
- Escala de Depressão Geriátrica (GDS), para verificar a presença de transtorno depressivo. Questionário com 15 perguntas objetivas (sim ou não) com pontuação entre 0 e 5 se considera normal, 6 a 10 indica depressão leve e 11 a 15 depressão severa (YESAVAGE,1988).

Ainda como critérios de exclusão foram observados quadros ou diagnósticos de confusão mental, hidrocefalia de pressão intermitente, hipotireoidismo descompensado, perda auditiva severa.

4.6 Extração do DNA genômico

Frequência genotípica e alélica do gene APOE

Coleta do material biológico através de extração de sangue periférico.

O DNA genômico foi isolado dos leucócitos presentes no sangue periférico pelo método de *salting out* (MILLER et al, 1988).

Inicialmente, foi feita a lise de membrana utilizando o tampão cuja formulação foi triton 1%, sacarose 0,32M, Tris-HCl 10mM (pH – 7,5) com MgCl₂ 5mM, um microtubo de 2mL, 300 µL de sangue total e 1mL de tampão de lise celular, deixando 10 minutos reagindo a temperatura ambiente. Em seguida foi realizada a centrifugação a 13.000rpm por 1 minuto. Esta etapa foi repetida até promover a liberação do núcleo e principalmente a lavagem da amostra utilizando o tampão tris 10mM (pH 8,2), com NaCl 400mM e EDTA 2mM.

A etapa seguinte foi a lise de núcleo, utilizando-se 200 µL da solução de lise nuclear que contém dodecil sulfato de sódio (SDC) a 10% deixando a amostra por 10 minutos a temperatura ambiente com posterior agitação vigorosa. Posteriormente foi feita a remoção de proteínas celulares, através da adição de 175 µL de solução de NaCl a 5,3M, e centrifugação a 13.000rpm por 15 minutos. O DNA presente no sobrenadante foi transferido para outro tubo, no qual foi adicionado 1mL de etanol a 100%, para precipitar o DNA, foi então centrifugado a 13.000rpm por 10 minutos, para a formação do *pellet* de DNA. Em seguida, o sobrenadante foi descartado, e adicionado 1mL de etanol a 70%.

Antes da última centrifugação a 13.000 rpm por 2 minutos, foi realizado um vortex rápido. O sobrenadante foi novamente descartado e adicionado 150 µL de solução de reidratação (Tris EDTA, pH 8).

4.7 Identificação do Polimorfismo

4.7.1 Identificação do Polimorfismo do *APOE*

Para a identificação do polimorfismo do *APOE* foram utilizados os seguintes primers:

- 5'- TCCAAGGAGCTGCAGGCGGCGCA-3' (direto)
- 5'-ACAGAATTCGCCCCGGCCTGGTACACTGCCA-3' (reverso)

A preparação para a amplificação do gene *APOE*, consistiu de 10 µL de água, 2,5µL do tampão de PCR 10X concentrado, 50 mM Cl, 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 2,5µL de DMSO, 0,8mL MgCl₂ (50mM), 2,0 µL dNTPs (200mmol), 2,5 µL (5pmol) de *primers* (direto e reverso) e 1,25 unidades (5U/µL) de enzima DNA Taq Polimerase (Invitrogen) totalizando um volume final de 24,2 µL em cada microtubo de 0,2 mL.

O programa de amplificação consistiu em um ciclo de 96°C por 5 minutos e 35 ciclos de 96°C por 1 minuto, 62°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto e um ciclo de 72°C por 10 minutos. Após o término do primeiro programa, retira-se 2µL do material amplificado e reamplifica-se seguindo os mesmos passos. Todo material foi amplificado em termociclador da marca Eppendorf.

O produto amplificado foi digerido pela enzima de restrição *HhaI* numa proporção 0,5mL da enzima e 2mL de seu respectivo tampão na concentração de 10X, após permanecer em banho-maria a 37°C por 48 horas.

4.7.2 Identificação dos polimorfismos do *CYP 46*:

A identificação do polimorfismos do gene *CYP46* foi realizada pelo método PCR-RFLP de acordo com o método de Borrone et al. (2004). As sequências dos *primers* foram:

Direto: 5'- TGAAAACGAGTTTCCCGTCC - 3'

Reverso: 5'- GTGTGACCAGGTAACAGTCA - 3'

Este polimorfismo foi identificado utilizando digestão enzimática pela *MspI*. O alelo T corresponde a um fragmento não cortado de 285pb, enquanto o alelo C é caracterizado por dois fragmentos, um com 209 e outro com 76pb. Em ambas as genotipagens, os fragmentos resultantes da amplificação e digestão foram observados em gel de agarose 3% e revelado com brometo de etídio.

5 Considerações Éticas

O presente estudo faz parte de um projeto maior denominado PROJETO ALOIS desenvolvido pela Universidade de Pernambuco em parceria com o Distrito de Fernando de Noronha, com o objetivo de realizar-se periodicamente avaliações gerontogerítricas na população idosa residente no referido distrito.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade de Pernambuco - Protocolo 032/06 - CAAE-0017.0.097.000-06 (Anexo 1).

Todos os idosos ou responsáveis assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice 2).

6- ARTIGO DE REVISÃO

TÍTULO :

Cyp46 Polymorphisms in Alzheimer's Disease: A Review.

AUTORES:

Anália Nusya Medeiros Garcia; Maria Tereza Cartaxo Muniz; Hugo Rafael Souza e Silva; Helker Albuquerque da Silva; Luiz Athayde-Junior

PERIÓDICO:

Journal of Molecular Neuroscience, 39, 342-345, 2009

Cyp46 Polymorphisms in Alzheimer's Disease: A Review

Anália Nusya Medeiros Garcia · Maria Tereza Cartaxo Muniz ·
Hugo Rafael Souza e Silva · Helker Albuquerque da Silva · Luiz Athayde-Junior

Received: 14 July 2009 / Accepted: 20 July 2009
© Humana Press 2009

Abstract Increasing research findings argue for a link between brain cholesterol turnover and Alzheimer's disease (AD). High cerebral levels of this lipid increase A β load. The elimination of cerebral cholesterol involves two mechanisms, dependent of apolipoprotein E and cholesterol 24-hydroxylase (CYP46). CYP46 is a gene associated with AD; the most studied single nucleotide polymorphism is the rs754203, which changes T→C. Some studies describe that this polymorphism is possibly associated with loss of function of CYP46; others describe that it is possibly associated with cerebral cholesterol accumulation or an increase of CYP46 activity leading to an accumulation of the 24S-hydroxycholesterol in cerebrospinal fluid. Publications about this subject around the world are controversial. Some studies associate the T allele with AD and others the C allele. The aim of this review is to describe and summarize the findings of the researches about the relationship between CYP46 and AD that have been published in the past 9 years.

Keywords Cyp46 · Alzheimer disease · 24S-hydroxycholesterol · Single nucleotide polymorphism

A. N. M. Garcia · M. T. C. Muniz (✉) · H. A. da Silva
Instituto de Ciências Biológicas, UPE,
Recife, Brazil
e-mail: tcartaxo.upe@hotmail.com

A. N. M. Garcia · L. Athayde-Junior
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE),
Recife, Brazil

M. T. C. Muniz
Hospital Universitário Oswaldo Cruz-UPE,
Recife, Brazil

H. R. Souza e Silva
Faculdade de Ciências Médicas, UPE,
Recife, Brazil

Introduction

Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder affecting memory and cognition in elderly. Both genetic and environmental factors have been involved in the pathogenesis of AD. Apolipoprotein E (APOE) gene is accepted worldwide as a genetic factor for sporadic AD. However, the APOE gene only accounts for about 65% of all sporadic AD cases, indicating that other genes are involved in the etiology of sporadic AD (Richard and Amoyuel 2001).

Recent studies have shown evidence that cholesterol metabolism has an important role in the pathogenesis of AD. High serum cholesterol concentration increases the risk of AD (Notkola et al. 1998; Kivipelto et al. 2001).

Brain cholesterol is synthesized locally and is independent from nutritional intake (Jurevics and Morell 1995). Excess brain cholesterol derives either from increased synthesis or is due to neuronal cell death and needs to be eliminated from the brain (Goodrum 1991). Furthermore, it has been demonstrated that cholesterol affects the pathogenic mechanisms of the disease by modulating the amyloid precursor protein processing; high serum cholesterol is a factor that increases A β biogenesis and A β toxicity (Borroni et al. 2004).

Brain cholesterol is very stable compared to the cholesterol of the periphery, and it is mainly synthesized locally, as its transfer is restricted by the blood-brain barrier (Ma et al. 2006).

The turnover of cholesterol in the brain occurs via conversion of excess cholesterol into 24S-hydroxycholesterol, which is then secreted from the central nervous system into the plasma across the blood-brain barrier (Tedde et al. 2006).

24S-Hydroxycholesterol is the major cholesterol elimination product of the brain. More than 90% of plasma 24S-hydroxycholesterol originates from the brain; however, the exact transport mechanism for the elimination of 24S-

Table 1 A summarized analysis of the association between AD and CYP46

References	SNP	Allele/genotype	Polymorphism Cyp46/AD	p value	Sample size population
Desai et al. 2002; (whites)	rs754203	—	Absent	0.72	USA
Desai et al. 2002; (blacks)	rs754203	—	Absent	0.94	USA
Kölsch et al. 2002	rs754203	C	Absent	0.815	Germany
Papassotiropoulos et al. 2003 ^a	rs754203	TT	Present	<0.001	Switzerland/Greece/Italy
Borroni et al. 2004	rs754203	C	Present	<0.0001	Italy
Chalmers et al. 2004	rs754203	—	Absent	0.650	UK
Combarros et al. 2004 ^a	rs754203	CC	Present	—	Spain
Ingelsson et al. 2004	rs754203	—	Absent	0.11	USA
Johansson et al. 2004	rs754203	T	Absent	0.250/0.140/0.59	Sweden and Scotland
Kabbara et al. 2004	rs754203	C	Absent	>0.05	France
Wang et al. 2004	rs754203	T	Present	0.001	China
Golanska et al. 2005	rs754203	C	Present	0.024	Poland
Juhász et al. 2005	rs754203	—	Absent	0.421/0.466	Hungary
Fernández del Poso et al. 2005	rs754203	T	Present	—	Spain
Helisalmi et al. 2006 ^a	rs754203	CC	Present	0.015	Finland
Li et al. 2006	rs754203	C	Present	0.047	China
Ma et al. 2006	rs754203	T	Absent	0.687	China
Ma et al. 2006	rs3742376	C	Present	0.047	China
Tedde et al. 2006	rs754203	—	Absent	0.342	Italy
Wang and Jia 2007	rs754203	—	Absent	0.558	China
Golanska et al. 2009	rs754203	C	Present	<0.05	Poland
Fu et al. 2009 ^b	rs754203	T	Present	0.011	China*
Kölsch et al. 2009	rs7157609	G	Present	0.016	Germany
Kölsch et al. 2009	rs4900442	C	Present	0.019	Germany

^a Genotype association^b Association between CYP46 and mild cognitive impairment (MCI)

hydroxycholesterol from brain into blood is unknown (Björkhem et al. 1998). Compared to controls, serum 24S-hydroxycholesterol/cholesterol ratios had decreased and were lower during the progress of AD. High levels of neurotoxic 24S-hydroxycholesterol, especially during early

stages of AD, might have lead to advanced neurodegeneration, and thus, 24S-hydroxycholesterol is suggested to be an additional risk factor (Kölsch et al. 2002).

In addition, it is believed that the cerebrospinal fluid (CSF) concentration of 24S-hydroxycholesterol is altered in

Table 2 A summarized description of the risk for AD related to CYP46 C/T polymorphism in case-control studies

References	OR (95%)	CI	p value
CYP46 T			
Papassotiropoulos et al. 2003;	2.16	1.41–3.32	<0.001
Wang et al. 2004;	2.98	1.64–5.44	<0.001
Fernández del Poso et al. 2005	2.262	1.337–4.202	—
CYP 46 C			
Kölsch et al. 2002	2.159	1.112–4.192	0.023
Combarros et al. 2004	2.91	1.36–6.25	0.004
Borroni et al. 2004	2.56	1.58–4.08	—
Li et al. 2006	2.01	1.05–3.87	0.036
Ma et al. 2006	0.66	0.42–1.02	0.047
Helisalmi et al. 2006	2.13	1.25–3.62	0.005

AD-related neurodegeneration, and thus, CSF 24S hydroxycholesterol may be a marker for monitoring the onset and progression of the disease (Papassotiropoulos et al. 2002).

The Cyp46 enzyme is a member of the cytochrome P-450 family proteins and converts cholesterol to 24S-hydroxycholesterol. Cyp46 is expressed exclusively in the brain, where it regulates the elimination of excess cholesterol by adding a hydroxyl group to cholesterol producing a product that is more soluble than cholesterol and able to be exported from the brain (Bjorkhem et al. 1998; Lund et al. 1999; Tedde et al. 2006).

Interestingly, polymorphisms in the CYP46 gene (which encodes for cholesterol 24S-hydroxylase) influence both A β peptide load in the brain and the genetic risk for late-onset sporadic AD (LOAD) (Kolsch et al. 2003; Woloziński 2003). It is suggested that increases in the membrane distribution of cholesterol (in contrast to total cholesterol content) may provide an enriched environment for A β production and release in the brain (Gibson et al. 2003; Kolsch et al. 2003). In addition, A β peptide induction of membrane-associated oxidative stress may contribute to altered ceramide and cholesterol metabolism that in turn trigger AD-type neurodegeneration and brain disease (Cutler et al. 2004).

A single nucleotide polymorphism (T/C) (rs754203) in intron 2 of CYP46 gene has been identified and reported to be significantly associated with increased risk for LOAD. According to the report, the frequency of CYP46 T allele and TT genotype was significantly higher in AD patients from Switzerland, Greece, and Italy than in controls (Papassotiropoulos et al. 2003). In contrast, Borroni et al. (2004) reported that CYP46C allele might act as a risk factor for LOAD in Italian patients, meaning that the susceptibility polymorphism might differ in different ethnic groups (Wang et al. 2004).

Recently, Kölsch et al. (2009) identified two single nucleotide polymorphisms (SNPs) in CYP46A1 influenced AD risk and suggest that CYP46A1 gene variations might act as risk factors for AD via influence on brain cholesterol metabolism.

This was a key initiative, considering the importance of studies about this issue. The aim of this paper is to report the results of studies about AD genetics and the CYP46 gene that have been published in the last 9 years.

Case–Controls Studies

The first publication about the relationship between CYP46 and AD was published by Bogdanovic et al. (2001). Since this publication, a lot of research has been done to elucidate the importance of the CYP46 gene in the pathogenesis of AD.

The studies that analyzed the association of CYP46 in development of LOAD, between 2001 and 2009 years, are summarized in Table 1.

With respect to the alleles (T/C) in the region rs754203 that be considered risk factors for LOAD, it is observed that 60% from the studies revealed the allele C association (Table 2).

In view of the contradictory results previously reported about the connection between CYP46 polymorphisms and AD, it is possible that the reasons for these controversial results would be caused by ethnical variability in different populations, methodological differences, or both. To confirm a connection between CYP46 as well as genetic control of cholesterol homeostasis in general and the pathogenesis of AD, further research is needed, including analysis of other genes influencing CNS cholesterol and amyloid metabolism and/or neighboring CYP46.

Acknowledgements Simons, J.M., VU University Amsterdam and Leal, E.M.M., Universidade de Pernambuco are acknowledged.

References

- Bjorkhem, I., Lütjohann, D., Diczfalusy, U., Stahle, L., Ahlberg, G., & Wahren, J. (1998). Cholesterol homeostasis in human brain: turnover of 24S-hydroperoxycholesterol and evidence for a cerebral origin of most of this oxysterol in the circulation. *Journal of Lipid Research*, 39, 1594–1600.
- Bjorkhem, I., Lütjohann, D., Diczfalusy, U., Stähle, L., Ahlberg, G., & Wahren, J. (1998). Cholesterol homeostasis in human brain: turnover of 24S-hydroxycholesterol and evidence for a cerebral origin of most of this oxysterol in the circulation. *Journal of Lipid Research*, 39, 1594–1600.
- Bogdanovic, N., Bretillon, L., & Lund, E. G. (2001). On the turnover of brain cholesterol in patients with Alzheimer's disease. Abnormal induction of the cholesterol-catabolic enzyme CYP46 in glial cells. *Neuroscience Letters*, 314, 45–48.
- Borroni, B., Archetti, S., Agosti, C., et al. (2004). Intronic CYP46 polymorphism along with ApoE genotype in sporadic Alzheimer Disease: from risk factors to disease modulators. *Neurobiology of Aging*, 25, 747–751.
- Chalmers, K. A., Culpan, D., Kehoe, P. G., Wilcock, G. K., Hughes, A., & Love, S. (2004). APOE promoter, ACEI and CYP46 polymorphisms and b-amyloid in Alzheimer's disease. *Neuro-Report*, 15, 95–98.
- Combarros, O., Infante, J., Llorca, J., & Berciano, J. (2004). Genetic association of CYP46 and risk for Alzheimer's disease. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 18, 257–260.
- Cutler, R. G., Kelly, J., Storie, K., Pedersen, W. A., Tammara, A., Hatanpaa, K., et al. (2004). Involvement of oxidative stress-induced abnormalities in ceramide and cholesterol metabolism in brain aging and Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 2070–2075.
- Desai, P., DeKosky, S. T., & Kamboh, M. I. (2002). Genetic variation in the cholesterol 24-hydroxylase (CYP46) gene and the risk of Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, 328, 9–12.
- Fernández del Poso, V., Álvarez, M. A., Martínez, M. F., et al. (2005). Polymorphism in the cholesterol 24S-hydroxylase gene (CYP46A1)

- associated with the APOEε3 allele increases the risk of Alzheimer's disease and of mild cognitive impairment progressing to Alzheimer's disease. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 21, 81–87.
- Fu, B. Y., Ma, S. L., Tang, N. L., et al. (2009). Cholesterol 24-hydroxylase (CYP46A1) polymorphisms are associated with faster cognitive deterioration in Chinese older persons: a two-year follow up study. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 24, 921–926.
- Gibson Wood, W., Eckert, G. P., Igbavboa, U., & Muller, W. E. (2003). Amyloid beta-protein interactions with membranes and cholesterol: Causes or casualties of Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1610, 281–290.
- Golanska, E., Hulas-Bigoszewska, K., Wojcik, I., et al. (2005). CYP46: A risk factor for Alzheimer's disease or a coincidence? *Neuroscience Letters*, 383, 105–108.
- Golanska, E., Hulas-Bigoszewska, K., Sieruta, M., et al. (2009). Earlier onset of Alzheimer's disease: Risk polymorphisms within PRNP, PRND, CYP46, and APOE Genes. *Journal of Alzheimer's Disease*, 17(2), 359–368.
- Goodrum, J. F. (1991). Cholesterol from degenerating nerve myelin becomes associated with lipoproteins containing apolipoprotein E. *Journal of Neurochemistry*, 56, 2082–2086.
- Helisalmi, S., Vepsäläinen, S., Koivisto, A. M., et al. (2006). Association of CYP46 intron 2 polymorphism in Finnish Alzheimer's disease samples and a global scale summary. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 77, 421–422.
- Ingelsson, M., Jesneck, J., Irizarry, M. C., Hyman, B. T., & Rebeck, G. W. (2004). Lack of association of the cholesterol 24-hydroxylase (CYP46) intron 2 polymorphism with Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, 367, 228–231.
- Juhász, A., Rimanóczy, A., Boda, K., et al. (2005). CYP46 T/C polymorphism is not associated with Alzheimer's dementia in a population from Hungary. *Neurochemical Research*, 30, 943–948.
- Johansson, A., Katzov, H., Zetterberg, H., et al. (2004). Variants of CYP46A1 may interact with age and APOE to influence CSF Aβ42 levels in Alzheimer's disease. *Human Genetics*, 114, 581–587.
- Jurevics, H., & Morell, P. (1995). Cholesterol for synthesis of myelin is made locally, not imported into the brain. *Journal of Neurochemistry*, 64, 895–901.
- Kabbara, A., Payet, N., Cotel, D., Frigard, B., Amoyouel, P., & Lambert, J. C. (2004). Exclusion of CYP46 and APOM as candidate genes for Alzheimer's disease in a French population. *Neuroscience Letters*, 363, 139–143.
- Kivipelto, M., Helkala, E. L., Laakso, M. P., Hänninen, T., Hallikainen, M., Alhainen, K., et al. (2001). Midlife vascular risk factors and Alzheimer's disease in later life: Longitudinal, population based study. *BMJ*, 322, 1447–1482.
- Kölsch, H., Lütjohann, D., Ludwig, M., et al. (2002). Polymorphism in the cholesterol 24S-hydroxylase gene is associated with Alzheimer's disease. *Molecular Psychiatry*, 7, 899–902.
- Kölsch, H., Lütjohann, D., von Bergmann, K., & Heun, R. (2003). The role of 24S-hydroxycholesterol in Alzheimer's disease. *Journal of Nutrition, Health & Aging*, 7, 37–41.
- Kölsch, H., Lütjohann, D., & Jessen, F. (2009). CYP46A1 variants influence Alzheimer's disease risk and brain cholesterol metabolism. *European Psychiatry*, 24, 183–190.
- Li, Y., Chu, L. W., Chen, Y. Q., et al. (2006). Intron 2 (T/C) CYP46 polymorphism is associated with Alzheimer's disease in Chinese patients. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 22, 399–404.
- Lund, E. G., Guileyardo, J. M., & Russell, D. W. (1999). cDNA cloning of cholesterol 24-hydroxylase, a mediator of cholesterol homeostasis in the brain. *Proceedings of the National Academy*, 96, 7238–7243.
- Ma, S. L., Tang, N. L. S., Lam, L. C. W., & Chiu, H. F. K. (2006). Polymorphisms of the cholesterol 24-hydroxylase (CYP46A1) gene and the risk of Alzheimer's disease in a Chinese population. *International Psychogeriatrics*, 18, 37–45.
- Notkola, I. L., Sultkava, R., Pekkanen, J., Erkinjuntti, T., Ehnholm, C., Kivinen, P., et al. (1998). Serum Total cholesterol, apolipoprotein E epsilon 4 allele, and Alzheimer's disease. *Neuroepidemiology*, 17, 14–20.
- Papassotiropoulos, A., Lütjohann, D., Bagli, M., et al. (2002). 24S-hydroxycholesterol in cerebrospinal fluid is elevated in early stages of dementia. *Journal of Psychiatric Research*, 36, 27–32.
- Papassotiropoulos, A., Streffer, J. R., Tsolaki, M., et al. (2003). Increased brain b-Amyloid load, phosphorylated tau, and risk for Alzheimer disease associated with an intronic CYP46 polymorphism. *Archives of Neurology*, 60, 29–35.
- Richard, F., & Amoyuel, P. (2001). Genetic susceptibility factors for Alzheimer's disease. *European Journal of Pharmacology*, 412, 1–12.
- Tedde, A., Rotondi, M., Cellini, E., et al. (2006). Lack association between the CYP46 gene polymorphism and Italian late-onset sporadic Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 27, 773.e1–773.e3.
- Wang, F., & Jia, J. (2007). Polymorphism of cholesterol metabolism genes CYP46 and ABCA1 and the risk of sporadic Alzheimer's disease in Chinese. *Brain Research*, 1147, 34–38.
- Wang, B., Zhang, C., & Zheng, W. (2004). Association between a T/C polymorphism in intron 2 of cholesterol 24S-hydroxylase gene and Alzheimer's disease in Chinese. *Neuroscience Letters*, 369, 104–107.
- Wolozin, B. (2003). Cyp46 (24S-cholesterol hydroxylase)—A genetic risk factor for Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 60, 16–18.

7- ARTIGO ORIGINAL

7.1-TÍTULO :

APOE-ε4 polymorphism and cognitive deficit among the elderly population of Fernando de Noronha.

AUTORES:

Anália Nusya Garcia, Helker Albuquerque da Silva, Renan Carlos Silva, Eliane Maria Medeiros Leal, Lorena Rodrigues, Vanessa Cavalcante da Silva, Edileine Dellalibera, Elizabete Malaquias Freitas, Luiz Ataíde Jr, Maria Tereza Cartaxo Muniz

PERIÓDICO

Arq. NeuroPsiquiatr, 66, 298-302, 2008

APOE- ϵ 4 POLYMORPHISM AND COGNITIVE DEFICIT AMONG THE ELDERLY POPULATION OF FERNANDO DE NORONHA

Anália Nusya Garcia¹, Helker Albuquerque da Silva³, Renan Carlos Silva³,
Eliane Maria Medeiros Leal³, Lorena Rodrigues¹, Vanessa Cavalcante da Silva³,
Edileine Dellalibera⁴, Elizabete Malaquias Freitas¹, Luiz Ataíde Jr², Maria Tereza Cartaxo Muniz^{1,3}

Abstract – Background: Polymorphism of the gene for apolipoprotein E (APOE) is an important risk factor for the development of Alzheimer's disease. The ϵ 4 allele of the APOE gene has been linked with a number of neuropsychiatric illnesses, and also with stress and depression among geriatric populations. **Objective:** To identify APOE- ϵ 4 polymorphism and correlate this with cognitive deficit among the elderly population of the island of Fernando de Noronha. **Method:** Neuropsychiatric tests (mini-mental state examination, verbal fluency test and clock drawing test) were applied to 52 elderly people without Alzheimer's disease. DNA was isolated from peripheral blood and genotyping of APOE was done by the PCR-RFLP method. **Results:** 87% of the elderly population (mean age 69.6 ± 7.0) had cognitive deficit. **Conclusion:** The observed frequency of the ϵ 4 allele was 10%, but the correlation between the presence of ϵ 4 and cognitive deficit in this population was not statistically significant.

KEY WORDS: APOE, polymorphism, elderly people, cognitive deficit.

Polimorfismo de APOE- ϵ 4 e déficit cognitivo na população idosa de Fernando de Noronha

Resumo – Introdução: Polimorfismos no gene da apolipoproteína E (APOE) são importantes fatores de risco para o desenvolvimento da doença de Alzheimer (DA). O alelo ϵ 4 do gene APOE tem sido relacionado com declínio cognitivo e algumas doenças neuropsiquiátricas, primariamente a doença de Alzheimer. **Objetivo:** Identificar os polimorfismos de APOE- ϵ 4 e relacionar com déficit cognitivo na população idosa da ilha de Fernando de Noronha. **Método:** Foram aplicados testes neuropsiquiátricos (mini exame do estado mental, teste de fluência verbal e teste do relógio) em 52 idosos sem DA. O DNA foi isolado do sangue periférico e a genotipagem de APOE foi realizada por PCR-RFLP. **Resultados:** 87% da população idosa com idade média de 69.6 ± 7.0 apresentou déficit cognitivo. Foi observada uma frequência de 10% do alelo ϵ 4. **Conclusão:** Não foi encontrada significância estatística quando relacionada a presença deste alelo e déficit cognitivo nos idosos avaliados.

PALAVRAS-CHAVE: APOE, polimorfismos, idosos, déficit cognitivo.

Changes in the shape of the world's population pyramid over the past century have demonstrated increases in the numbers of elderly people. Neurodegenerative illnesses most commonly appear at such ages. Alzheimer's disease (AD) is the most frequent of these, and this indicates that there is a need to use diagnostic techniques to identify risk factors for cognitive decline among elderly populations. Individuals who ultimately develop degenerative dementia such as AD are likely to transition through

a period of mild impairment. Mild cognitive impairment (MCI) is a term used to describe this transitional zone between normal aging and very early dementia. It represents a condition in which individuals present memory impairment that is greater than expected for their age¹. Over the last decade, many studies have been conducted to investigate the relationship between family history, genetic markers and cognitive profile among elderly populations. Apolipoprotein E was identified as a risk factor for

¹Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco, Recife PE, Brazil; ²Departamento de Neuropsiquiatria, Universidade Federal de Pernambuco, Recife PE, Brazil; ³Centro de Oncohematologia Pediátrica, Hospital Universitário Oswaldo Cruz, Universidade de Pernambuco, Recife PE, Brazil; ⁴Laboratório Central, Hospital Universitário Oswaldo Cruz, Universidade de Pernambuco, Faculdade Maurício de Nassau, Recife PE, Brazil. This study was supported by the Administration from Fernando de Noronha District, PE and Universidade de Pernambuco.

Received 26 February 2008. Accepted 3 May 2008.

Dra. Maria Tereza Cartaxo Muniz – Rua Dr. José Maria 615 / 203A - 52041-000 Recife PE - Brasil. E-mail: tcartaxo.upe@hotmail.com

AD². The APOE gene is inherited as one of three alleles, termed ε2 (Arg148→Cys), ε3 (Cys112) and ε4 (Cys112→Arg), with mean frequencies in the general population of about 8%, 78% and 14%, respectively³. The degree of AD risk conferred by ε4 rises in a "gene dose" manner, increasing with the number of ε4 alleles inherited, from zero (noncarriers) to one (heterozygote) and two (homozygote)⁴. Because AD usually appears late in life and progresses slowly, the ε4 allele may exert its effects prior to the clinical diagnosis of AD. Consistent with this view, studies have shown that older carriers of the ε4 allele who do not have dementia nevertheless do show cognitive deficits⁵. New research has indicated that the ε4 allele is a weak predictor of Alzheimer dementia among elderly individuals⁶.

AD patients carrying the ε4 allele have also shown pronounced medial temporal lobe atrophy^{7,8}. Furthermore, the APOE gene has been linked with several cognitive processes, such as spatial attention⁹ and working memory⁵, for which ε4 carriers have shown deficits in relation to ε4 non-carriers. Cognitive deficits associated with ε4 are not confined to older adults. They may also occur as early as midlife, a decade or more before the likely onset of symptoms of AD in those destined to acquire the disease. Such findings suggest that a cognitive phenotype of APOE could exist independently of the possible development of AD. Possession of the ε4 allele is far from being a guarantee of subsequent dementia, given that only about 50% of ε4 homozygotes have developed AD by age 80¹⁰ or 90 years¹¹.

The purpose of the present study was to investigate the relationship between the APOE gene and neuropsychological characters of the elderly residents of the island of Fernando de Noronha, State of Pernambuco, a population without previous records, in order to obtain data that might contribute towards promoting actions to improve the lives of this elderly population.

METHOD

Participants

In April 2006, we evaluated 52 elderly individuals, representing 59% of this population segment on the island of Fernando de Noronha. This island is a Maritime National Park located in the Atlantic Ocean, around 220 miles east of the Brazilian coast. It has just over 2,800 inhabitants, who are descendants of prisoners, military personnel or people who have come in to develop services. The elderly people in our sample had lived there for at least thirty years.

Ethics

The research protocol was approved by the Scientific and Ethics Committee of the University of Pernambuco (UPE). All subjects signed the informed consent statement.

Laboratory methods

Genomic DNA was extracted by means of the salting-out method¹², from peripheral blood, anticoagulated with ethylenediaminetetracetic acid (EDTA). The APOE genotyping was done by the PCR method (polymerase chain reaction). The forward primer sequence was 5'-TCCAAGGAGCTGCAGGCGGCGCA-3' and the reverse sequence was 5'-ACAGAATTCGCCCGGCCTGGTACACTGCCA-3'. The polymorphism was investigated using enzymatic cleavage using the restriction enzyme HhaI (RFLP)¹³. Fragments of 72 bp, 48 bp and 33 bp were produced from APOE-ε4, fragments of 91 bp and 81 bp from APOE-ε2 and fragments of 91 bp, 48 bp and 33 bp from APOE-ε3.

Cognitive tests

The elderly people were examined using the clinical dementia rating (CDR) scale¹⁴ and the NINCDS-ADRDA (National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and Alzheimer's Disease and Related Disorders Association) criteria¹⁵. They also underwent the following neuropsychological tests to assess their memory, executive functions, orientation and language: mini-mental state examination (MMSE)¹⁶, verbal fluency test (VFT)¹⁷ and clock drawing test (CDT)¹⁸. The data are presented as means, standard deviations and quartiles. They were also tested using the Hachinski ischaemia score¹⁹, Yesavage's geriatric depression scale²⁰ and the Lewy body dementia test²¹. For the tests in which cognitive function was considered in terms of education level, this was taken to be the number of years of schooling that the individual had had. The sample was stratified into three groups: illiterates, individuals with one to eight years of schooling and individuals with more than eight years. The cutoff scores for MMSE cognitive deficit were 13 for illiterates, 18 for individuals with 1-8 years of schooling and 26 for individuals with more than 8 years. The cutoffs for VFT were 9 and 13 for below and above eight years of schooling, respectively. For CDT, the cutoff point was 7 for all groups.

Data analysis

The descriptive analysis of the sample is presented as means and standard deviations (SD) for quantitative variables, and as relative frequencies (%) for qualitative variables. The APOE allele frequencies were estimated by a gene-counting method and genotype distributions were compared with those expected according to the Hardy-Weinberg hypothesis of genetic equilibrium, by means of a chi-square test for goodness of fit. The mean scores from the MMSE and VFT according to gender, age and education level were compared by means of the analysis of variance test (ANOVA). Associations between qualitative variables and comparisons between proportions were estimated using chi-square tests, corrected by the Yates factor as appropriate and using Fisher's exact test.

RESULTS

We evaluated 52 individuals (26 men and 26 women)

Table 1. Cognitive performances of elderly people on Fernando de Noronha according to gender, age and schooling level.

Cognitive test			Mean±SD	Q1	Median	Q3	Q4
MMSE			19.4±4.1	17	19	22	29
Gender	Male		19.5±5.0	16.5	19	23	29
	Female		19.5±3.0	17.2	19	21	26
Age group	60-74		19.8±3.9	17	19	22	29
	75-95		17.1±4.1	16.5	18.5	19.25	21
Schooling	Illiterate		15.5±3.0	15	16	17	21
	1-8		19.4±3.4	18	19	21.2	26
	>8		23.7±3.5	21.2	24.5	26	29
APOE	ε4		17.28±4.1				
	Non-ε4		18.90±3.9				
FVT			12.04±3.30	9	12	14.5	19
Gender	Male		12.81±3.21	10.25	13	15	18
	Female		11.36±3.29	9	12	13	19
Age group	60-74		12.42±3.33	10	13	15	19
	75-95		9.86±2.19	8.5	9	11.5	13
Schooling	Illiterate		9.0±0.75	8.75	9	9.25	10
	1-8		12.06±3.26	10.5	12	14	18
	>8		15.0±2.20	12.75	15	15.5	19
APOE	ε4		17.28±4.1				
	Non-ε4		18.9±3.9				

between 60 and 95 years old, with a mean age of 69.6 years (SD 7.0). They were subdivided into two age groups: 60 to 74 years (78.5%) and over 74 years (21.5%). According to schooling level, this sample was stratified as illiterate (17.3%), 1-8 years of formal education (67.3%) and over eight years of formal education (15.4%). No statistical difference in age and education level was observed between the genders. The older group of elderly people was totally (99%) functionally illiterate (i.e. not more than 0 to 3 years of schooling), whereas only 61% of the younger group were functionally illiterate ($p=0.030$).

The APOE genotype frequencies in our sample were: ε3/3 - 71.7%; ε4/4 - 6.10%; ε2/2 - 0%; ε3/4 - 4.1%; ε2/4 - 4.1%; and ε2/3 - 14.3%. The allele frequencies were ε2 - 0.09; ε3 - 0.81; and ε4 - 0.10. The proportion of carriers of ε4 allele (homozygous and heterozygous) was 14.3% and the frequencies were as expected according to Hardy-Weinberg genetic equilibrium ($p=0.25$). The APOE genotype distributions were homogeneous in both genders.

Three male individuals presented clinical dementia (5.7%). One of these cases was diagnosed as probable AD (aged 77; schooling <4 years; genotype ε2/3) and the other two as possible AD (one aged 82; schooling 4-8 years; genotype ε2/3; and the other aged 77; schooling <4 years; genotype ε3/3). None of these elderly men with dementia had the ε4 allele, since they had the ε3/3 and ε2/3 genotypes.

Table 1 shows the mean scores and quartile values from

Table 2. Proportions of whole sample and APOE-ε4 carriers who were positive for cognitive deficit, among dementia-free subjects from Fernando de Noronha, Pernambuco, according to cognitive test.

	Positive for cognitive deficit			
	Whole sample		APOE-ε4 carriers	
	n	%	n	%
MMSE	21	42.8	5	23.8
FVT	15	31.9	2	13.3
CDT	25	53.2	6	24.0

the MMSE and VFT cognitive tests, according to gender, age and schooling. For MMSE, the mean was 19.4 (SD 4.1) and the quartiles were 17, 19, 22 and 29; and for VFT, the mean was 12.04 (SD 3.30) and the quartiles were 9, 12, 14.5 and 19. Neither test indicated any statistical differences regarding gender or age, after adjustment for schooling and ε4 presence. However, when stratified for educational level, the subjects differed such that performance increased with increasing number of years of schooling ($p=0.0002$).

The sample was also stratified to analyze cognitive deficits, into groups with and without deficit. These data are in Table 2 and indicate that 42.8%, 31.9% and 53.2% of the whole dementia-free sample of elderly people presented cognitive deficit, as revealed by the MMSE, VFT and CDT cognitive tests, respectively. The frequencies of

individuals positive for cognitive deficit who were ε4 carriers were 23.8%, 13.3% and 24.0% from the MMSE, VFT and CDT tests, respectively.

DISCUSSION

The prevalence of cognitive deficit on the island of Fernando de Noronha (5.7%) was lower than what was observed by Herrera et al. (2002)²² in Catanduva, State of São Paulo (7.1%), among which 55.1% was AD; 14.4% was AD with vascular cerebral disease and 9.3% was vascular dementia. They observed that the prevalence increased with age and female gender and had an inverse association with education level.

Among the few researchers taking a community focus have been Corrêa and Veras. Corrêa²³ reported prevalence of dementia of 21.4%. On the other hand, Veras²⁴ detected mean prevalence of cognitive impairment of 15.04%, with a range from 5.95% to 29.75%, probably as a function of education and socioeconomic levels in stratified subsamples.

Few studies have compared normal elderly Brazilians with those presenting pathological conditions of cognitive nature. Different criteria have been used in order to obtain data that can standardize the rules for applying and evaluating cognitive tests adjusted for large and culturally diverse populations. Thus, data have been expressed as means, medians or quartiles and different cutoff points have been suggested for separating normal and anomalous performances in the tests, as a function of schooling and age.

There are significant differences in cognition between elderly individuals. Their cognition is characterized by declines in higher functions, affecting mainly the capacity to learn declarative content and executive functions²⁵. Many studies have shown an inverse relation between cognitive performance in answering cognitive tests and the subjects' ages and schooling levels, among Brazilian populations²⁶⁻²⁸. Our results confirm that cognitive performance correlates with education level, but not with age after adjustment for schooling level.

Comparing our mean scores from the cognitive tests with others in the literature, the cognitive performance from the MMSE in our data was lower than in other studies^{29,30}, both for the whole sample and according to age and education level. The differences between our study and others cannot be attributed to greater proportions of illiterates and few years of schooling in our sample. From the VFT, the mean score obtained was not the same as in other studies^{31,32}, but the results seem compatible with the mean number of years of schooling.

The differences between data from different studies may reflect the heterogeneity of elementary-level teach-

ing in different regions of Brazil. They may constitute a warning that the appropriateness of the test application parameters needs to be reviewed in order to determine what the normal variations are and to facilitate the diagnosis of cognitive impairment.

Although correction factors need to be used in cognitive tests because of motor-sensory dysfunctions and age, differentiation of the cutoff points for education levels may lead to profiles for cognitive impairment cases that express our reality better than do standard cutoff points³³. Taking the criteria of scores of 13, 18 and 23 as the cutoff points for MMSE, 9 and 13 for VFT^{34,35} and 7 for CDT made it possible to create subgroups of elderly individuals and to consider that subjects with values below these cutoffs might present cognitive deficit. In this way, we obtained cognitive deficits of 42.8% to MMSE, 31.9% to VFT and 53.2% to CDT.

Individuals presenting marked cognitive deficits provide a large field of study for evaluating and investigating genetic variants that influence cognitive function, since there is the possibility that neuropsychological impairment can partially be attributed to genotype manifestations. Modern large-scale techniques can now be applied to vast populations of genes, and such techniques may explain the contributions of genetic factors towards the development of illnesses. This provides the basis for understanding their pathogenesis and makes it possible to design new and more efficient approaches for early diagnosis and treatment.

One of the loci that has been studied most is the APOE locus, which has three alleles (ε2, ε3 and ε4). The influence of the apoε4 allele on the acceleration of cognitive deficit and development of AD seems to vary with ethnicity, age and gender. The frequency of the apoε4 allele among our elderly sample from Fernando de Noronha was 10%. This was lower than values obtained among individuals without dementia of Caucasian (11.5%) and African descent (22.5%) in the State of Rio Grande do Sul³⁶ and Caucasians (12%) in São Paulo, but was greater than in another study in São Paulo (8.9%)³⁷. All of these were case-control studies and they showed an association between ε4 and AD in Brazilian populations. We did not make inferences regarding dementia because of our small sample, but a brief analysis among the non-demented elderly individuals showed us that the frequency of cognitive deficit among carriers in relation to other genotypes was not statistically significant.

It is important to put the island of Fernando de Noronha into its particular historical context. Its small and special population results from a historical process that started with its status as the first Hereditary Administra-

tive Division (Capitania) of Brazil, in the sixteenth century, with subsequent invasions by many European peoples, until its definitive occupation by Portugal. The first permanent settlement was founded around 1770, but the island became uninhabited and completely abandoned again several times. It was a Federal Territory during World War II; it has been a prison for political and ordinary prisoners; and today it is a district within the State of Pernambuco. Thus, the allele frequencies in this elderly people may represent more a sample coming from different parts of Brazil, especially the Northeast of Brazil, than a generation coming from a local past generation.

In conclusion, this study showed a significant relationship between cognitive performance and schooling among this elderly sample on the island of Fernando de Noronha, but not in relation to age and gender. The MMSE, VFT and CDT cognitive tests revealed different proportions of cognitive deficit, but only CDT presented a significant difference according to education among this sample. We did not find any association between the ε4 allele and cognitive deficit.

REFERENCES

- Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol* 1999;56:303-308.
- Huang W, Qui C, Von Struss E, Winblad B, Fratiglioni L. APOE genotype, family history of dementia and Alzheimer disease risk. *Arch Neurol* 2004;61:1930-1934.
- Utermann G, Langenbeck U, Beisiegel U, Weber W. Genetics of the apolipoprotein E system in man. *Am J Hum Genet* 1980;32:339-347.
- Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 1993;261:921-923.
- Greenwood PM, Lambert C, Sunderland T, Parasuraman R. Effects of apolipoprotein E genotype on spatial attention, working memory, and their interaction in healthy, middle-aged adults: results from the National Institute of Mental Health's BIOCARD study. *Neuropsychology* 2005;19:199-211.
- Yip AG, Brayne C, Easton D, Rubinsztein DC. Apolipoprotein E4 is only a weak predictor of dementia and cognitive decline in the general population. *J Genet* 2002;39:639-643.
- Jack CR, Petersen RC, Xu Y-C, et al. Hippocampal atrophy and apolipoprotein E4 genotype are independently associated with Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1998;43:303-310.
- Lehtovirta M, Laakso MP, Frisoni GB, Soininen H. How does the apolipoprotein E genotype modulate the brain in aging and in Alzheimer's disease? A review of neuroimaging studies. *Neurobiol Aging* 2000;21:293-300.
- Parasuraman R, Greenwood PM, Sunderland T. The apolipoprotein E gene, attention, and brain function. *Neuropsychology* 2002;16:254-274.
- Meyer MR, Tschanz JT, Norton MC, et al. APOE genotype predicts when - not whether - one is predisposed to develop Alzheimer disease. *Nature Genet* 1998;19:321-322.
- Henderson AS, Easton S, Jorm AF, et al. Apolipoprotein E allele 4, dementia, and cognitive decline in a population sample. *Lancet* 1995;346:1387-1390.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16:1215.
- Hixson JE, Vernier DT. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res* 1990;31:545-548.
- Morris J. The clinical dementia rating (CDR): current version and scoring rules. *Neurology* 1993;43:2412-2414.
- McKhann G, Drachman D, Folstein M, et al. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 1984;34:939-944.
- 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;12:189-198.
- Butters N, Granholm E, Salmon DP, et al. Episodic and semantic memory: a comparison of amnesic and demented patients. *J Clin Exp Neuropsychol* 9: 479-497.
- Wolf-Klein GP, Silverstone FA, Levy AP, et al. Screening for Alzheimer's disease by clock drawing. *J Am Geriatr Soc* 1989;37:730-734.
- Hachinski VC, Iliff LD, Zilhka E, et al. Cerebral blood flow in dementia. *Arch Neurol* 1975;32:632-637.
- Yesavage JA. Geriatric depression scale. *Psychopharmacol Bull* 1988;24:709-711.
- McKeith IG, Galasko D, Kosaka K, et al. Consensus guidelines for the clinical and pathological diagnosis of dementia with Lewy bodies (DLB): report of the Consortium on DLB International Workshop. *Neurology* 1996;47:1113-1124.
- Herrera HJ, Caramelli P, Silveira ASB, et al. R. Epidemiologic survey of dementia in a community-dwelling Brazilian population. *Alzheimer Dis Assoc Dis* 2002;16:103-108.
- Corrêa ACO. Epidemiologia psicogeriatrica e uso de psicofarmacos no Brasil. *J Bras Psiq* 1997;46:191-200.
- Veras RP. Saúde Mental dos Idosos no Rio de Janeiro. In Almeida OP, Nitrini R (Eds). *Demência*. São Paulo: Fundo Editorial Byk, 1995:30-39.
- Hedden T, Gabrielly JDE. Insights into the aging mind: a view from cognitive neuroscience. *Nature Reviews Neuroscience* 2004;5:87-97.
- Brucki SMD, Rocha MSG. Category fluency test: effects of age, gender and education on total scores, clustering and switching in Brazilian Portuguese speaking subjects. *Br J Med Biol Res* 2004;37:1771-1777.
- Xavier FMF, Argimon ILL, Zuppo L, et al. O desempenho em testes neuropsicológicos de octagenários não-dementes e com baixa escolaridade em duas comunidades do Sul do Brasil. *PSICO Ψ* 2006;37:221-231.
- Brucki SMD, Nitrini R, Caramelli P, et al. Sugestões para o uso do mini-exame do estado mental no Brasil. *Arq Neuropsiquiatr* 2003;61:777-781.
- Laks J, Baptista EM, Contino AL, Paula EO, Engelhardt E. Mini-mental state examination norms in a community-dwelling sample of elderly with low schooling in Brazil. *Cad Saude Públ* 2007;23:315-319.
- Argimon ILL, Stein LM. Habilidades cognitivas em indivíduos muito idosos: um estudo longitudinal. *Caderno Saúde Públ* 2005;21:64-72.
- Bertolucci PHE, Okamoto IH, Brucki SMD, et al. Applicability of the CERAD neuropsychological battery to Brazilian elderly. *Arq Neuropsiquiatr* 2001;59:532-536.
- Engelhardt E, Lacks J, Rozenthal M, et al. Idosos institucionalizados: rastreamento cognitivo. *Rev Psiq Clin* 1998;125:74-79.
- Bertolucci PHE, Brucki SMD, Campacci SR, Juliano Y. O mini-exame do estado mental: impacto da escolaridade. *Arq Neuropsiquiatr* 1994;52:1-7.
- Brucki SMD. Mini-exame do estado mental: influência da escolaridade sobre o escore total e subitens. *Rev Neurociências* 1996;4:15-20.
- De-Andrade FM, Larrandaburu M, Callegari-Jacques SM, et al. Alzheimer's disease in a Southern Brazilian population. *Braz J Med Biol Res* 2000;33:529-537.
- Souza DRS, Godoy MR, Hotta J, et al. Association of apolipoprotein E polymorphism in late-onset Alzheimer's disease and vascular dementia in Brazilians. *Braz J Med Biol Res* 2003;36:919-923.
- Almeida OP, Shimokomaki CM. Apolipoprotein E4 and Alzheimer's disease in São Paulo - Brazil. *Arq Neuropsiquiatr* 1997;55:1-7.

7.2 ARTIGO ORIGINAL

TÍTULO:

APOE ε4, Cyp46 polymorphisms and cognitive deficit in elderly population from Fernando de Noronha- Brazil

AUTORES:

Anália Nussa Medeiros Garcia, Helker Albuquerque da Silva, Hugo Rafael Souza Silva, Elizabete Malaquias Freitas, Luiz Ataíde Júnior, Maria Tereza Cartaxo Muniz

PERIÓDICO:

O artigo será submetido ao Journal of Molecular Neuroscience

APOE ε4, Cyp46 polymorphisms and cognitive deficit in elderly population from Fernando de Noronha- Brazil

Anália Nussy Medeiros Garcia^{1,2,3}, Helker Albuquerque da Silva³, Hugo Rafael Souza Silva⁴, Elizabete Malaquias Freitas³, Luis Ataíde Júnior¹, Maria Tereza Cartaxo Muniz³

¹Universidade Federal de Pernambuco – UFPE; ²Hospital Universitário Oswaldo Cruz – HUOC; ³Instituto de Ciências Biológicas – ICB/UPE; ⁴Faculdade de Ciências Médicas – FCM/UPE

Abstract – Mild Cognitive Impairment (MCI) is considered the transition zone between the normal aging and the most initial phase of dementia, being an important phase to precocity diagnostic. In the last years, researches are being developed to find genetic markers for this pre-dementia zone, like the Apolipoprotein E (*APOE*) gene and cholesterol 24S-hydroxylase (*Cyp46*) gene. The aim of this study was to investigate the association between *Cyp46*, *APOE* and the presence of MCI. The 52 elderly participants were recruited from Fernando de Noronha District/Brazil. The clinical assessment was made by neuropsychiatric tests and the genotype by PCR-RFLP method. The T (p=0.628) and C (p=0.2076) alleles of *Cyp46* gene are not associated with MCI. When analyzed the synergism between polymorphism of *Cyp46* and *APOE ε4* in development of MCI, was not observed association (p=0.4286). In this population, both *Cyp46* and *APOE* genes are not associated with MCI.

Key-words: *APOE*, *Cyp46*, Elderly, MCI

Introduction

Changes in the shape of the world's population pyramid over the past century have demonstrated increases in the numbers of elderly people. Neurodegenerative illnesses most commonly appear at such ages in special the Alzheimer's disease (AD) (Petersen, 1999).

In the recent years the research on predementia stage of Alzheimer's disease has been focusing on the concept of MCI (Herukka et al., 2007). Mild Cognitive Impairment (MCI) is a clinical diagnostic entity that may represent this early stage. It refers to individuals cognitive deficits, but who do not fulfil a diagnosis of dementia (Petersen, et al., 2001). A substantial proportion of MCI patients will progress to dementia, mostly AD, during follow-up (Visser et al., 2006).

Genetic, metabolic and environmental factors play a role in Alzheimer's disease. The *APOE* $\epsilon 4$ allele is the strongest genetic risk factor for sporadic forms of AD. However, the *APOE* gene explains only a fraction of the genetic risk associated with AD, and it is possible that other genes or metabolic factors may modify the *APOE* $\epsilon 4$ effect to initiate the pathogenesis of AD (Shield et al., 2004).

Several studies have shown evidences that cholesterol metabolism plays to an important role in the pathogenesis of AD. High serum cholesterol concentration increases the risk of AD (Kivipelto et al., 2001; Vega and Weiner, 2007).

The turnover of cholesterol in the brain occurs via conversion of excess cholesterol into 24S-hydroxycholesterol, which is secreted from the central nervous system into the plasma across the blood-brain barrier (Tedde et al., 2006).

Serum 24S- hydroxycholesterol/cholesterol ratios had decreased and were lower during the progress of AD. The key event leading to AD appears to be the formation and aggregation in the brain of amyloid beta ($A\beta$) peptide, a proteolytically derived product of amyloid precursor protein (APP). Cholesterol has been demonstrated to modulate processing of APP to A β . High levels of cholesterol are associated with increased risk of AD. High levels of neurotoxic 24S-hydroxycholesterol, especially during early stages of AD, might have lead to advanced neurodegeneration and thus 24S-hydroxycholesterol is suggested to be an additional risk factor (Kölsch et al., 2002; Reiss, 2005).

Cholesterol leaves the brain by two different mechanisms: one is ApoE-dependent, $\epsilon 4$ allele being less effective in this process, while the second involves a gene cholesterol 24S-hydroxylase (*Cyp46*) (Raffai et al., 2003). *Cyp46* is an enzyme almost exclusively located in the brain and catalyses the conversion of excess

cholesterol into 24S-hydroxycholesterol, which is readily secreted across the blood–brain barrier into the circulation (Lund et al., 1999).

Interestingly, polymorphisms in the *Cyp46* gene (which encodes cholesterol 24S-hydroxylase) influence both A β peptide load in the brain and the genetic risk for late-onset sporadic AD (Kolsch et al., 2003; Wolozin, 2003). It has been suggested that increases in the membrane distribution of cholesterol (in contrast to total cholesterol content) may provide an enriched environment for A β production and release in the brain (Gibson et al., 2003; Kolsch et al., 2003).

The single nucleotide polymorphism (T/C) in intron 2 (rs754203) of *Cyp46* gene has been found to confer the risk for AD. The water soluble 24(S)-hydroxysterol is the product of the *Cyp46*, and elevated plasma and cerebrospinal fluid hydroxysterol concentrations have been found in AD, reflecting increased brain cholesterol turnover or cellular degradation, due to the neurodegenerative process (Juhász et al., 2005).

Genetic association of *Cyp46* polymorphisms with AD had been under extensive investigations; however, observations on intron 2 T→C generated inconclusive results (Papassotiropoulos et al., 2003; Juhasz et al., 2005; Helisalmi et al., 2006; Li et al., 2006) and faster cognitive deterioration (Fu, et al., 2009)

APOE $\epsilon 4$ and *Cyp46* polymorphisms have both been described as predictors of MCI in elderly people. In the current study, we aimed to identify *APOE* $\epsilon 4$ and *Cyp46* polymorphisms and the association with cognitive deficit among the elderly population from Fernando de Noronha District (Pernambuco/Brazil).

Methods

Subjects

We evaluated 52 elderly individuals (26 male, 26 female), with mean age 69.6 ± 7.0 , representing 59% of this population segment on the Fernando de Noronha

1 archipelago. This archipelago is a Maritime National Park located in the Atlantic Ocean,
2 around 220 miles east of the Brazilian coast. It has just over 2,800 inhabitants, who are
3 descendents of prisoners, military personnel or people who have come in to develop
4 services. The elderly people in our sample had lived there for at least thirty years and
5 there are not studies about this population.
6
7
8
9
10

11 The elderly were selected by opportunity, excluded elderly living home care.
12 The study was performed in accordance with both the international ethical
13 recommendations regarding research and human clinical trials as set out in the Helsinki
14 Declaration (1964) and the guidelines for good clinical research practice as dictated by
15 the World Health Organization (1995). The procedure of the research project was
16 explained to the subjects participating in the study and informed consent was obtained
17 from each subject and this work was accepted by ethical committee from UPE.
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28

29 **Clinical assessment**

30 The elderly people were examined using the National Institute of Neurological
31 and Communicative Disorders and Stroke and Alzheimer's Disease and Related
32 Disorders Association (NINCDS-ADRDA) criteria (McKhann et al., 1984) and using
33 the Clinical Dementia Rating (CDR) (Morris, 1993). Cognitive assessment MCI was
34 supported by: Mini-Mental State Examination (MMSE) (Folstein et al., 1975), Verbal
35 Fluency Test (VFT) (Butters et al., (1987) and Clock Drawing Test (CDT) (Wolf-Klein,
36 et al., 1989). They were also tested using the Hachinski Ischaemia Score (Hachinski, et
37 al., 1975), Yesavage's Geriatric Depression Scale (Yesavage, 1988) and the Lewy Body
38 Dementia Test (McKeith, et al., 1996).
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52

53 The sample was stratified into three groups: illiterates, individuals with one to
54 eight years of schooling and individuals with more than eight years. The cut off scores
55 for MMSE cognitive deficit were 13 for illiterates, 18 for individuals with 1-8 years of
56
57
58
59
60
61
62
63
64
--

1 schooling and 26 for individuals with more than 8 years. The cut offs for VFT were 9
2 and 13 for below and above eight years of schooling, respectively. For CDT, the cut off
3 point was 7 for all groups.
4
5

6 The elderly were considered to have a deficit when presented a deficit in at least
7 two cognitive tests among the tests: MMSE, VFT and CDT.
8
9

10 11 12 **Genetic study**

13 To genomic DNA extracting we used 51 samples, by salting-out method (Miller
14 et al., 1988) from peripheral blood, anticoagulated with ethylenediaminetetracetic acid
15 (EDTA). The *APOE* genotyping was adapted from Hixon and Vernier (1990) method,
16 and was published in Garcia, et al., (2008).
17
18
19
20
21
22

23 The *Cyp46* genotyping was done by PCR-RFLP according with Borrone et al.
24 (2004) method. The forward primer sequence was 5' - TGAAAACGAGTTTCCCGTCC
25 - 3' and the reverse primer was 5' - GTGTGACCAGGTAACAGTCA - 3'. The
26 polymorphisms was investigated using enzymatic cleavage by *MspI*. *Cyp46* T allele
27 corresponded to the uncut 285 bp fragment, while *Cyp46* C allele was characterized by
28 two fragments of 209 and 76 bp.
29
30
31
32
33
34
35
36
37

38 In both genotyping, the results of amplification and the digestion fragments were
39 revealed by 2 and 3% agarose gels with ethidium bromide, respectively.
40
41
42

43 44 **Statistical analysis**

45 The descriptive analyses of the samples are presented as absolute and relative
46 frequencies. The *Cyp46* alleles frequencies were estimated by a gene-counting method
47 and genotype distributions were compared with those expected distribution according to
48 the Hardy-Weinberg hypothesis of genetic equilibrium, by means of chi-square test for
49 goodness of fit. Associations between qualitative variables and comparisons between
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64

proportions were estimated using chi-square tests, corrected by the Yates factor as appropriate, Fisher's exact test and G Williams test.

Results

The allelic and genotypic frequencies are summarized on Table 1. The *APOE* and *Cyp46* genotypic distributions showed off according to expected by Hardy-Weinberg equilibrium. Analyses between *APOE* gene and MCI, was done and published by our group in a previous study, which was showed a general prevalence of 28.41% of cognitive deficit, and the frequencies to MMSE, VFT and CDT were respectively 42.8%, 31.9% and 53.2% without association between *APOE* and MCI (Garcia, et al., 2008).

We analyzed the alleles individually, whereas both could be considered risk factors. The analyze of association between T allele or C allele of *Cyp46* gene and the presence of cognitive deficit not shown statistical significance for T allele ($\chi^2=0.649$ / $p_{Yates}=0.628$) and C allele (Fisher $p=0.2076$) (Table 2).

We analyzed if there was a synergy between the presence of the $\epsilon 4$ allele and the alleles of the *Cyp46* gene and an increased incidence of MCI. When analyzed the simultaneous presence of $\epsilon 4$ allele, C allele and the presence of cognitive deficit, was not observed association (Fisher $p=0.4286$), and when analyzed the simultaneous presence of $\epsilon 4$ allele and T allele, nor was an association (Fisher $p=0.4286$) (Table 2).

Means and standard deviation were performed for analysis of cognitive performance for MMES, VFT and CDT and the association of alleles of the *Cyp46* gene was not found.

Discussion

One of the most important challenges of investigation in MCI is to identify genes that could be used to predict which subjects will progress to dementia. In addition, genetic studies of MCI considering their evolution could furthermore explain the diagnostic heterogeneity of this entity (Barabash et al., 2009).

The prevalence of cognitive deficit on Fernando de Noronha District (5.7%) was lower than what was observed by Herrera et al. (2002) in Catanduva, State of São Paulo (7.1%), among which 55.1% was AD; 14.4% was AD with vascular cerebral disease and 9.3% was vascular dementia. They observed that the prevalence increased with age and female gender and had an inverse association with education level. As has already been noted by some authors, the heterogeneity of MCI has inferred one of the difficulties in the genetic investigation (van Duijn, 2004; Winblad et al., 2004).

Probably each one of the diseases that underlie the diagnosis of MCI may have in part a genetic origin, thus it may be different genes for different etiology of MCI. On the other hand, most of these pathologies are common diseases with complex genetic inheritance that are a result of the interaction of multiple genes and the environment. These diseases are characterized for presenting genotypes with incomplete penetrance and a low magnitude associated risk (Yang et al., 2003).

Although *APOE* $\epsilon 4$ allele is a well-established risk factor for dementia, the impact of *APOE* $\epsilon 4$ on the development of MCI is unclear. Population-based longitudinal study shows that elderly individuals with incipient MCI are not more likely to be *APOE* $\epsilon 4$ carriers than individuals who remain cognitively healthy (Heun et al., 2010).

1 The results about analyses of $\epsilon 4$ allele of *APOE* gene and the association with
2 MCI not presented statistical significance in this population (Garcia et. al., 2008).
3

4 In the literature, the results are controversial in determining which allele of the
5 *Cyp46* gene is associated with cognitive deficits. From this view, we described in a
6 review that several studies showed any association or not of the *Cyp46* polymorphism
7 with AD (Garcia et al., 2009). The present study has not shown association between
8 MCI, *APOE* $\epsilon 4$ and *Cyp46* polymorphisms. Chalmers et al. (2004) studied the
9 relationship of these polymorphisms and the presence of AD in 86 neuropathologically
10 confirmed cases of AD and 58 controls, which was reported that polymorphisms within
11 *APOE* and *Cyp46* genes were not risk factors for AD.
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23

24 Juhasz et al (2005) in a case-control study performed on 125 AD and 102 age-
25 and gender-matched control subjects (CNT) from Hungary, to test the association of
26 *Cyp46* T/C and *APOE* polymorphisms in AD. The results indicated that the intron 2 T/C
27 polymorphism of *Cyp46* gene (neither alone, nor together with the $\epsilon 4$ allele) does not
28 increase the susceptibility to late-onset sporadic AD (LOAD) in the Hungarian
29 population.
30
31
32
33
34
35
36
37

38 In contrast, studies showed possible involvement of *Cyp46* gene and *APOE* gene
39 polymorphisms with the risk for LOAD.
40
41
42

43 Wang et al., (2004) analyzed 99 sporadic LOAD patients and 113 healthy
44 controls from China. They found an association between *Cyp46* TT genotype and
45 LOAD (OR=2.98, 95% CI 1.64-5.44, $P<0.001$). This data reveal that the polymorphism
46 of *Cyp46* intron 2 is implicated in the susceptibility to LOAD and a strong synergistic
47 interaction between *Cyp46* TT homozygots and *APOE* $\epsilon 4$ carriers status on LOAD
48 risk.
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64

1 Kabbara et al. (2004) tested in French population, the potential association of the
2 *Cyp46*, *APOM* and *APOF* genes with the risk of developing AD. *APOF* and *APOM*
3 encode apolipoproteins belonging to the large lipocalin family, which also includes
4 ApoE. No association between *Cyp46* gene and AD was observed in this study.
5
6

7
8
9
10 Golanska et al (2009), studied eight polymorphisms within *APOE*, *PRNP*,
11 *PRND*, and *Cyp46* genes in 213 Polish late-onset patients with Alzheimer's disease
12 (AD) and 171 non-demented elderly controls. The results showed a gradient of onset
13 age depending on membership in the risk sets was also observed. Logistic regression
14 analysis showed that the highest risk for AD was found for individuals who co-inherited
15 *APOE* $\epsilon 4$ allele, *PRNP* codon 129 homozygosity, *PRND* codon 174 Thr allele, and
16 *Cyp46* rs754203 G allele.
17
18

19
20 We analyses if was any synergy between $\epsilon 4$ and *Cyp46* with the presence of
21 MCI, and it was not observed statistical significance to this association to C with $\epsilon 4$
22 alleles (Fisher $p=0.4286$) and T with $\epsilon 4$ alleles (Fisher $p=0.4286$). In studies of other
23 groups, was not showed synergy between the $\epsilon 4$ allele and *Cyp46* gene and the AD (del
24 Pozo et al., 2005; Li et al., 2006; Tedde et al., 2006).
25
26

27
28 Others studies showed a synergism between *Cyp46* C allele (Borroni et al.,
29 2004) and TT genotyping (Papassotiropoulos *et al.*, 2003; Wang) with $\epsilon 4$ allele and the
30 prevalence of DA.
31
32

33
34 There are not studies to test the association between *APOE* and *Cyp46* and
35 cognitive deficit in Brazilian population. It was the first study about this theme in our
36 population.
37
38

39
40 Future researches need to consider both genetic and epigenetic factors and their
41 interaction in order to describe the effects on the development and course of
42
43
44

Alzheimer's disease. Large prospective longitudinal studies are needed for gene identification in the general population.

Acknowledgements

Sant'Ana, T.A., Universidade de Pernambuco

This study was supported by the Administration from Fernando de Noronha District, PE and Universidade de Pernambuco (University of Pernambuco)

Reference

- Almeida, O.P., Shimokomaki, C.M. (1997). Apolipoprotein E4 and Alzheimer's disease in São Paulo - Brazil. *Arq Neuropsiquiatr*, 55, 1-7.
- Barabash, A., Marcos, A., Ancín, I. et al. (2009). APOE, ACT and CHRNA7 genes in the conversion from amnesic mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 30, 1254-1264.
- Borroni, B., Archetti, S., Agosti, C., et al. (2004). Intronic CYP46 polymorphism along with ApoE genotype in sporadic Alzheimer disease modulators. *Neurobiol Aging*, 25, 747-751.
- Butters, N., Granholm, E., Salmon, D.P., et al. (1987). Episodic and semantic memory: a comparison of amnesic and demented patients. *J Clin Exp Neuropsychol*, 9, 479-497.
- Chalmers, K.A., Culpan, D., Kehoe, P.G., Wilcock, G.K., Hughes, A., Love, S. (2004). APOE promoter, ACE1 and CYP46 polymorphisms and [beta]-amyloid in Alzheimer's disease. *Molecular Neuroscience*, 15, 95-98.
- Corder, E.H., Saunders, A.M., Strittmatter, W.J., et al. (1993). Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*, 261, 921-923.
- Del Pozo, V.F., Álvarez, M.A., Martínez, M.F., et al. (2006). Polimorphism in the cholesterol 24S-hydroxylase gene (CYP46A1) associated with the APOEε 3 allele increases the risk of Alzheimer's disease and of Mild Cognitive Impairment progressing to Alzheimer's Disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 21, 81-87.
- Fu, B. Y., Ma, S. L., Tang, N. L., et. al. (2009). Cholesterol 24-hydroxylase (CYP46A1) polymorphisms are associated with faster cognitive deterioration in Chinese older persons: a two-year follow up study. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 24, 921-926.

- 1 Garcia, A.N.M., Muniz, M.T.C., Silva, H.R.S., Silva, H.A., Athayde-Junior, L. (2009).
2 *Cyp46* Polymorphisms in Alzheimer's Disease: A Review. *Journal of Molecular*
3 *Neuroscience*, 39, 342-345.
- 4 Garcia, A.N.M., Silva, H.A., Silva, R.C., et al. (2008). APOE-ε4 polymorphism and
5 cognitive deficit among the elderly population of Fernando de Noronha. *Arq. Neuro-*
6 *Psiquiatr*, 66, 298-302.
- 7 Gibson Wood, W., Eckert, G.P., Igbavboa, U., Muller, W.E. (2003). Amyloidbeta-
8 proteininteractions with membranes and cholesterol: Causes or casualties of
9 Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*, 1610, 281-290.
- 10 Golanska, E., Hulas-Bigoszewska, K., Sieruta, M., et al. (2009). Earlier Onset of
11 Alzheimer's Disease: Risk Polymorphisms Within PRNP, PRND, CYP46, and APOE
12 Genes. *Journal of Alzheimer's Disease*, 17, 359-368.
- 13 Helisalmi, S., Vepsäläinen, S., Koivisto, A.M., et al. (2006). Association of CYP46
14 intron 2 polymorphism in Finnish Alzheimer's disease samples and a global scale
15 summary. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 77, 421-422.
- 16 Herrera, H.J., Caramelli, P., Silveira, A.S.B.R., et al. (2002). Epidemiologic survey of
17 dementia in a community- dwelling Brazilian population. *Alzheimer Dis Assoc Dis*, 16,
18 103-108.
- 19 Herukka, S.K., Helisalmi, S., Hallikainen, M., Tervo, S., Soininen, H., Pirttilä, T.
20 (2007). CSF Abeta42, Tau and phosphorylated Tau, APOE epsilon4 allele and MCI
21 type in progressive MCI. *Neurobiol Aging*, 28(4), 507-14.
- 22 Heun, R., Gühne, U., Luck, T., et al., (2010). Apolipoprotein E allele 4 is not a
23 sufficient or a necessary predictor of the development of Mild Cognitive Impairment.
24 *Eur Psychiatry*, 25, 15-18.
- 25 Hixson, J.E., Vernier, D.T. (1990). Restriction isotyping of human apolipoprotein E by
26 gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res*, 31, 545-548.
- 27 Huang, W., Qui, C., Von Struss, E., Winblad, B., Fratiglioni, L. (2004). APOE geno-
28 type, family history of dementia and Alzheimer disease risk. *Arch Neurol*, 61, 1930-
29 1934.
- 30 Juhász, A., Rimanóczy, A., Boda, K., et al. (2005). CYP46 T/C polymorphism is not
31 associated with Alzheimer's dementia in a population from Hungary. *Neurochem Res*,
32 30(8), 943-8.
- 33 Kabbara, A., Payet, N., Cottel, D., Frigard, B., Amouyel, P., Lambert, J.C. (2004).
34 Exclusion of *CYP46* and *APOM* as candidate genes for Alzheimer's disease in a French
35 population. *Neuroscience Letters*, 363, 139-143.
- 36 Kivipelto, M., Helkala, E.L., Laakso, M.P., et al. (2001). Midlife vascular risk factors
37 and Alzheimer's disease in later lifelation based study. *BMJ*, 322, 1447-1482.

- 1 Kölsch, H., Lütjohann, D., Ludwig, M., et al. (2002) Polymorphism in the cholesterol
2 24S- hydroxylase gene is associated with Alzheimer's disease. *Molecular Psychiatry*. 7,
3 899-902.
- 4 Kolsch, H., Lutjohann, D., von Bergmann, K., Heun, R. (2003). The role of 24S-
5 hydroxycholesterol in Alzheimer's disease. *J. Nutr. Health Aging*, 7, 37-41.
- 6
7
8 Li, Y., Chu, L.W., Chen, Y.Q., et al. (2006). Intron 2 (T/C) CYP46 polymorphism is
9 associated with Alzheimer's disease in Chinese patients. *Dement Geriatr Cogn Disord*,
10 22, 399-404.
- 11
12
13 Lund, E.G., Guileyardo, J.M., Russell, D.W. (1999). cDNA cloning of cholesterol 24-
14 hydroxylase, a mediator of cholesterol homeostasis in the brain. *Proc Natl Acad Sci*
15 *USA*, 13, 7238-7243.
- 16
17 Papassotiropoulos, A., Streffer, J. R., Tsolaki, M., et al. (2003). Increased brain b-
18 Amyloid load, phosphorylated tau, and risk for Alzheimer disease associated with an
19 intronic CYP46 polymorphism. *Archives of Neurology*, 60, 29-35.
- 20
21
22 Petersen, R.C., Doody, R., Kurz, A., et al. (2001). Current concepts In mild cognitive
23 impairment. *Arch. Neurol*, 58(12), 1985-1992.
- 24
25
26 Petersen, R.C., Smith, G.E., Waring, S.C., Ivnik, R.J., Tangalos, E.G., Kokmen, E.
27 (1999). Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol*,
28 56, 303-308.
- 29
30
31 Raffai, R.L., Weisgraber, K.H. (2003). Cholesterol: from heart attacks to Alzheimer's
32 disease. *Journal of Lipid Research*, 44, 1423-1430.
- 33
34
35 Reiss, A.B. (2005). Cholesterol and apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Am J*
36 *Alzheimers Dis Other Dement*, 20(2), 91-96.
- 37
38
39 Shield, A.J., Thomae, B.A., Eckloff, B.W., Wieben, E.D., Weinshilboum, R.M. (2004).
40 Human catechol O-methyltransferase genetic variation: gene resequencing and
41 functional characterization of variant allozymes. *Mol Psychiatry*, 9(2), 151-160.
- 42
43
44 Tedde, A., Rotondi, M., Cellini, E., et al. (2006). Lack association between the CYP46
45 gene polymorphism and Italian late-onset sporadic Alzheimer's disease. *Neurobiology*
46 *of Aging*, 27, 773.e1-773.e3.
- 47
48
49 Utermann, G., Langenbeck, U., Beisiegel, U., Weber, W. (1980). Genetics of the apo-
50 lipoprotein E system in man. *Am J Hum Genet*, 32, 339-347.
- 51
52
53 van Duijn, C.M. (2004). Prospects of genetic research of mild cognitive impairment. *J*
54 *Intern Med*, 256, 235-239.
- 55
56
57 Vega, G.L., Weiner, M.F. (2007). Plasma 24S hydroxycholesterol response to statins in
58 Alzheimer's disease patients: effects of gender, CYP46, and ApoE polymorphisms. *J*
59 *Mol Neurosci*, 33(1), 51-55.
- 60
61
62
63
64
65

1 Visser, P.J., Kester, A., Jolles, J., Verhey, F. (2006). Ten-year risk of dementia In
2 subjects with mild cognitive impairment. *Neurology*, 67,1201–1207.

3 Wang. B., Zhang, C., Zheng, W., et al. (2004). Association between a T/C
4 polymorphism in intron 2 of cholesterol 24S-hydroxylase gene and Alzheimer's disease
5 in Chinese. *Neuroscience Letters*, 369(2), 104-107.
6

7
8 Winblad, B., Palmer, K., Kivipelto, et al., (2004). Mildcognitiveimpairment—beyond
9 controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild
10 Cognitive Impairment. *J.Intern.Med*, 256(3), 240–246.
11

12 Wolozin, B. (2003). Cyp46 (24S-cholesterol hydroxylase): A genetic risk factor for
13 Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* 60:29–35.
14

15
16 Yang, Q., Khoury, M.J., Botto, L., Friedman, J.M., Flanders, W.D. (2003). Improving
17 the prediction of complex diseases by testing for multiple disease-susceptibilitygenes.
18 *Am.J.Hum.Genet*, 72(3), 636–649.
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64

Table

[Click here to download Table: Tables 1 and 2.docx](#)

Tables

Table 1: Distribution of allelic and genotypic frequencies of *APOE* and *Cyp46* genes of elderly from Fernando de Noronha

<i>APOE</i>		<i>Cyp46</i>	
Genotype	Frequence (%)	Genotype	Frequence (%)
ε 3/3	71.7	TT	55.32
ε 4/4	6.1	TC	38.29
ε 2/2	0.0	CC	6.39
ε 2/3	14.3		
ε 2/4	4.1		
ε 3/4	4.1		
Allele	Frequence (%)	Allele	Frequence (%)
ε 3	81	T	74.47
ε 4	10	C	25.53
ε 2	9		

Table 2: Association between *APOE* and *Cyp46* genes and cognitive deficit

<i>APOE</i>	With Deficit	Without Deficit	<i>p</i> value
With ε 4	(3) 21.4%	(4) 12.1%	0.4452 ^a
Without ε 4	(11) 78.6%	(29) 87.9%	
<i>Cyp46</i>			
With T	(13) 86.6%	(35) 97.2%	0.2107 ^b
Without T	(2) 13.4%	(1) 2.8%	
With C	(5) 33.3%	(18) 50%	0.4347 ^c
Without C	(10) 66.7%	(18) 50%	
<i>APOE + Cyp46</i>			
ε 4+C	(3) 100%	(2) 50%	0.4286 ^d
ε 4-C	(0) 0%	(2) 50%	
ε 4+T	(2) 66.6%	(4) 100%	0.4286 ^d
ε 4-T	(1) 33.4%	(0) 0%	

a- G de Williams Test (0,5827); b- G de Williams Test (1,5666); c- χ^2 Test; d- Fisher Test;

8 CONCLUSÕES

1-Na população idosa de Fernando de Noronha foi encontrado alto percentual de declínio cognitivo leve (87%).

2-O Teste do Relógio foi o que identificou maior percentual de declínio cognitivo.

3-Foi observada uma frequência de 10% do alelo *E4* do gene *APOE*.

4-Não foi encontrada significância estatística quando relacionada a presença do alelo *E4* e declínio cognitivo leve nos idosos avaliados.

5-Não foi observada associação dos alelos T e C do gene *CYP46* e declínio cognitivo leve.

6-Não foi observada associação quando analisado o sinergismo entre os polimorfismos dos genes *Cyp46* T/C e *APOE E4* com declínio cognitivo leve.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A população idosa é a que mais cresce hoje no Brasil. Esse fenômeno traz repercussões importantes, ocasionando uma intensificação do interesse pela promoção do envelhecimento saudável e da preocupação com a prestação de serviços aos idosos nas áreas médica, social, educacional e psicológica. Dentre as consequências do envelhecimento populacional, ocorre a modificação do perfil de saúde, tornando-se mais frequente as complicações associadas às doenças crônico-degenerativas como as demências.

No campo da saúde mental tem havido um aumento da procura por atendimento, mas ainda faltam profissionais qualificados e preparados para lidar com as particularidades do idoso, e os serviços especializados para atendimento de pacientes geriátricos são escassos. Há necessidade de se investir nos serviços hospitalares, na implantação de atendimento domiciliar com enfoque gerontológico e principalmente em projetos de prevenção e reabilitação na comunidade.

Tendo em vista os fatores de risco para a progressão de uma demência, devemos considerar que os profissionais de saúde devem monitorar de perto os indivíduos que se encontram com quadros demenciais e aqueles com declínio cognitivo leve. Infelizmente por motivos superiores, o presente estudo, não teve seu segmento longitudinal como previsto inicialmente, mas foi importante para o diagnóstico cognitivo de uma população, ainda sem dados na literatura.

Ressalta-se ainda que existem evidências suficientes indicando que intervenções planejadas levando-se em conta mudanças de hábitos de vida e atividades ocupacionais são benéficas na redução da aceleração do declínio cognitivo. No entanto, esses fatores de risco podem apresentar diferenças regionais e culturais, além de existirem poucos no Brasil. Dados dessa natureza podem ser úteis aos profissionais de saúde e aos planejadores de saúde pública no sentido de implementarem ações preventivas que visem o bem estar e a melhoria da qualidade de vida dos nossos idosos.

APÊNDICE 1

UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROJETO ALOIS- NÚCLEO NORONHA

Protocolo : _____

NOME _____

Idade _____ Sexo _____

Escolaridade _____ Renda _____

Habitos _____

Doenças Pre-existentes _____

Medicamentos em uso _____

Cirurgias anteriores _____

Doenças venereas _____

INSTRUMENTOS DE AVALIAÇÃO GERIÁTRICA:

MEEM:-----/30

AVD's (Kats): -----/6

Mini Escala de Depressão Geriátrica:----- /15

EXAME FÍSICO: Peso: Altura: IMC: PA

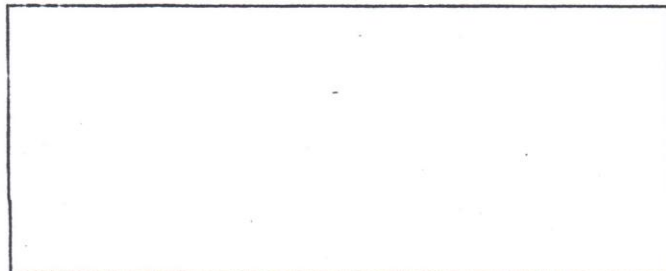
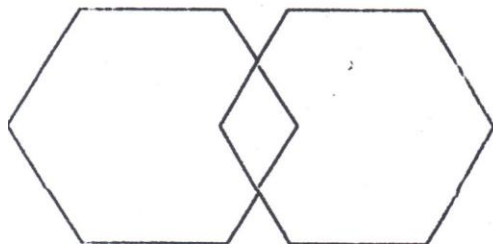
Dosagens:	Data	_____	_____	_____	_____
Colesterol total		_____	_____	_____	_____
HDL		_____	_____	_____	_____
LDL		_____	_____	_____	_____
VLDL		_____	_____	_____	_____
APOE alelo		_____	_____	_____	_____
CYP46		_____	_____	_____	_____

DATAS	_____	_____	_____	_____
MEEM	_____	_____	_____	_____
CDR	_____	_____	_____	_____
NINCS	_____	_____	_____	_____
T.Relógio	_____	_____	_____	_____
Fluência verbal	_____	_____	_____	_____

MINI – EXAME DO ESTADO MENTAL (MINIMENTAL)

Nome: _____ sexo: _____
 Data de nascimento: ____/____/____ Idade _____ Escolaridade(anos) _____
 Data e hora ____/____/____ - ____:____ Avaliador _____

	Escore Máximo	Escore do Paciente	Só devem ser preenchidos nos espaços abaixo as respostas do paciente
Orientação Temporal	5		Hora aproximada: _____
			Dia da semana: _____
			Data: _____
			Mês: _____
			Ano: _____
Orientação Espacial	5		Local Específico: _____
			Instituição: _____
			Bairro (ou rua próxima): _____
			Cidade: _____
			Estado: _____
Memória imediate	3		Gelo, leão , planta (1 PONTO PARA CADA RESPOSTA CERTA)
Atenção e Cálculo	5		100-7=93 - 7 =86 - 7=79 -7= 72 - 7 =65 () () () () ()
Memória de evocação	3		Quais aquelas três palavras ditas? (1 ponto para cada resposta certa)
Linguagem	8		Nomear dois objetos: Relógio, Caneta. (1 ponto para cada resposta certa)
			Repetir: “Nem aqui, nem ali, nem lá”. Ou paralelepípedo
			Comando de três estágios: “Apanhe esta folha c/ a mão direita; dobre ao meio; - coloque-a no chão”.
			Ler e obedecer: FECHÉ OS OLHOS
			Escreva uma frase: Eu...
Capacidade Construtiva visual	1		Copiar um desenho
	30		



AVALIAÇÃO = ESCALA CLÍNICA DE AVALIAÇÃO DE DEMÊNCIA

ESCALA CLÍNICA DE AVALIAÇÃO DE DEMÊNCIA (Clinical Dementia Rating Scale - CDR)			PONTO
MEMÓRIA	Sem perda de memória ou pequenos e ocasionais esquecimentos	0	
	Pequenos mas freqüentes esquecimentos; lembrança parcial de acontecimentos.	0,5	
	Moderada perda de memória principalmente para acontecimentos recentes, interferindo nas atividades do dia a dia.	1	
	Severa perda de memória: lembra apenas de assuntos interessantes vivenciados, informações novas são rapidamente esquecidas.	2	
	Severa perda de memória, somente fragmentos permanecem.	3	
ORIENTAÇÃO	Orientação perfeita	0	
	Totalmente orientado, exceto por pequenas dificuldades relacionadas com o tempo (horário).	0,5	
	Moderada dificuldade com orientação temporal; orientado com relação ao local do exame, pode haver desorientação geográfica para outros locais.	1	
	Severa dificuldade relacionada com o tempo; frequentemente desorientado com relação a tempo e espaço.	2	
	Total desorientação temporo-espacial; reconhece apenas as pessoas mais íntimas.	3	
JULGAMENTO E DISCERNIMENTO	Resolve bem os problemas do cotidiano; bom discernimento.	0	
	Alguma dificuldade na resolução de problemas, semelhanças e diferenças.	0,5	
	Moderada dificuldade em resolver problemas por si mesmo; dificuldades no discernimento de semelhanças e diferenças.	1	
	Importante dificuldade em resolver problemas com independência, discernir entre semelhanças e diferenças, crítica e julgamento comprometidos.	2	
	Incapaz de resolver problemas.	3	
PARTICIPAÇÃO SOCIAL	Independência no desempenho profissional, nas compras, finanças e nas atividades sociais.	0	
	Algumas dificuldades nessas atividades	0,5	
	Apresenta dependência nessas atividades, apesar de poder participar de algumas; aparenta não apresentar anormalidades à primeira vista.	1	
	Sem interesse em manter atividades fora de casa; aparenta estar bem para sair e manter atividades fora de casa.	2	
	Aparenta não ter condições de desempenhar atividades fora de casa	3	
AFAZERES DOMÉSTICOS E PASSATEMPOS	Vive em família; passatempos e interesses intelectuais mantidos.	0	
	Vive em família; passatempos e interesse intelectual levemente afetado.	0,5	
	Suave mas definitiva dificuldade com atividades domésticas, deixa de realizar atividades domésticas e passatempos mais difíceis.	1	
	Apenas atividades simplificadas; interesses muito restritos.	2	
	Atividade doméstica praticamente inexistente	3	
CUIDADOS PESSOAIS	Totalmente capaz e independente.	0	
	Totalmente capaz e independente	0,5	
	Precisa ser incentivado / instruído	1	
	Necessita de assistência para vestir e assear-se	2	
	Requer muita ajuda para cuidados pessoais; frequentemente incontinente.	3	
TOTAL			

AVALIAÇÃO = ATIVIDADES BÁSICAS DE VIDA DIÁRIA

ATIVIDADES BÁSICAS DE VIDA DIÁRIA		
Pontuar a informação obtida do cuidador principal		
ITEM	SITUAÇÃO DO PACIENTE	PONTOS
COMER	Totalmente independente	10
	Necessita de ajuda para cortar carne, pão, etc.	5
	Dependente	0
LAVAR-SE	Independente: entra e sai sozinho do banho	5
	Dependente	0
VESTIR-SE	Independente: capaz de por e tirar a roupa, abotoar-se, calçar sapatos	10
	Necessita ajuda	5
	Dependente	0
HIGIENIZAR-SE	Independente para lavar o rosto, as mãos, pentear-se, barbear-se, maquiar-se, etc.	5
	Dependente	0
EXCREÇÕES	Fezes	Continente
		Ocasionalmente algum episódio de incontinência, ou necessita ajuda para administração de supositórios ou laxantes.
		Incontinente
	Urina	Continência normal, ou é capaz de cuidar de a sonda (se tem uma posta).
		Um episódio diário no máximo de incontinência, ou necessita ajuda para cuidar da sonda
		Incontinente
USAR O BANHEIRO	Independente para ir ao banheiro para o asseio, tirar e por a roupa	10
	Necessita ajuda para ir ao sanitário, mas se limpa sol	5
	Dependente	0
LOCOMOÇÃO	Independente para ir do assento a cama	15
	Minima ajuda física ou supervisão para fazer-lo	10
	Necessita grande ajuda, mas é capaz de manter-se sentado só	5
	Dependente	0
DEAMBULAÇÃO	Independente, caminha só 50 metros.	15
	Necessita ajuda física ou supervisão para caminhar 50 metros	10
	Independente em cadeira de rodas sem ajuda	5
	Dependente	0
ESCADAS	Independente para baixar e subir escadas	10
	Necessita ajuda física ou supervisão para fazer-lo	5
	Dependente	0

AVALIAÇÃO = ESCALA DE DEPRESSÃO GERIÁTRICA

ESCALA DE DEPRESSÃO GERIÁTRICA		Padrão	Ponto
Satisfeito(a) com a vida?		Não	
Interrompeu muitas vezes suas atividades?		Sim	
Acha sua vida vazia?		Sim	
Aborrece-se com freqüência?		Sim	
Sente-se de bem com a vida na maior parte do tempo?		Não	
Sente-se alegre a maior parte do tempo?		Não	
Teme que algo ruim lhe aconteça?		Sim	
Sente-se desamparado(a) com freqüência?		Sim	
Prefere ficar em casa a sair e fazer coisas novas?		Sim	
Acha que tem mais problemas de memória que outras pessoas?		Sim	
Vale a pena viver como vive agora?		Não	
Sente-se cheio(a) de energia?		Não	
Acha que sua situação tem solução?		Não	
Acha que tem muita gente em situação melhor?		Sim	
PONTUAÇÃO TOTAL			
ESCALA DE DEPRESSÃO – RESULTADO		pontos	
Resposta diferente do exemplo		0	
Resposta igual ao exemplo		1	
Total maior de 5 pontos = Suspeita de depressão			

AVALIAÇÃO = ESCALA ISQUÊMICA DE HACHINSKI

ESCALA DE ISQUEMIA DE HACHINSKI	
ACHADO	PONTOS
Início súbito	2
Curso flutuante	2
Confusão noturna	1
Preservação relativa da personalidade	1
Depressão	1
Queixas / Sintomas somáticos	1
Labilidade emocional	1
Antecedentes de HAS	1
Antecedentes de AVC	2
Evidência de aterosclerose associada	1
Sinais neurológicos focais	2
Sintomas neurológicos focais	2
Progressão em degraus	1
TOTAL	

≥ 7 - D. VASCULAR

≤ 4 - D.A.

5-6 - D. MISTA

AVALIAÇÃO = CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS DE DEMÊNCIA POR CORPÚSCULOS DE LEWY

CARACTERÍSTICAS DA DEMÊNCIA POR CORPÚSCULOS DE LEWY
▪ Apresenta períodos de confusão, alucinações (especialmente visuais)
▪ Quedas freqüentes;
▪ Sinais extrapiramidais espontâneos, tais como rigidez ou lentidão e pobreza de movimento (bradicinesia);
▪ Maior sensibilidade aos neurolépticos;
▪ Progressão mais rápida.
▪ Curso flutuante

Anexo 4

Doença de Alzheimer: critérios NINCDS-ADRDA

A.- Criterios de Doença de Alzheimer (DA) possível:

1. Demencia, com ausencia de outras alteraciones sistémicas, psiquiátricas y neurológicas que puedan causar esa demencia,.
2. Presencia de una segunda alteración, cerebral o sistémica, que podria producir demencia pero que no es considerada por el clínico como la causa de esta demencia.
- 3- Quando se produce deterioro gradual e intenso de una única función cognitiva, en ausencia de otra causa identificable

B.- Criterios de DA provável:

1. Déficit cognitivo demostrado mediante exame clínico y documentado com testes y escalas validados.
2. Déficit em duas ou mais áreas cognitivas (memoria, juízo, cálculo, etc.).
3. Teterioramento PROGRESIVO da memoria e outras funciones cognitivas.
4. Ausencia de trastornos da consciencia (delirium).
5. Inicio entre 40 e 90 años.
6. Sem evidencia de outras enfermidades cerebrais ou sistémicas que pudessem justificar o quadro.

Apoiam o diagnóstico de DA provável:

7. Presencia de afasia, apraxia, agnosia.
- 8 Alteração de padrões de conduta e incapacidade para realizar tarefas cotidianas
9. Historia familiar de DA.
10. Exâmes complementares: exame de LCR normal, alterações inespecíficas ou normalidade no EEG, e sinais de atrofia cerebral progressiva em estudos seriados de TC cerebral.

C.- Criterios de DA definitiva:

1. Criterios de DA provável acompanhados de:
2. Confirmação histopatológica

APÊNDICE 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
PROJETO ALOIS- núcleo NORONHA

Eu, _____, abaixo assinado, dou meu consentimento livre e esclarecido para participar como voluntário do projeto de pesquisa supracitado, sob a responsabilidade das pesquisadoras Prof^{as}. Anália Nussy de Medeiros Garcia , Profa. Maria Tereza Cartaxo Muniz , Profa. Elizabete Malaquias e Prof Luis Ataíde Junior, docentes da Universidade de Pernambuco e Universidade Federal de Pernambuco

Assinado este Termo de Consentimento estou ciente de que:

1. O objetivo da pesquisa é caracterizar os fatores de susceptibilidade (fatores de risco) genética para Doença de Alzheimer em idosos;
2. Obtive todas as informações necessárias para poder decidir conscientemente sobre a minha participação na referida pesquisa;
3. Estou livre para interromper a qualquer momento minha participação na pesquisa;
4. Autorizo a punção venosa e a coleta de meus dados pessoais que serão mantidos em sigilo e os resultados gerais obtidos através da pesquisa serão utilizados apenas para alcançar os objetivos do trabalho, exposto acima, incluída sua publicação na literatura científica especializada;
5. Poderei contactar o Comitê de Ética de UPE para apresentar recursos ou reclamações em relação à pesquisa ou ensaio através do telefone: (3416-4008), o qual encaminhará o procedimento necessário.
6. Concordo que os resultados sejam analisados e sejam divulgados através de meios de divulgação científica

Recife, de _____

2006.

RG: _____

(Voluntário ou responsável)

pesquisador

ANEXO 1

Recife, 18 de julho de 2006.

**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
GERÊNCIA DE PROJETOS DE PESQUISA**

O COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UPE

O Comitê em reunião do dia 10/07/06 considerou **APROVADO**, o Projeto de pesquisa de **Nº 032/06**, intitulado:

PROJETO ALOIS, que tem como pesquisadora principal:

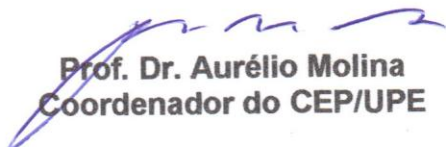
Prof^a: **ANÁLIA NUZYA DE MEDEIROS GARCIA**.

RESUMO DO COMITÊ DE ÉTICA

O estudo não apresenta maiores riscos de agravos Éticos e está em consonância com as Resoluções do Conselho Nacional da Saúde, referentes às pesquisas que envolvem seres humanos, com a Declaração do Helsinque e com o Código de Nuremberg. Lembramos que o pesquisador principal tem por obrigação:

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e/ou do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após a análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Manter por 5 anos, para possível auditoria dos órgãos competentes, os dados individuais de todas as etapas da pesquisa.
4. Apresentar relatórios parcial /janeiro/2007.
5. Apresentar relatórios final /julho/2007.
6. Apresentar resultado final no local da coleta de dados.

Atenciosamente,


Prof. Dr. Aurélio Molina
Coordenador do CEP/UPE

REFERÊNCIAS

- AMOSUN, S. L.; REDDY, P. Healthy ageing in África. **World Health**, Geneva, v.50, p.18-19, 1997.
- APOSTOLOVA, L.G.; DUTTON, R.A.; DINOVI, I.D.; HAYASH, K.M.; TOGA, A.W.; CUMMINGS, J.L.; THOMPSON, P.M. Conversion of mild cognitive impairment to Alzheimer disease predicted by hippocampal atrophy maps. **Arch. Neurol.**, n 63, p. 693-699, 2006.
- AZAMBUJA, L. S. Avaliação neuropsicológica do idoso. **Revista Brasileira de Ciências do Envelhecimento Humano**. Passo Fundo, v. 4, n. 2, p. 40-45, 2007.
- AZEVEDO JUNIOR, D; BOTTINO, C.M.C.; HOTOTIAN, S.R; BAZZARELLA, M.C; CASTRO, C. C. Espectroscopia de prótons na doença de Alzheimer e no comprometimento cognitivo sem demência. **Arq de Neuropsiquiatria**. v. 63, n.40, p. 1021-1027., 2005.
- BARRETO, ANÍBAL (Cel.). Fortificações no Brasil (Resumo Histórico). Rio de Janeiro: **Biblioteca do Exército Editora**., 368 p., 1958.
- BARNES, J.; GODBOLT, A.K.; FROST, C.; BOYES, R.G.; JONES, B.F.; SCAHILL, R.I.; ROSSOR, M.N.; FOX, N.C. Atrophy rates of the cingulate gyrus and hippocampus in AD and FTL. **Neurobiology of Aging**. n. 28, p. 20-28, 2007.
- BARNES, J.; SCAHILL, R.; SCHOT, J.M.; FROST, C.; ROSSOR, M.N.; FOX, N.C. Does Alzheimer's disease affect hippocampal asymmetry? Evidence from a cross-sectional and longitudinal volumetric MRI study. **Dement Geriatr Cogn Disord**. n. 19, p. 338-344, 2005.
- BJORKHEM, I. Rediscovery of cerebrosterol. **Lipids**. n. 42, p. 5-14, 2007.
- BOBINSKI, M.; DE LEON, M.J. ; WEGIEL, J.; DESANTI, S. ; CONVIT, A. ; SAINT-LOUIS, A. ; RUSINEK, H. & WISNIEWSKI, H.M. The histological validation of post mortem magnetic resonance imaging-determined hippocampal volume in Alzheimer's disease. **Neuroscience**. n. 95, p. 721-72, 2000.
- BORRONI, B.; ARCHETTI, S.; AGOSTI, S.; AKKAWI, N.; BRAMBILLA, C.; CAIMI, L.; CALTAGIRONE, C.; DI LUCA, M.; PADOVANI, A. Intronic CYP46 polymorphism along with ApoE genotype in sporadic Alzheimer disease: from risk factors to disease modulators. **Neurobiology of Aging**. n.25, p. 747-751, 2004.
- BOTTINO, C.M.C.; MORENO, M. D. Q. Comprometimento cognitivo leve: critérios diagnósticos e validade clínica, in: BOTTINO, C. M. C.; LAKS, J.; BLAY, S. L. (orgs). **Demência e transtornos cognitivos em idosos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 31-37.

BUSSE, E. W.; BLAZER, D. G. **Psiquiatria geriátrica**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed,. 481 p., 1999.

CAMPEDELLI, M. C. **Caminhos do envelhecer**. Rio de Janeiro : Revinter, 1994.

CANSADO, F. A. X.; HORTA, M. L. Envelhecimento Cerebral. In: FREITAS, E. V. (Org.) **Tratado de geriatria e gerontologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Kooskan,. p. 112-127, 2002.

CANCELA ,D.M. **O Processo de Envelhecimento**.Universidade Lusíada do Porto , 2007. Disponível em: <<http://WWW.psicologia.com.pt>>. Acessado em: 20 abril 2011.

CARAMELLI, P.; BARBOSA, M. T. Como diagnosticar as quatro causas mais frequentes de demência. **Rev. Bras Psiquiatr.** v. 24, supl I, p. 7-10, 2002.

CARNEIRO, CARLOS. Ilhas Oceânicas do Brasil (Fernando de Noronha). **Diccionario Historico Geographico e Etnographico do Brasil (Vol. I, Parte I)**. Rio de Janeiro: IHGB, p. 42-46., 1922.

CARVALHO, J. A. M; GARCIA, R.A. O envelhecimento da população brasileira: um enfoque demográfico. **Cad. Saúde Pública**, v. 19, n. 3, p. 725-733, 2003.

CARTHERY-GOULART, M. T. et. al. Versão Brasileira da Escala Cornell de depressão em demência. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 65, n. 3-B, p. 912-915, 2007.

CACCAMO,A; MALDONATO,M.; BOKOV, A.;MANUNDER,S.;ODDO,S.CBP gene transfer increases BDNF levels and ameliorates learning and memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease **PNAS**, 2011.

CONFORT, A. Discussion session.: definition and universality of aging. In: STREHLER, B.L. The biology of aging. Washington: American Institute of Biological Sciences; p.3-13. 1960.

CHERTKOW, H. et. al. Diagnosis and treatment of dementia: mild cognitive impairment and cognitive impairment without dementia. **CMAJ**, v. 178, n. 10, p. 1273-1285, 2008.

CHARCHAT-FICHMAN, H.; CARAMELLI, P.; SAMESHIMA, K.; NITRINI, R. Declínio da capacidade cognitiva durante o envelhecimento. **Rev Bras Psiquiatr.** v. 27, n. 12, p. 79-82, 2005.

CHOPRA J.S;HACHINSKI, V.;The assessment of multi-infarct dementia. **Progress in Cerebrovascular Disease**, 1th Edit. Elsevier; 103-8, 1990.

COMBARROS, O.; INFANTE, J.; LLORCA, J.; BERCIANO, J. Genetic association of CYP46 and risk for Alzheimer's disease. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders**, n. 18, p. 257–260, 2004.

CORBO, R.M; SCACCHI, R. Apolipoprotein E (apoE) allele distribution in the world: is apoE4 a 'thrifty' allele? **Ann Human Genet.** n. 63, p. 301-310, 1999.

DE ABREU, I. D.; FORLENZA, O. V.; DE BARROS, H. L. Demência de Alzheimer: correlação entre memória e autonomia. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 32, n.3, p. 131-136, 2005.

DESAI, P.; DEKOSKY, S. T.; KAMBOH, M. I. Genetic variation in the cholesterol 24-hydroxylase (CYP46) gene and the risk of Alzheimer's disease. **Neuroscience letters.** n. 328, p. 9-12, 2002.

DIXON, R.M.; BRADLEY, K.M.; BUDGE, M.M.; STYLES, P.; SMITH, A.D. Longitudinal quantitative proton magnetic resonance spectroscopy of the hippocampus in Alzheimer's disease. **Brain.** n. 125, p. 2332-2341, 2002.

DOODY, R. S.; AZHER, S. N.; HAYKAL, H. A.; DUNN, J. K.; LIAO, T.; SCHNEIDER, L. Does APO E4 correlate with MRI changes in Alzheimer's disease? **J Neurol Neurosurg Psychiatry.** n. 69, p. 668-671, 2000.

ENGELHARDT, E.; MOREIRA, D. M.; LAKS, J.; CAVALCANTI, J. L. S. Alzheimer's Disease and Proton Magnetic Resonance Spectroscopy of Limbic Regions. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 63, n. 2-A, p. 195-200, 2005.

ENGELHARDT, E.; MOREIRA, D. M.; LAKS, J.; MARINHO, V. M.; ROZENTAH, M.; OLIVEIRA JR., A. C. Doença de Alzheimer e espectroscopia por ressonância magnética do hipocampo. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v.59, n. 4, p. 865-870, 2001.

FERNÁNDEZ DEL POSO, V; ÁLVAREZ, M. A.; MARTÍNEZ, M. F. et al. Polymorphism in the cholesterol 24S-hydroxylase gene (CYP46A1) associated with the APOEε3 allele increases the risk of Alzheimer's disease and of mild cognitive impairment progressing to Alzheimer's disease. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders**, v. 21, p. 81-87, 2006.

FOLSTEIN, M. F.; FOLSTEIN, S. E.; MCHUGH, P. R. "Mini-mental state": a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. **J Psychiatr Res.** n. 12, p. 189-198, 1975.

FORLENZA, O. V.; CARAMELLI, P. **Neuropsiquiatria Geriátrica.** São Paulo: Atheneu, 687 p., 2000.

FREITAS, E. V.; MIRANDA, R. D.; NERY, M. R. Parâmetros clínicos do envelhecimento e avaliação geriátrica global. In: FREITAS, E. et al. **Tratado de Geriatria e Gerontologia.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 610-617, 2006.

FRIDMAN, C.; GREGÓRIO, S. P.; OJOPI, E. P. B. Alterações genéticas na doença de Alzheimer. **Rev. Psiq Clin.** v. 31, n. 1, p. 19-25, 2004.

GALLUCCI N, J; TAMELINI, M.G.; FORLENZA, O.V. Diagnóstico Diferencial das demências. **Rev Psiquiatr Clín.** n. 32, v. 3, p. 119-30, 2005.

GAUTHIER, S. et al. Mild cognitive impairment. **Lancet**, v. 15, p. 1262-1269, 2006.

GOLBY, A.; SILVERBERG, G.; RACE, E.; GABRIELI, S.; O'SHEA, J.; KNIERIM, K.; STEBBINS, G. ; GABRIELI, J. Memory encoding in Alzheimer's disease: an fMRI study of explicit and implicit memory. **Brain**. n. 128, p. 773-787, p. 2007.

GUERREIRO, T.; CALDAS, C. P. **Memória e demência: (re) conhecimento e cuidado**. Rio de Janeiro: UnATI/UERJ, 209 p., 2001.

HACHINSKI, V. The assessment of multi-infarct dementia. In: CHOPRA, J.S. **Progress in cerebrovascular disease**. Amsterdam: Elsevier, 1990.

HÄNNINEN, T., HALLIKAINEN, M., KOIVISTO, K., PARTANEN, K., LAAKSO, M. P., RIEKKINEN, P.J., & SOININEN, H. . Decline of frontal lobe functions in subjects with age-associated memory impairment. **Neurology**, 28, 148-153, 2002.

HERRERA, E.; CARAMELLI, P. ; NITRINI R. Estudo epidemiológico populacional de demência na cidade de catanduva – Estado de São Paulo – Brasil. **Rev. Psiq. Clin.** v. 25, n. 2, p. 70-73, 1998.

HOWIESON, D. B.; DAME, A.; CAMICIOLO, R. et al. .Cognitive markers preceding Alzheimer's dementia in the healthy oldest old. **J Am Geriatr Soc.**v. 45, p. 584-589, 1997.

HUGHES, C.P.; BERG, L.; DANZIGER, W.L.; COBEN, L.A.; MARTIN, R.L . A new clinical scale for the staging of dementia. **British Journal of Psychiatry**, v. 140, p. 566-572, 1982.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Demográfico 2000**. Brasília. Disponível em: <<http://WWW.ibge.gov.br>> Acessado em: 25 de abril 2011.

JACK JR, C.R.; MARJANSKA, M.; WENGENACK, T.M.; REYES, D.A.; CURRAN, G.L.; LIN, J.; PREBOSKE, G.M.; PODUSLO, J.F.; GARWOOD, M. Magnetic resonance imaging of Alzheimer's pathology in the brains of living transgenic mice: a new tool in Alzheimer's disease research. **The Neuroscientist**. n.13, p. 38-48, 2007.

JACOBSON, M.W; DELIS, D.C.; BONDI, M.W.; SALMON, D.P. Do Neuropsychological tests detect preclinical Alzheimer's disease: individual-test versus cognitive-discrepancy score analyses. **Neuropsycholog**. n.16, p.132-139, 2002.

JOYNT, R. J. Envelhecimento normal e padrões de doença neurológica. In: ABRAMS, W. B.; BERKOW, R. **Manual Merck de geriatria**. São Paulo: Roca, p. 990-993, 1994.

JUHÁSZ, A.; RIMANÓCZY, A.; BODA, K.; VINCZE, G.; SZLÁVIK, G.; ZANA, M.; BJELIK, A.; PÁKÁSKI, M.; BÓDI, N.; PALOTÁS, A.; JANKA, Z.; KÁLMÁN, J. CYP46 T/C polymorphism is not associated with Alzheimer's dementia in a population from Hungary. **Neurochemical Research**. n.8, p. 943-948, 2005.

KABBARA, A.; PAYET, N.; VOTTEL, D.; FRIGARD, B.; AMOUYEL, P.; LAMBERT, J. C. Exclusion of CYP46 and APOM as candidate genes for Alzheimer's disease in French population. **Neuroscience Letters.**, n.363, p. 139-143, 2004.

KALACHE, A.; VERAS, R. P.; RAMOS, L. R. Envelhecimento da População Mundial: Um desafio novo. In: **Rev. Saúde Pública.** São Paulo, v. 21, n. 3, p. 200-210, 1987.

KANTARCI, K.; XU, Y.C.; SHIUNG, M.M.; O'BRIEN, P.C.; CHA, R.H.; SMITH, G.E.; IVNIK, R.J.; BOEVE, B.F.; EDLAND, S.D.; KOKMEN, E.; TANGALOS, E.G.; PETERSEN, R.C.; JACK JR, C.R. Comparative diagnostic utility of different MR modalities in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. **Dement Geriatr Cogn Disord.** v.14, p. 198-207, 2002.

KNORST, M. R. et al. Qualidade de vida do idoso. In: TERRA, N. L. (Org.) **Envelhecendo com qualidade de vida.** Porto Alegre: EDIPUCRS, p. 29-32, 2001.

LAWS SM, HONE E, GANDY S, et al. Expanding the association between the APOE gene and the risk of Alzheimer disease: possible roles for APOE promoter polymorphisms and alterations in APOE transcriptions. **J Neurochem.**; 84: 1215-36. 2003.

LEBRÃO, M. L.O envelhecimento no Brasil: aspectos da transição demográfica e epidemiológica, **Saúde Coletiva** v.4, n. 17, p.135-140, 2007

LETHORVITA, M; SOININEN, H.; LAAKSO, M.P.; PARTANEN, K; HELISALMI, S.; MANNERMAA, A; RYYNANEN, M; KUIKKA, J; HARTIKAINEN, P; RIEKKINEN, P.J. Sr: SPECT and MRI analysis in Alzheimer's disease: relation to apolipoprotein E E4 allele. **J neurol Neurosurg Psychiatry.** n. 60, p. 644-649, 1996.

LEVY, J. A.; MENDONÇA, L. J. Envelhecimento cerebral: demências. In: CARVALHO FILHO, E. T.; PAPALÉO NETTO, M. **Geriatrics: fundamentos, clínica e terapêutica.** São Paulo: Atheneu, p. 51-62, 1994.

LI, J; KUANG, W.H; WANG, X; HUANG, M.S; WU, D.P. Study of relationship between ApoE epsilon4 allele and hippocampal atrophy in Alzheimer disease. **Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.** v. 36, n.1, p.50-2, 2005.

LIMA-COSTA, MARIA FERNANDA; BARRETO, SANDHI MARIA. Tipos de estudos epidemiológicos: conceitos básicos e aplicações na área do envelhecimento. **Epidemiol. Serv. Saúde**, vol.12, n.4, pp. 189-201. ISSN 1679-4974, 2003.

LITVOC, J. Transtornos cognitivos e incapacidades, In: BOTTINO, C. M. C.; LAKS, J.; BLAY, S. L. (orgs.). **Demência e transtornos cognitivos em idosos.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 38-48, 2006.

LLORCA, J; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, E; DIERSSEN-SOLOS, T; DELGADO-RODRIGUEZ, M; BERCIANO, J; COMBARROS, O. meta-analysis of genetic variability in the B-amyloid production, aggregation and degradation metabolic pathways and the risk of Alzheimer's disease. **Acta Neurol scand.** n.117, p. 1-14, 2008.

MA, S.L; TANG, N.L.S; LAM, L.C.W; CHIU, H.F.K. Polymorphisms of the cholesterol 24-hydroxylase (CYP46A1) gene and the risk of Alzheimer's disease in a Chinese population. **International Psychogeriatrics**. v.18, p. 37-45, 2006.

MACHADO, J.C; RIBEIRO, R.C.L; LEAL, P.F.G; COTTA, R.M.M. Avaliação do declínio cognitivo e sua relação com as características socioeconômicas dos idosos em Ciosa-MG. **Rev Bras Epidemiol**. v.10, n. 4, p. 592-605, 2007.

MACHADO, J. C. B. Doença de Alzheimer. In: FREITAS, E.V. et al. **Tratado de geriatria e gerontologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.133-147, 2002.

MARCHETTI, R. L.; BOTTINO, C. M. C.; AZEVEDO, D.; NAGAHASHI, M.; DE CASTRO, C. C. Confiabilidade de Medidas Volumétricas de Estruturas Temporais Mesiais. **Arquivo de Neuropsiquiatria**, v. 60, n.2-B, p. 420-428, 2002.

MARTINS, R.N; CLARNETTE, R; FISIER, C, et al. ApoE genotypes in Australia : roles in early and late onset Alzheimer's disease and Down's syndrome. **Neuroreport**. n.6, p.1513-6, 1995.

MAYEUX, R; SCHUPF, N. Apolipoprotein E and Alzheimer's disease: the implications of progress in molecular medicine. **American Journal of Public Health**. v.85, n .9, p.1280-1284, 1995

MCKEITH,I.G; GALASKO,D; KOSAKA, K, et al. Consensus guidelines for the clinical and pathological diagnosis of dementia with Lewy bodies (DLB): report of the Consortium on DLB International Workshop. **Neurology** v.47, p.1113-1124, 1985.

MCKHANN, G; DRACHMAN, D; FOLSTEI, M; KATZMAN, R; PRICE, D; STADLAN, E.M. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA work group under the auspices of Departament of health and Humans Sevice Task Force on Azheimer's disease. **Neurology**. 34, p. 939-44, 1984.

MILLER SA, DYKES DD, POLESKY HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Res**;16:1215, 1988.

MOREIRA, Morvan de M. Envelhecimento da população brasileira: intensidade, feminização e dependência. **Revista Brasileira de Estudos Populacionais**, Campinas, v.15, n.1, jan./jun., p.79-93. 1998

NAIDU, A.; XU, Q; CATALANO, R.; CORDELL, B. Secretion of apolipoprotein E by brain glia requires protein prenylation and suppressed by statins.. **Brain Res**. v. 958, n.1, p. 100-11, 2002.

NASSI,F M.C; HOPPE, J; SALBEGO, C.G. Colesterol, APOEe4 e estatinas: implicações na doença de Alzheimer. **Infarma**. n.17, p. 46- 49, 2005.

NITRINI, R.; CARAMELLI, P.; BOTTINO, C.M.C.; DAMASCENO, B.P.; BRUCKI, S.M.D. & ANGHINAH, R. Diagnóstico de Doença de Alzheimer no Brasil. **Arquivo de Neuropsiquiatria**. v.63, n.3-A, p.713-719, 2005.

OJOP, I. E. P.; BERTONCINI, A. B.; Apolipoproteína E e a doença de Alzheimer. **Rev Psiquiatr Clin.** v. 31, n. 1, p. 26-33, 2004.

OKAMOTO, I. H.; BERTOLUCCI, P. H. F. **Perda de memória no idoso.** Disponível em: <http://www.unifesp.br/dpsiq/polbr/ppm/atu5_01.htm>. Acesso em: 18 maio de 2011.

PACHECO, J. L. Práticas Sociais na promoção de Saúde do idoso. **Arquivos de Geriatria e Gerontologia**, v.1, n.2, p.79 - 82, 1997.

PAIVA, SÁLVEA. **Perfil socioeconômico e epidemiológico da população idosa do Distrito Estadual de Fernando de Noronha – PE. Tese de mestrado.** Ageu Magalhães -Recife, 188 p. 2004.

PAPALÉO NETTO, M.; CARVALHO FILHO, E. T.; NOGUEIRA, R. F. Fisiologia do envelhecimento. In: CARVALHO FILHO, E. T.; PAPALÉO NETTO, M. **Geriatria fundamentos, clínica e terapêutica.** 2 ed. São Paulo: Atheneu, p.43-62, 2006.

PAPASSOTIROPOULOS, A.; STREFFER, J. R.; TSOLAKI, M.; SCHMID, S.; THAL, D.; NICOSIA, F. Increased brain B-amyloid load, phosphorylated tau, and risk of Alzheimer disease associated with an intronic CYP46 polymorphism. **Arch Neurol.** n.60. p. 29-35, 2003.

PETERSEN, R. C.; DOODY, R.; KURZ, A.; MOHS, R. C.; MORRIS, J. C.; RABINS, P. V.; Current concepts in mild cognitive impairment. **Arch Neurol.** v. 58, n. 12, p. 1985-92, 2001.

PUGLIELLI, L.; ELLIS, B. C.; INGANO, L. MACKENZIE; KOVACS, D. M. Role of acyl-coenzyme A Cholesterol acyltransferase activity in the processing of the amyloid precursor protein. **Journal of Molecular Neuroscience.** v. 24, n. 1, p. 93-96, 2004.

RAMOS, L. R.; ROSA, T. E. C.; OLIVEIRA, Z. M.; MEDINA M. C. G.; SANTOS, F. R. G. Perfil do idoso em área metropolitana na região sudeste do Brasil: resultados de inquérito familiar. **Rev. Saúde Pública.** v. 27, n. 2, p. 87-94, 1993.

RAMOS, L. R.; VERAS, R. P.; KALACHE, A. Envelhecimento populacional: uma realidade brasileira. **Rev. Saúde Pública.** São Paulo, v. 21, n. 3, p. 221-224, 1987.

RAYFER, Y. **Envelhecimento cerebral e o declínio da função mental.** Disponível em: <http://www.longevidade.com/texto_11.html>. Acesso em: 16 de maio de 2011.

REDDY, M. M.; WILSON, R.; WILSON, J.; CONNELL, S.; GOCKE, A.; HYNAN, L.; GERMAN, D.; KODADEK, T. Identification of candidate IgG biomarkers for Alzheimer's disease via combinatorial library screening. **Cell.** n. 1, v. 144, p. 132-142, 2011.

REISBERG, B.; FERRIS, S. H.; DE LEON, M. J.; CROOK, T. The Global deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia. **Am J Psychiatry**. v. 139, n. 9, p. 1136-9, 1982.

REYS, B.N; BEZERRA, A.B; VILELEA, A.L.S; KEUSEN, A.L; MARINHO, V; DE PAULA, E; LAKS, J. Diagnóstico de demência, depressão e psicose em idosos por avaliação cognitiva breve. **Rev Assoc Med Bras**; v.52, n. 6, p. 401-4, 2006.

SAMBAMURTI, K; GRANHOLM, A.C;KINDY, M.S;BHAT, N.R; LAHIRI, D.K; MINTZER, J.E.Cholesterol and Alzheimer's disease: clinical experimental models suggest interactions of different genetic, dietary and environmental risk factors. **Curr Durg Targets** v. 5, n.6, p.517-28, 2004.

SAVONITTI, B. H. R. A. Cuidando do idoso com demência. In: DUARTE, Y. A. O.; DIOGO, M, J. D.E. **Atendimento domiciliar: um enfoque Gerontológico**. São Paulo: Atheneu, 421-438 p, 2000.

SCAZUFCA, M. et al. Investigações epidemiológicas nos países em desenvolvimento. **Revista de Saúde Pública**, v. 36, n. 6,p. 773-778, 2002.

SCALCO, M. Z; VAN REEKUM, R; BAZARELLA, M. Estratégias de prevenção da demência, in: BOTTINO, C. M. C.; LAKS, J.; BLAY, S. L. (orgs). **Demência e transtornos cognitivos em idosos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 335-43,2006

SILVA, M. J; MELO, R. S. do A. Fernando de Noronha: a produção e o consumo de um espaço insular para o turismo histórico-cultural. **Revista Espaço e Geografia**, Brasília, ano 3, n. 1, 2000.

SMALL, G.W; ERCO; LAVRETSKY, H; MILLER, K; SIDDARTH, P; RASGON, N.L. Cerebral metabolic and cognitive decline in persons at genetic risk for Alzheimer's disease. **PNAS**. n. 97, p. 6037-42, 2000.

SOUZA, D.R.S; DE GODOY, M.R; HOTTA, J; TAJARA, E.H; BRANDÃO,A.C; PINHEIRO JUNIOR, S; TOGNOLA, W.A; SANTOS, J.E. Association of apolipoprotein E polymorphism in late-onset Alzheimer's disease and vascular dementia in Brazilians. **Braz J Med Biol Res**. v. 36, n.7, p. 919-2, 2003.

SUNDERLAND, T., HILL, J. L.; MELLOW, A. M.; LAWLOR, B. A.; GUNDERSHEIMER, J.; NEWHOUSE, P.A.; GRAFMAN, J.H. ; SUNDERLAND, T.; HILL, J.L.; MELLOW, A. M.; LAWLOR, B. A.; GUNDERSHEIMER, J.; NEWHOUSE, P. A.; GRAFMAN, J. H. Clock drawing in Alzheimer's disease: a novel measure of dementia severity. **J Am Geriatr Soc**, v. 37, p. 725-729, 1989.

TANZI, R.E; BERTRAN, L. New frontiers in Alzheimer's disease genetics. **Neuron**. n.32, p. 181-184, 2001.

TRUZZI, A; LAKS, J. Doença de Alzheimer Esporádica de Início Precoce. **Revista de Psiquiatria Clínica**. v.32, n.1, p. 43-46, 2005.

UNITED NATIONS ORGANIZATION. Department of international economic and social affairs. **The world aging situation: strategies and policies**; technical report. New York, 1985.

VALENZUELA, M.; SACHDEV, P. Magnetic resonance spectroscopy in AD. **Neurology**. v.56, p.592-8, 2001.

VEGA, U. M. et al. Sintomas neuropsiquiátricos nas demências: relato preliminar de uma avaliação prospectiva em um ambulatório do Brasil. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 65, n. 2-B, p. 498-502, 2007.

VERAS, R. P. Crescimento da população idosa no Brasil: transformações e consequências na sociedade. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 21, n. 3, p. 225-233, jun., 1987

VIEIRA, E. B. **Manual de gerontologia**: um guia teórico-prático para profissionais, cuidadores e familiares. Rio de Janeiro: Revinter, 187 p.,1996.

WINBLAD B, PALMER K, KIVIPELTO M, JELIC V, FRATIGLIONI I, WAHLUNO LO. Mild Cognitive impairment-beyond controversies, towards a consensus: report of international working group on mild cognitive impairment. **J Intern Med**. v. 256, n. 3, p. 240-6, 2004.

WOLOZIN, B; KELLMAN, W; RUOSSEAU, P; CELESIA, G.G; SIEGEL, G. Decreased prevalence of Alzheimer disease with 3-hidroxy-3methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. **Arch Neurol**. n.57, p. 1439-1443, 2000.

YAFFE,K. et al. Association of plasma B Amyloid level and Cognitive Reserve with subsequent cognitive decline. **JAMA**. N3- V305, p.261-266,2011.

YESAVAGE, J.A. Geriatric depression scale. **Psychopharmacol Bull**, v.24, p.709-711, 1988.

ZIMERMAN, I. G. **Velhice**: aspectos biopsicossociais. Porto Alegre: Artes Médicas Sul. 229 p., 2000.

Garcia, Analia Nusya de M.

Polimorfismos dos genes *CYP 46* e *APOE* e declínio cognitivo em idosos residentes no distrito de Fernando de Noronha-PE / Analia Nusya de M. Garcia. – Recife: O Autor, 2011.

87 folhas: il. fig.; 30 cm.

Orientador: Luiz Ataíde Júnior

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento, 2011.

Inclui bibliografia, anexo e apêndices.

**1. *APOE*. 2. *CYP 46*. 3.
Idoso. 4. Declínio cognitivo leve. 5.
Polimorfismo. I. Ataíde Júnior, Luiz.
II. Título.**

616.8983

CDD (20.ed.)

UFPE
CCS2011-
174

**RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DA
DOUTORANDA ANÁLIA NUSYA MEDEIROS GARCIA**

No dia 15 de agosto de 2011, às 13:30h, no Auditório do 2º andar do Programa de Pós Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, os Professores: Alcidezio Luiz Sales de Barros, Doutor Professor do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Católica de Pernambuco/UNICAP; Maria Tereza Cartaxo Muniz, Doutora Professora do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade de Pernambuco/UPE; Neide Santos, Doutora Professora do Departamento de Genética da Universidade Federal de Pernambuco; Ana Célia Oliveira dos Santos, Doutora Professora do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade de Pernambuco/UPE e Luiz Ataíde Júnior, Doutor Professor do Departamento de Neuropsiquiatria da Universidade Federal de Pernambuco, componentes da Banca Examinadora, em sessão pública, argüiram a Doutoranda, ANÁLIA NUSYA MEDEIROS GARCIA sobre a sua Tese intitulada **"POLIFORMISMOS DOS GENES CYP 46 E APOE E DECLÍNIO COGNITIVO EM IDOSOS RESIDENTES NO DISTRITO DE FERNANDO DE NORONHA"** orientada pelo professor Dr. LUIZ ATAÍDE JÚNIOR. Ao final da argüição de cada membro da Banca Examinadora e resposta da Doutoranda, as seguintes menções foram publicamente fornecidas:

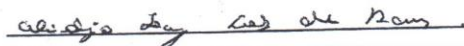
Prof. Dr. Alcidezio Luiz Sales de Barros

Profª Drª. Maria Tereza Cartaxo Muniz

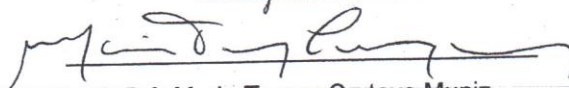
Profª Drª. Neide Santos

Profª Drª. Ana Célia Oliveira dos Santos

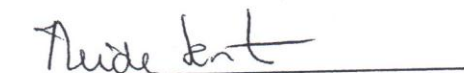
Prof. Dr. Luiz Ataíde Júnior



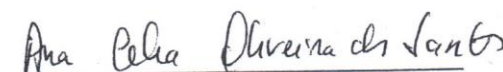
Prof. Dr. Alcidezio Luiz Sales de Barros



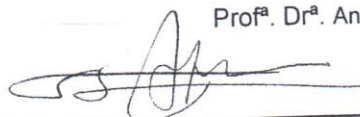
Profª. Drª. Maria Tereza Cartaxo Muniz



Profª. Drª. Neide Santos



Profª. Drª. Ana Célia Oliveira dos Santos



Prof. Dr. Luiz Ataíde Júnior
Presidente da Banca