

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Nutrição Experimental

**Estado nutricional de indivíduos com Comprometimento Cognitivo Leve
e Doença de Alzheimer em relação ao Selênio e sua associação com
parâmetros que predisõem ao declínio cognitivo**

ADRIANA GISELE HERTZOG DA SILVA LEME

São Paulo

2020

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Nutrição Experimental

**Estado nutricional de indivíduos com Comprometimento Cognitivo Leve
e Doença de Alzheimer em relação ao Selênio e sua associação com
parâmetros que predispõem ao declínio cognitivo**

ADRIANA GISELE HERTZOG DA SILVA LEME

Versão Original

Tese para obtenção do grau de doutor.

Orientadora: Profa. Titular Silvia
M.F.Cozzolino

São Paulo

2020

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

L551e Leme, Adriana Gisele Hertzog da Silva
Estado nutricional de indivíduos com Comprometimento
Cognitivo Leve e Doença de Alzheimer em relação ao Selênio e sua
associação com parâmetros que predisõem ao declínio cognitivo /
Adriana Gisele Hertzog da Silva Leme. -- São Paulo, 2020.
117p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e
Nutrição Experimental - Programa de Pós-Graduação em
Ciência dos Alimentos

Orientador: Cozzolino, Silvia Maria Franciscato

1. Selênio. 2. SELENOP. 3. Doença de Alzheimer. 4.
Comprometimento Cognitivo Leve. 5. Inflamação. I. T. II.
Cozzolino, Silvia Maria Franciscato, orientador.

ADRIANA GISELE HERTZOG DA SILVA LEME

Estado nutricional de indivíduos com Comprometimento Cognitivo Leve e Doença de Alzheimer em relação ao Selênio e sua associação com parâmetros que predisõem ao declínio cognitivo

Comissão Julgadora da Tese para obtenção do grau de DOUTOR

Profa. Titular. Dra Silvia Maria Franciscato Cozzolino

Orientador/Presidente

1º examinador

2º examinador

3º examinador

São Paulo, de Dezembro de 2020

Dedicatória

*Aos meus pais Elidia e Salustiano queridos e amados, exemplos a serem seguidos,
À minha irmã que está sempre em meus pensamentos e em meu coração (in memoriam),
Às minhas filhas que tanto me trazem felicidade e que tanto amo,
Ao meu marido Daniel por seu apoio incondicional.*

Agradecimentos

Aos meus pais, Elidia e Salustiano, que me proporcionaram amor e educação, e sempre me ensinaram a importância e valor do trabalho, esforço e estudo.

Às minhas filhas amadas, que tantas alegrias me proporcionam, e que sem sombra de dúvidas, me ajudaram a persistir nesta jornada, me dando ânimo e força nos momentos mais difíceis.

Ao meu amado marido Daniel, que desde o início me deu apoio e me incentivou a seguir este caminho e que sempre esteve presente na vida de minhas filhas, enquanto me ausentava para estudar. Muito obrigada!

À Profa. Silvia Maria Franciscato Cozzolino, por me acolher após o meu retorno à FCF depois de muitos anos afastada. Não tenho palavras para agradecer todo apoio e por sempre incentivar e acreditar em mim, além de ser uma pessoa extremamente humana e sensível. Um exemplo de profissional que me norteia em vários momentos e em tomadas de decisões ao longo de minha vida.

À Bárbara Rita Cardoso, uma das responsáveis por eu ter chegado até aqui. Uma pesquisadora excelente, com uma visão à frente do tempo e com uma capacidade intelectual sem precedentes. Obrigada!

Ao Prof. Wagner Gattaz por me receber no LIM-27 (IPq-FMUSP) para que eu entrasse em um projeto maior que estava em andamento neste departamento. Muito obrigada por acreditar no Selênio e em minha pesquisa.

Ao Prof. Orestes Forlenza, que me inspirou em conversas iniciais, quando ainda desenvolvia meu projeto. Uma mente cheia de ideias, com visões diferentes e pensamento crítico.

À Helena Giroud Joaquim, agradeço imensamente todo apoio e ajuda nas análises realizadas no LIM-27 bem como na organização das amostras biológicas. Muitas vezes me inspirei nela como pesquisadora.

A Leda Talib por sempre estar disponível e pronta a me ajudar. Me recebeu de portas abertas no LIM-27, onde inicialmente ficava assustada com tamanha grandiosidade.

A Leila Hashimoto, colega de laboratório, que me apoiou na análise estatística. Muito, muito obrigada.

Ao Prof. Fernando Barbosa, pela parceria nas análises de minerais e por toda generosidade.

À amiga Fabíola Luz, que me inspirou inicialmente e falou que esse feito me daria um senso de realização; e você estava certa!

À amiga Mônica Zilbermann, que com todo seu entusiasmo e inteligência ímpar, me trouxe boas colocações e me ajudou a rever alguns pontos da tese.

Ao Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, pela oportunidade de realizar o doutorado em um dos melhores programas de Ciência dos Alimentos do Brasil.

A todos os colegas do Laboratório de Nutrição-Minerais com quem convivi e aprendi durante esses 4 anos;

Ao técnico José Alesandre Pimental por ser sempre prestativo e atencioso.

LEME, A.G.S. *Estado nutricional de indivíduos com Comprometimento Cognitivo Leve e Doença de Alzheimer em relação ao Selênio e sua associação com parâmetros que predisõem ao declínio cognitivo*. 2020 117p. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo - Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos – Área: Nutrição Experimental, 2020.

A Doença de Alzheimer (DA) é a principal forma de demência e um dos grandes desafios no sistema de saúde do século 21. O Comprometimento Cognitivo Leve (CCL) é um estágio que antecede a DA e que compartilha algumas vias metabólicas em comum. A fisiopatologia da DA é caracterizada pela ampla morte neuronal e pela presença de placas neuríticas e emaranhados neurofibrilares, respectivamente relacionadas ao acúmulo de peptídeo beta amiloide ($A\beta$) em tecidos cerebrais e alterações no citoesqueleto que se originam da hiperfosforilação da proteína tau nos neurônios. Algumas linhas de evidência sustentam a hipótese de que o estresse oxidativo, nitrosativo e a inflamação tenham um papel importante na patogênese tanto do DA como do CCL. O selênio, mineral essencial ao ser humano, encontra-se incorporado ao sítio ativo de 25 selenoproteínas, das quais pelo menos um terço apresenta papel antioxidante, além de potencialmente modularem o sistema inflamatório. Deste modo, o estado nutricional adequado dos indivíduos relativo ao selênio, parece exercer efeito neuroprotetor, reduzindo o risco para o CCL e DA e retardando a progressão destas doenças. A entrega de selênio para o cérebro se dá pela interação da selenoproteína P (SELENOP) com o receptor de apolipoproteína E2 (ApoER2). A apolipoproteína E (ApoE) também interage com o ApoER2 no metabolismo de lipídeos. Assim, pode-se pensar que indivíduos portadores do polimorfismo do gene da apolipoproteína E $\epsilon 4$ (*APOE $\epsilon 4$*), o principal polimorfismo genético para o aumento no risco de desenvolvimento de DA, possam ter essa entrega de selênio prejudicada para o cérebro uma vez que os receptores ApoER2 dos portadores do polimorfismo de *APOE $\epsilon 4$* são sequestrados para compartimentos intracelulares, sendo menos expressos na membrana plasmática e portanto diminuindo a interação com a SELENOP. Este trabalho teve por objetivo avaliar se a distribuição do selênio no plasma e líquido de indivíduos portadores de CCL e DA é afetada pelo alelo *APOE $\epsilon 4$* , avaliar se o estado nutricional do indivíduo em relação ao selênio afeta marcadores de assinatura biológica para DA (peptídeo beta amiloide, proteína tau e proteína tau fosforilada) e concentrações de citocinas inflamatórias. Para tanto, foram selecionadas amostras de plasma e líquido do banco de material biológico do Instituto de Psiquiatria da FMUSP, sendo 14 indivíduos do grupo CCL, 28 indivíduos do grupo DA e 28 indivíduos

controles, de ambos os gêneros, com idade acima de 60 anos e residentes na cidade de São Paulo. Foram avaliados os seguintes marcadores: concentrações de selênio no plasma e líquido, concentrações SELENOP no plasma e líquido, citocinas inflamatórias, fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e marcadores de assinatura biológica para DA. Não foi evidenciada diferença entre os três diferentes grupos em relação ao selênio e a SELENOP da mesma forma que não houve influência do genótipo *APOE ε4* nas concentrações de selênio e SELENOP, porém houve uma tendência de menores concentrações de selênio plasmático nos carreadores do alelo *APOE ε4*. Também houve uma tendência a uma menor pontuação nos testes MMSE e CAMCOG em indivíduos com menores concentrações plasmáticas de selênio. Não se evidenciou que o estado nutricional dos indivíduos em relação ao selênio influencie as concentrações de marcadores para assinatura biológica para DA e de citocinas inflamatórias, com exceção da IL-10 que apresentou correlação positiva com SELENOP plasmática. A partir desses resultados, conclui-se que o estado nutricional dos indivíduos relativo ao selênio parece não ter influência significativa em aspectos do CCL e DA e que sua distribuição não é alterada pelo genótipo *APOE ε4*.

Palavras chave: selênio; SELENOP; Doença de Alzheimer; Comprometimento Cognitivo Leve, ApoE ϵ 4; inflamação

LEME, A.G.S. *Nutritional status of subjects with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease in relation to selenium and its association with parameters that predispose to cognitive decline*. 2020 117 p. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo - Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos – Área: Nutrição Experimental, 2020.

Alzheimer's disease (AD) is the main form of dementia and one of the major challenges in the healthcare system of the 21st century. Mild Cognitive Impairment (MCI) is a stage that precedes AD and shares common metabolic pathways. The pathophysiology of AD is characterized by extensive neuronal death, presence of neuritic plaques and neurofibrillary tangles, respectively related to the accumulation of amyloid beta peptide (A β) in brain tissues and changes in the cytoskeleton that originate from hyperphosphorylation of the Tau protein in neurons. Some lines of evidence support the hypothesis that oxidative, nitrosative stress and inflammation play an important role in the pathogenesis of both AD and MCI. Selenium, an essential mineral to humans, is incorporated into the active site of 25 selenoproteins, of which at least one third has an antioxidant role, in addition to its potential in modulating the inflammatory system. Therefore, the appropriate nutritional status related to selenium seems to exert a neuroprotective effect, reducing the risk for MCI and AD and decreasing the progression of these diseases. Selenium is delivered to the brain by the interaction of selenoprotein P (SELENOP) with the ApoE2 receptor (ApoER2). Apolipoprotein E (ApoE) also interacts with ApoER2 in lipid metabolism. Thus, it can be speculated that individuals that carry apolipoprotein E ϵ 4 gene (*APOE ϵ 4*), the main genetic polymorphism that increases the risk of AD, may have impaired selenium delivery to the brain since ApoER2 receptors of the *APOE ϵ 4* carriers are sequestered to intracellular compartments, being less expressed in the plasma membrane decreasing its interaction with SELENOP. This study aimed to assess whether the distribution of selenium in the plasma and CSF of subjects with MCI and AD is affected by the *APOE ϵ 4* allele, evaluate whether the nutritional status of selenium affects biological signature markers for AD (amyloid beta peptide, tau protein and phosphorylated tau protein) and to assess the concentrations of inflammatory cytokines. For this purpose, plasma and cerebrospinal fluid (CSF) samples were selected from the biological material bank of the Institute of Psychiatry of FMUSP, with 14 subjects from the MCI group, 28 from the DA group and 28 from control subjects, both genders, aged over 60 years and São Paulo residents. The following markers were evaluated: selenium concentrations in plasma and CSF, SELENOP concentrations in plasma

and CSF, inflammatory cytokines, brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and biological signature for AD. There was no difference between the three different groups in relation to selenium and SELENOP; in addition, there was no influence of the APOE ϵ 4 genotype on selenium and SELENOP concentrations, but there was a tendency towards lower plasma selenium concentrations in the APOE ϵ 4 carriers. There was also a tendency for lower scores on the MMSE and CAMCOG tests in subjects with lower plasma selenium concentrations. It was not shown that selenium nutritional status influences the concentrations of biological signature for AD and inflammatory cytokines, with the exception of IL-10 which showed a positive correlation with plasma SELENOP. From these results, we concluded that selenium nutritional status does not seem to have a significant influence in aspects of MCI and DA and that its distribution is not altered by the APOE genotype ϵ 4.

Key Words: selenium; SELENOP; Alzheimer's Disease; Mild Cognitive Impairment, ApoE ϵ 4; inflammation

		Página
Figura 1.	Selenoproteínas e suas funções. Adaptado de Benstoem <i>et al.</i> 2015	20
Figura 2.	Metabolismo de selênio. EFSec = fator de alongação de Sec; SBP2 = proteína ligadora 2 de sequência de inserção de Sec (SECIS); Se: selênio; Sec: selenocisteína; Ser: seril. Adaptado de Cardoso <i>et al.</i> 2015.	22
Figura 3.	Domínios neurocognitivos. Seis domínios definidos pelo DSM-5 da função cognitiva e seus subdomínios. Adaptado de Sachdev <i>et al.</i> 2014.	27
Figura 4.	Processamento da proteína β -amiloide (PPA). A) Via não-amiloidogênica; B) Via amiloidogênica. Adaptada de CRUMP, JOHNSON e YM, 2013.	29
Figura 5.	Formação dos emaranhados neurofibrilares. A proteína tau em sua forma solúvel dá sustentação ao microtúbulo e ao transporte axonal. Quando ocorre a hiperfosforilação desta proteína, há formação de agregados solúveis e insolúveis que dão origem a emaranhados neurofibrilares. Adaptado de Yoshiyama, Lee e Trojanowski, 2013.	30
Figura 6.	Genes que tem sido relacionados à Doença de Alzheimer; as cores correspondem às suas funções; onde há duas cores internas, o gene tem mais de uma função; genes circulados em amarelo parecem influenciar o metabolismo da PPA; genes circulados em vermelho parecem influenciar o metabolismo de tau. (LANE, HARDY e SCHOTT, 2018).	33
Figura 7.	Interação de SELENOP com o receptor ApoER2. Adaptada de Cardoso <i>et al.</i> 2017.	41
Figura 8.	Frequência de gênero nos grupos avaliados no estudo.	51
Figura 9.	Frequência dos carreadores e não carreadores do alelo <i>APOE</i> ϵ 4 nos três grupos	54
Figura 10.	Distribuição de Selênio (plasma e líquido) e SELENOP (plasma e líquido) em carreadores (ϵ 4+) e não carreadores (ϵ 4-) do alelo <i>APOE</i> ϵ 4	56
Figura 11.	Frequência de indivíduos deficientes em selênio e não deficientes entre os três diferentes grupos.	58
Figura 12.	Distribuição de selênio e SELENOP no plasma e líquido nos diferentes grupos.	62
Figura 13.	Correlação entre selênio plasmático e selênio líquido p.62	62

Lista de Tabela

iv

		Página
Tabela 1.	Papel das selenoproteínas em relação às doenças humanas. Um efeito inibitório implica em uma ação direta no desenvolvimento da doença enquanto a mitigação refere a uma redução posterior ao dano. Efeitos contrários surgem quando a atividade da proteína está sub ou supranormal.	25
Tabela 2.	Resumo de selenoproteínas envolvidas no desenvolvimento cerebral (DIO2, DIO3, GPx4, SELENOP, Txnrd1) e/ou altamente expressas no cérebro (GPx4, Sep15, SelK, SelM, SELENOP, SelW)	36
Tabela 3.	Características sociodemográficas e metabólicas dos participantes do estudo.	50/51
Tabela 4.	Comparação entre os três grupos estudados em relação a características sociais e marcadores relacionados à cognição.	53
Tabela 5.	Frequência do genótipo <i>APOE</i> , alelos, e carreadores <i>APOE</i> ε4 versus não carreadores na população estudada.	54
Tabela 6.	Concentrações de Selênio (plasmático e líquórico) e SELENOP (plasmático e líquórico) em carreadores e não carreadores do alelo <i>APOE</i> ε4	55
Tabela 7.	Correlação de (plasma e líquor), SELENOP (plasma e líquor) e metais com os testes de cognição MMSE e CAMCOG	57
Tabela 8.	Associação entre os parâmetros de selênio e os diagnósticos de CCL e DA, presença do alelo <i>APOE</i> ε e idade em modelo de regressão linear .	58
Tabela 9.	Distribuição do gênero, idade, anos de escolaridade, adequação/deficiência de selênio e carreadores ou não do alelo <i>APOE</i> ε 4 dos pacientes, segundo os grupos.	59
Tabela 10.	Concentrações de marcadores de cognição e pontuação de testes cognitivos no grupo deficiente em selênio e não deficiente	60
Tabela 11.	Concentrações de metais (plasma e líquor) SELENOP (plasma e líquor) nos grupos controle, Comprometimento Cognitivo Leve e no grupo Doença de Alzheimer	61
Tabela 12.	Concentrações de BDNF e marcadores de demência entre indivíduos com valores de SELENOP abaixo ou acima do platô.	63
Tabela 13	Teste de correlação entre Se plasmático e líquórico.	64
Tabela 14.	Concentração de marcadores inflamatórios nos grupos controle, CCL e DA	65

Lista de Abreviatura

v

O ₂ [•]	Radical Superóxido
A β	Beta amiloide
Al	Alumínio
ATP	Adenosina Trifosfato
APOE	Apolipoproteína E
APOE R2	Receptor 2 de Apolipoproteína E
BDNF	<i>Brain derived neurotrophic fator</i>
BHE	Barreira hemato-encefálica
Ca ²⁺	Cálcio
CCL	Comprometimento Cognitivo Leve
CCl ₃	Triclorometil
Cd	Cádmio
Co	Cobalto
Cs	Césio
Cu	Cobre
DSM-V	Diagnostic and Statistical Manual
d-NTP	Deoxiribonucleoside trifosfato
DA	Doença de Alzheimer
DIO	Deiodinase
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EAR	<i>Estimated average requirement</i> (Necessidade média estimada)
EFSec	Fator de alongação específico da selenocisteína
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
Fe	Ferro
GPX	Glutationa peroxidase
GSK 3 β	<i>Glycogen synthase kinase 3</i>
Hg	Mercúrio
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
IL	Interleucina
IOM	<i>Institute of medicine</i>

K ⁺	Potássio
LPS	Lipopolissacarídeo
Mn	Manganês
Na ⁺	Sódio
NFκB	<i>Nuclear fator kappa B</i>
NO•	Óxido nítrico
OH•	Hidroxila
ONOO	Peroxinitrito
Pb	Chumbo
PPA	Precursor de proteína amilóide
RS•	Radical tiol
SBP2	Proteína ligadora de Secis
Se ²⁻	Selenide
Sec	Selenocisteína
SECIS	Sequência de inserção de selenocisteína
SelK	Selenoproteína K
SelB	Fator específico de alongação de selenocisteína
SELENOP	Selenoproteína P
SelS	Selenoproteína S
SeMet	Selenometionina
SeO ₃ ²⁻	Selenito
SeO ₄ ²⁻	Selenato
SNC	Sistema nervoso central
SePO ₃ ³⁻	Selenofosfato
SPS2	Selenofosfato sintase 2
TNF-α	Fator de necrose tumoral
Trx	Tiorredoxina
UTR	<i>Untranslated region</i>
Zn	Zinco

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1. Selênio e selenoproteínas	19
2.2. Comprometimento Cognitivo Leve e Doença de Alzheimer	26
2.3. Cognição e Selênio	34
3. HIPÓTESES EXPERIMENTAIS	42
4. OBJETIVOS.....	43
4.1. Geral.....	43
5. CASUÍSTICA.....	44
5.1. Amostragem e Seleção dos Participantes	44
5.2. Critérios de Inclusão	44
5.3. Protocolo Experimental	46
6. MATERIAL E MÉTODOS.....	47
6.1. Coleta de Material Biológico	47
6.2. Análises Bioquímicas.....	47
6.2.1. Determinação da concentração de selênio no plasma e no liquor	47
6.2.2. Determinação do perfil lipídico e glicemia de jejum	48
6.2.3. Determinação da insulina	48
6.2.4. Determinação de marcadores inflamatórios	48
6.2.5. Determinação da concentração da Selenoproteína P	48
6.2.6. Determinação das concentrações líquóricas de T-Tau, P-Tau e A β ₁₋₄₂	48
6.2.7. Determinação do genótipo APOE	48
6.2.8. Determinação das concentrações de BDNF	49
6.3. Análise estatística.....	49
7. RESULTADOS	50
7.1. Caracterização da população de estudo	50
7.2. Parâmetros Relacionados ao genótipo APOE ϵ 4	53
7.3. Biomarcadores de demência	56
7.4. Marcadores de selênio.....	57
7.5. Marcadores inflamatórios	63
8. DISCUSSÃO.....	66
8.1. Selênio, selenoproteína P e cognição.....	66
8.2. Selênio, selenoproteína P e genótipo APOE ϵ 4	71
8.3. Marcadores inflamatórios, selênio e demência.....	72
9. CONCLUSÃO.....	75
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
ANEXOS.....	93
ANEXO 1- Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa HC FMUSP/CEP. 94	
ANEXO 2- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	98
ANEXO 3- Ficha do Aluno	105
ANEXO 4- Questionários CAMCOG e MMSE.....	109

1. INTRODUÇÃO

O envelhecimento da população tem tido um profundo impacto no perfil de saúde com o aumento de doenças não-comunicáveis. As doenças demenciais, caracterizadas por uma deterioração da capacidade cognitiva e incapacidade de independência, vem crescendo de forma progressiva e consistente. De acordo com dados da *Alzheimer's Disease International* em 2015, 48 milhões de pessoas em todo o mundo sofriam de demência, e este número está projetado para crescer, podendo chegar a 131 milhões em 2050. A cada ano, perto de 10 milhões de pessoas desenvolvem demência com uma idade média de diagnóstico em torno de 80 anos (*Alzheimer's Disease International*, 2016).

A Doença de Alzheimer (DA) é a principal forma de demência e um dos grandes desafios no sistema de saúde do século 21. Dados da *Alzheimer's Disease International* estimam que 35,6 milhões de pessoas eram afetadas em todo o mundo em 2010, e projeções indicam que 115 milhões de pessoas serão acometidas em 2050 (*Alzheimer's Disease International*, 2015) No Brasil, a estimativa é de que haja cerca de 1,1 milhão de casos de demência. Entre as pessoas de 65 anos ou mais, a prevalência é de 8% sendo a DA a causa mais comum (55% dos casos), o que vai ao encontro de dados internacionais (NITRINI *et al.*, 2004 e CAMOZZATO *et al.*, 2009).

Já o estágio anterior à Doença de Alzheimer é o Comprometimento Cognitivo Leve (CCL), que se refere ao declínio cognitivo em idosos mais acentuado do que no envelhecimento normal, representando um estado intermediário entre envelhecimento normal e o patológico ou mais comumente, um estado prodromático de uma síndrome demencial (PETERSEN *et al.*, 1999). O *Diagnostic and Statistical Manual-V* (DSM-V, *American Psychiatric Association*, 2015) também denomina a condição de CCL como diagnóstico de 'transtorno neurocognitivo menor', em que não há comprometimento da realização das atividades do cotidiano, e reconhece essa desordem como um possível estágio que antecede a demência. Embora a presença de CCL não seja determinante para a evolução de uma demência, reconhece-se que o risco aumenta quando há transtorno neurocognitivo menor. Neste estágio há queixa de memória episódica como o comprometimento mandatório da cognição. Há estudos que apontam para uma taxa de conversão de CCL para demência entre 10 a 12 % ao ano, sendo esta incidência maior quando comparada à indivíduos com cognição preservada com a mesma idade (1 a 2%) (FORLENZA, 2013).

Evidências sugerem que o estresse oxidativo e nitrosativo, bem como o processo inflamatório tenham um papel central na patogênese do CCL e de DA. E na DA, esses dois

fenômenos contribuem para a formação de placas senis e emaranhados neurofibrilares, características fisiopatológicas da doença (CHAUHAN e CHAUHAN, 2006; HEPPNER, RANSOHOFF e BECHER, 2015).

Sendo o cérebro um órgão com metabolismo extremamente elevado, que consome em torno de 20% do oxigênio de todo o corpo, possui altas quantidades de ácidos graxos poli-insaturados e concentrações diminuídas de enzimas antioxidantes, é um dos órgãos mais vulneráveis aos danos provocados pelas espécies reativas de oxigênio (EROs), o que pode explicar o envolvimento do estresse oxidativo em diversas doenças neurológicas e psiquiátricas como doença de Parkinson, esclerose lateral amiotrófica, demência, depressão, entre outras (MAES *et al.*, 2011, DRINGEN, 2000 e PALTA *et al.*, 2014, ISLAM, 2017). O aumento do estresse oxidativo gera alterações morfológicas e funcionais, que afetam árvores de dendritos e sinapses, a neurotransmissão, a circulação e o metabolismo, que são refletidos em alterações motoras e sensoriais, sono, memória e aprendizado; o aumento do estresse oxidativo precede a perda de várias proteínas sinápticas e isso pode contribuir para a degeneração sináptica levando à alterações nas funções cognitivas (BOURDEL-MARCHASSON *et al.* 2001; MARIANI *et al.*, 2005; ANSARI e SCHEFF, 2010).

Desta forma, a busca por elementos com ação antioxidante em nível cerebral, se torna de grande valia. Recentemente, o elemento-traço selênio tem se tornado objeto de estudo em função de um número crescente de evidências mostrando sua importância no funcionamento normal do cérebro e também um possível efeito neuroprotetor que poderia beneficiar um quadro de demência. Em condições de baixo suprimento de selênio, o cérebro tende a manter suas concentrações constantes, mostrando assim haver uma hierarquia entre os órgãos, estando o cérebro no topo dela em termos de prioridade, isto por quê sua deficiência causa danos irreversíveis aos tecidos neuronais (HAWKES e HORNBOSTEL, 1996, ZACHARA *et al.*, 2001, CHEN e BERRY, 2003, HARATAKE, KOGA e INOUE, 2011). Em humanos, as baixas concentrações sanguíneas de selênio estão significativamente associadas com declínio cognitivo (CARDOSO, 2014, HAWKES e HORNBOSTEL, 1996 e BERR *et al.*, 2000).

Adicionalmente, o selênio faz parte da selenoproteína P (SELENOP), que é uma proteína responsável por transportar selênio no organismo de mamíferos além de possuir propriedades antioxidantes (SOLOVYEV *et al.*, 2018). Um experimento conduzido em camundongos transgênicos mostrou que a deleção do gene da *SELENOP* ou de seu receptor, o receptor de apolipoproteína E R2 (*APOE R2*), causou prejuízo neurológico espontâneo e degeneração (BURK *et al.*, 2007). A SELENOP é a selenoproteína mais abundante no líquido e há uma alta concentração no cérebro (STEINBRENNER e SIES, 2013). Em se tratando de uma

selenoproteína com potencial antioxidante e ainda capaz de fornecer selênio para o cérebro, é de grande importância o entendimento do papel desta na fisiopatologia do CCL e DA.

Na última década, alguns estudos apontam para a ação de substâncias antioxidantes e anti-inflamatórias para diminuir o risco para doença de Alzheimer e até mesmo atenuar o declínio cognitivo (DYSKEN *et al.*, 2014 e Li *et al.*, 2012, BASAMBOMBO *et al.*, 2017, DAS, DASGUPTA e RAY, 2019). Neste sentido, tem-se dado grande atenção a minerais que desempenham função antioxidante e moduladora da inflamação, sendo o selênio um deles.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Selênio e selenoproteínas

O selênio (Se) é considerado um elemento traço essencial para manutenção da saúde no ser humano uma vez que desempenha diversas funções fisiológicas. Ele existe naturalmente na forma orgânica (selenometionina, selenocisteína) e na forma inorgânica (selenite, selenato e selenide). No entanto, os compostos de selênio precisam ser catabolizados ao precursor inorgânico antes de serem inseridos em proteínas como o aminoácido selenocisteína (Sec) que é essencial para a função catalítica de selenoenzimas. A selenocisteína é considerada como 21º aminoácido, tendo um radical selenol ao invés do tiol encontrado na cisteína (SCHWEIZER *et al.*, 2004).

O Se está presente em 25 selenoproteínas já identificadas no proteoma humano com ações biológicas essenciais e que possuem a selenocisteína em seu centro ativo; a maior parte das selenoproteínas possui atividade antioxidante, mas outros processos específicos também têm sido relacionados às selenoproteínas, incluindo biossíntese de deoxiribonucleoside trifosfato (dNTPs) para DNA, redução de proteínas oxidadas, regulação redox de fatores de transcrição, regulação de apoptose, modulação imune, regulação de hormônios tireoideanos e transporte e armazenamento de Se. (ARTHUR *et al.*, 2003; MOGHADASZADEH e BEGGS, 2006; PAPP *et al.*, 2007; WEEKS *et al.*, 2012, NAVARRO e CAVRERA, 2008, ROMAN, JITARU e BARBANTE, 2014).

O Se exerce suas funções fisiológicas por meio da ação das selenoproteínas, sendo que algumas têm importantes funções enzimáticas. Dentre as funções atribuídas às selenoproteínas, destacam-se: a) enzimas antioxidantes essenciais, b) reguladoras dos hormônios e função tireoideana, c) proteínas estruturais do esperma necessárias para fertilidade, e d) redução da virulência associada com infecções virais. Dentre as selenoproteínas com ação antioxidante, destacam-se as classes das glutatona peroxidases (GPx), tioredoxinas redutases (TrxR), iodotironinas deiodinases (DIO) e selenoproteína P (SELENOP) (Figura 1) (WEEKS, HANNA e COOPERSTEIN, 2012).



Figura 1: Selenoproteínas e suas funções. Adaptado de Benstoem *et al.* 2015

Para que as selenoproteínas tenham um funcionamento ótimo, há que se ter um suprimento adequado de selênio; a entrada deste no organismo humano se dá pela dieta. O total de Se na dieta varia de forma bastante significativa de acordo com o tipo de comida, sua composição e o solo de cultivo. Assim, a quantificação da ingestão de Se pela dieta se torna um desafio em função dessas variações geográficas (ROMAN, JITARU e BARBANTE, 2014). Estudo de Martens e Cozzolino (2002) mostrou que até mesmo dentro de um mesmo país, as concentrações de Se podem variar de forma bastante significativa. Eles observaram que feijões cultivados no estado de São Paulo apresentaram concentrações menores que os feijões cultivados no estado do Ceará, onde o solo é rico em Se. Um outro aspecto a se considerar em relação ao Se, é a forma química em que ele se encontra nos alimentos, formas essas que terão diferentes biodisponibilidades. Portanto, é difícil a obtenção de estimativas precisas da ingestão habitual de Se. Ferramentas para avaliação de ingestão como recordatórios alimentares, diários alimentares e questionários tornam-se de valor limitado em função desta alta variabilidade e de tabelas pouco precisas (FAIRWEATHER-TAIT *et al.*, 2011).

A selenometionina (SeMet) é a principal forma química do Se na maior parte das dietas humanas e animais; está presente nos alimentos tanto de origem vegetal como animal, e junto com outras formas químicas, atua como precursor da síntese de Sec em animais (PAPP *et al.*, 2007, BURK e HILL, 2015). As fontes alimentares com maior teor de selênio são alimentos de origem animal e grãos integrais. A castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*

H.B.K.) é considerada a melhor fonte de selênio, devido ao alto teor e ótima biodisponibilidade do mineral. Em vista disto, tem sido utilizada como uma alternativa de suplementação alimentar desse elemento (RAYMAN, 2008; YANG *et al.*, 2009, COMINETTI *et al.*, 2011b, CARDOSO *et al.*, 2016).

O selênio normalmente é bem absorvido pelo organismo, no entanto, a depender de sua forma química, a taxa de absorção pode variar. As formas inorgânicas são absorvidas de forma mais eficiente mas parecem ter uma menor taxa de retenção no organismo em comparação às formas orgânicas (BURK *et al.*, 2006). A absorção de selenito depende de um gradiente Na^+/K^+ e ATPase, já o selenato é absorvido em especial no duodeno por difusão simples. A SeMet é absorvida no intestino delgado por um transportador, por meio de um transporte duplo ativo de Na^+ e aminoácidos neutros. Um dos seus destinos uma vez absorvido é a inserção aleatória em proteínas na posição da metionina na proporção de sua concentração relativa à metionina. Já em relação à Sec, pouco se sabe sobre sua absorção, apenas que é absorvida de acordo com sua incorporação às selenoproteínas (SUZUKI *et al.*, 2005).

A síntese de selenoproteínas se dá por meio do Se advindo da dieta, que pode ser tanto o orgânico (SeMet e Sec) como o inorgânico [selenato (SeO_4^{2-}) e selenito (SeO_3^{2-})] (Figura 2). Estas formas são convertidas à selenide (Se^{2-}), a qual é usada para sintetizar selenofosfato (SePO_3^{3-}) para a incorporação nas proteínas através de um caminho único de tRNA. A Sec é sintetizada por um tRNA (RNAt[Ser]Sec) que apresenta um resíduo de serina que é substituído por uma Sec. Assim, a RNAt[Ser]Sec codifica um códon UGA, que é normalmente identificado como um *stop codon*, mas passa a ser lido como um códon *sense* para incorporar o Se em uma sequência de aminoácidos de selenoproteínas. A Sec é incorporada à cadeia nascente de polipeptídeos na qual existe uma estrutura conhecida como elementos de sequência de inserção de Sec (SECIS), localizada na região 3' não codificada (UTRs). Este elemento SECIS recruta uma proteína ligadora de substrato (SBP2), que captura uma elongação específica do fator Sec (EFSec) e seu cognato RNAt[Ser]Sec tRNA (LABUNSKYY *et al.*, 2014). A maioria dos RNAm das selenoproteínas, exceto a SELENOP, contém um único resíduo de Sec por cadeia peptídica (REEVES e HOFFMANN, 2009; KOSSINOVA *et al.*, 2013).

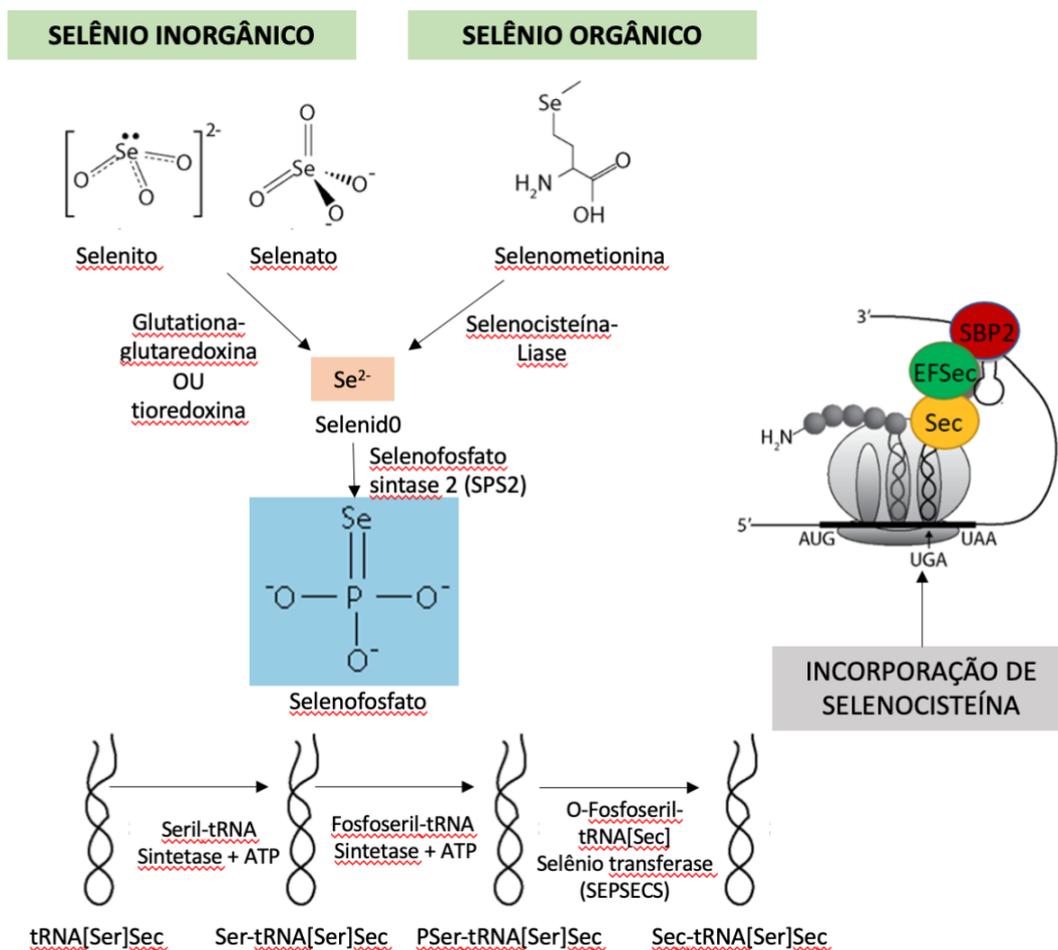


Figura 2: Metabolismo de selênio. EFSec = fator de alongação de Sec; SBP2 = proteína ligadora 2 de sequência de inserção de Sec (SECIS); Se: selênio; Sec: selenocisteína; Ser: seril. Adaptado de Cardoso *et al.* 2015.

O Se é considerado um elemento essencial que apresenta uma janela curta entre a deficiência, a essencialidade e a toxicidade; a avaliação das necessidades nutricionais é um tema de constante debate (DUMONT, VANHAECKE e CORNELIS, 2006). Há alguns anos a avaliação do estado nutricional dos indivíduos relativo ao Se se dava pelo total do elemento em tecidos ou fluidos corporais. As concentrações no plasma e soro eram consideradas biomarcadores do estado nutricional e também de sua ingestão a curto prazo, ao passo que as concentrações nos eritrócitos seriam reflexo de exposição a longo prazo (THOMSON, 2004). Posteriormente, começou-se a considerar também a atividade e concentração de selenoproteínas como biomarcadores do estado nutricional deste mineral. Neste sentido, o parâmetro mais utilizado foi a atividade plasmática da selenoproteína glutaciona peroxidase (GPx3) (BURK e HILL, 2005).

Em vista disto, o estabelecimento de recomendações de ingestão para este elemento traço foi baseado na maximização da atividade da GPx, que corresponde a concentrações de 84-100 mcg/L de selênio no plasma sendo este um platô que não se altera pelo acréscimo de Se (THOMSON, 2004). Com base em dois estudos de intervenção realizados na China e na Nova Zelândia, estabeleceu-se o valor da necessidade média estimada (*Estimated Average Requirement – EAR*) de 45 µg/dia para homens e mulheres com idades entre 19 e 70 anos (IOM, 2000). No entanto, há estudos mais recentes sugerindo que a SELENOP é um melhor biomarcador do *status* de Se e que a determinação da recomendação de ingestão deveria ser a partir do valor em que se atinge o platô desta, que corresponde a uma concentração de Se plasmático de 100 a 120 µg/L (HURTS *et al.*, 2013; KIPP *et al.*, 2015; COMBS, 2015 e BRODIN *et al.*, 2020). Segundo a *European Food Safety Authority* (EFSA), a ingestão de Se para se atingir o platô da SELENOP seria de 60 µg/dia para mulheres e 70 µg/d para homens (EFSA, 2014).

A SELENOP, diferentemente das outras selenoproteínas, contém dez resíduos de selenocisteína. Por ter essa grande quantidade de selenocisteínas, é considerada uma proteína transportadora de selênio (ZHANG *et al.*, 2010 e SOLOVYEV *et al.*, 2018). Ela é uma proteína glicosilada produzida principalmente no fígado e posteriormente secretada no plasma onde incorpora a maior parte do Se; ela é também expressa e secretada por outros tecidos incluindo o cérebro e o coração (ROMAN, JITARU e BARBANTE, 2014). Altas concentrações de SELENOP são encontradas no cérebro, exercendo assim um importante papel na homeostase do Se central (SOLOVYEV *et al.*, 2018). Em condições de deficiência, a SELENOP parece ser responsável por manter preferencialmente a entrega de Se para o cérebro e testículos por um mecanismo distinto dos de outros órgãos (HILL *et al.*, 2003 e SCHOMBURG *et al.*, 2003); alguns estudos ainda mostram que a SELENOP está associada com a resposta e progressão da doença de Alzheimer (DA) (BELLINGER *et al.*, 2008 e RUELI *et al.*, 2015).

A atividade bioquímica da SELENOP não foi totalmente elucidada mas existem indicações sobre um possível papel antioxidante. As concentrações de SELENOP plasmáticas se correlacionam com a redução da peroxidação de lipídeos e de lipoproteínas de baixa densidade (BURK e HILL, 2005 e TRAULSEN *et al.*, 2004). No cérebro, a SELENOP pode atuar tanto como uma carreadora de Se para células da glia e neurônios como uma enzima antioxidante *per se*. Adicionalmente, o Se entregue ao cérebro mantém concentrações adequadas de outras selenoproteínas essenciais como as GPx1, a GPx4, a

selenoproteína K dentre outras (SOLOVYEV, 2020). Por fim, as altas quantidades de resíduos ricos em histidina e cisteína a tornam uma proteína com alta capacidade de ligação a metais de transição como o cobre e o ferro, os quais estão envolvidos em processo de neurodegeneração na DA (SUTHERLAND *et al.*, 2013).

Diversos estudos vêm apontando que a deficiência de Se está associada com o risco de desenvolvimento de algumas patologias ou mesmo aumento de progressão das mesmas (Tabela 1) (BROWN e ARTHUR, 2001; PETERS *et al.*, 2007; RAYMAN, 2008, CARDOSO, 2014, ROMAN, JITARU e BARBANTE, 2014). No Brasil, há estudos que associam a deficiência de selênio com algumas doenças como insuficiência renal crônica com hemodiálise, doença de Alzheimer, obesidade, diabetes *mellitus* tipo 1 e choque séptico (STOCKLER-PINTO *et al.*, 2010; COMINETTI *et al.*, 2012; PIRES, 2012; COSTA *et al.*, 2014). Cardoso *et al.* (2014) também mostraram redução nas concentrações de selênio eritrocitário à medida em que há declínio cognitivo em idosos.

Tabela 1. Papel das selenoproteínas em relação às doenças humanas. Um efeito inibitório implica em uma ação direta no desenvolvimento da doença enquanto a mitigação refere a uma redução posterior ao dano. Efeitos contrários surgem quando a atividade da proteína está sub ou supranormal.

Doença	Selenoproteína	Papel	Mecanismo
Doenças musculares	SelN, SelW	Prevenção	Homeostase da sinalização de Ca ²⁺
Doenças cardiovasculares	GPxs, TrxRx, SelR	Prevenção/Redução	Defesa antioxidante
	DIO1	Prevenção/Redução	Aumento de T3 para metabolismo lipídico
	SelS	Prevenção	Não conhecido
Hepatopatias	GPxs	Redução	Defesa antioxidante
Insuficiência renal	GPxs	Prevenção/Redução	Defesa antioxidante
Epilepsia, desordens de humor	GPxs	Prevenção	Defesa antioxidante
Desordens neurológicas	SelP, GPxs, TrxRs	Redução	Defesa antioxidante
	SelW, SelH, SelM		
Resposta Inflamatória	TrxRs	Promoção	Regulação precoce da sinalização imune celular
	GPxs	Inibição	Regulação avançada da sinalização imune celular
	SelS	Inibição	Defesa antioxidante, regulação de citocinas
HIV	GPxs, outras	Redução	Defesa antioxidante
Diabetes tipo 2	GPxs	Promoção/Redução	Inibição da sinalização de insulina/defesa antioxidante
	SelP	Promoção	Inibição da síntese de insulina
	TrxRs	Prevenção/Redução	Estímulo da sinalização de insulina/defesa antioxidante
Desordens endócrinas	DIOs	Prevenção	Regulação do metabolismo dos hormônios tireoideanos
Infertilidade masculina	GPx4	Prevenção	Defesa antioxidante, suporte estrutural
Câncer	GPxs, SelP, TrxRs	Prevenção	Defesa antioxidante

Considerando o estado nutricional da população brasileira com relação ao Se, pode-se observar deficiência em algumas regiões (DONADIO, 2011; COLPO *et al.*, 2013; ROCHA *et al.*, 2014). No entanto, estudo realizado em Fortaleza (CE) (SANTOS, 2013) onde o solo é mais rico em Se, as médias do mineral encontradas no plasma e eritrócitos dos indivíduos foram acima dos observados em outras regiões, como por exemplo São Paulo. Estudo conduzido por Donadio *et al.*, (2011) em indivíduos residentes na região de São Paulo, observou concentrações de Se plasmático e eritrocitário abaixo dos valores de referência, o que pode ser explicado pelo consumo de alimentos provenientes de com baixas concentrações do mineral. Também em São Paulo, Cardoso *et al.* (2014) mostrou baixas concentrações de Se plasmáticos e eritrocitários em pacientes com Comprometimento Cognitivo Leve e Doença de Alzheimer.

2.2. Comprometimento Cognitivo Leve e Doença de Alzheimer

Comprometimento Cognitivo Leve (CCL) é o termo usado para indivíduos que estão entre aqueles que apresentam as mudanças cognitivas advindas da idade e aqueles com demência precoce. O comprometimento cognitivo marcadamente representa um aumento no risco de agravamento do quadro no decorrer dos anos podendo evoluir para demência. A taxa de progressão para demência entre as pessoas com CCL é de 10 a 12% ao ano, enquanto que pessoas com cognição preservada, a taxa de conversão é de 1 a 2% ao ano (FORLENZA 2013).

A prevalência de CCL em indivíduos com 65 anos ou mais é em torno de 3 a 22%, dependendo da demografia da população estudada (PETERSON *et al.*, 2010). A prevalência real pode ser de difícil determinação uma vez que as pontuações de diversos testes não foram ainda padronizados e pode haver variações de definições entre os estudos (PANDYA *et al.*, 2016). Existem diversos fatores de risco para aumentar as chances de desenvolver CCL, entre eles a idade sendo o mais forte, mas também gênero, presença do gene apolipoproteína $\epsilon 4$ (*APOE* $\epsilon 4$), histórico familiar de CCL, e a presença de riscos vasculares como hipertensão, hiperlipidemia, doença coronariana e acidente vascular (NG *et al.*, 2016)

A função cognitiva é tipicamente caracterizada por seis domínios: 1) aprendizado e memória, 2) linguagem, 3) função visual-espacial, 4) função executiva, 5) função motora e 6) funcionamento social (Figura 3). Para o diagnóstico de CCL, apenas um destes domínios deve estar alterado (KNOPMAN e PETERSON, 2014 e SACHDEV *et al.*, 2014) mas normalmente o termo CCL refere-se ao declínio nas habilidades de aprendizado de novas

informações ou lembrança de informações armazenadas. A maior parte das pessoas passa por um processo de declínio cognitivo ao envelhecer, mas o CCL excede esse declínio do envelhecimento sem ainda atender ao critério de demência (SANFORD, 2017).

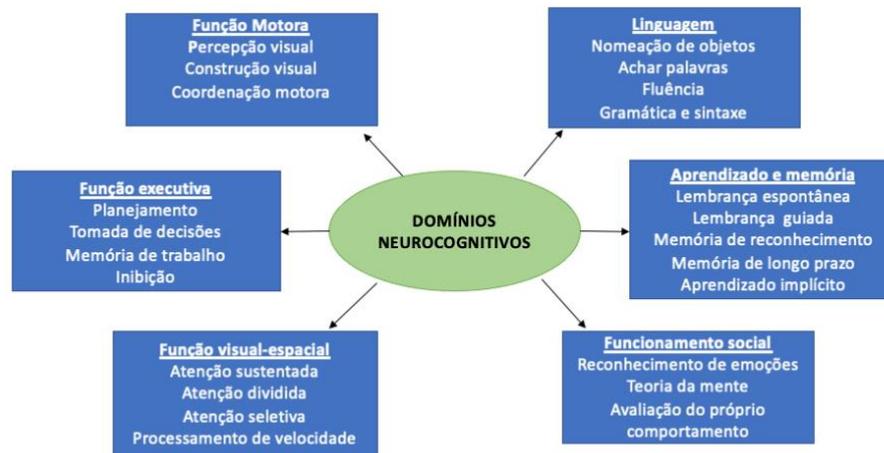


Figura 3: Domínios neurocognitivos. Seis domínios definidos pelo DSM-5 da função cognitiva e seus subdomínios. Adaptado de Sachdev *et al.* 2014

Para se distinguir CCL de demência, é necessário avaliar se a independência de habilidades funcionais do dia a dia está preservada e se não há prejuízo significativo em funções sociais e ocupacionais. Se estes critérios forem atendidos, podemos dizer que é um quadro de CCL e não de demência (ALBERT *et al.*, 2011). O CCL por fim é definido baseando-se na presença ou ausência de dificuldades de memória (amnésico vs não-amnésico) além dos domínios citados acima. O CCL do tipo amnésico caracteriza-se pela evidente perda de memória e apresenta biomarcadores similares à Doença de Alzheimer; já o CCL não amnésico, não há perda de memória aparente e normalmente está correlacionado com patologias como degeneração do lobo fronto temporal e com demência com corpos de Lewis (PETERSON, 2011).

Em relação às demências, o principal fator de risco para seu desenvolvimento é a idade, sendo a incidência de DA entre 65 e 70 anos de idade por volta de 0,5%, dobrando a cada cinco anos a partir dessa faixa etária. A doença com início pré-senil é pouco comum; a prevalência do quadro de demência antes dos 50 anos é de menos de 1 a cada 4000 mil, sendo 30% dos casos de DA (LAMBERT *et al.*, 2014). Alterações em alguns genes predis põem à doença com início pré-senil, sendo os mais conhecidos o peptídeo precursor de amiloide (APP), presenilina 1 (PSEN1) e presenilina 2 (PSEN2) (CHOURAKI e

SESHADRI, 2014).

Um número crescente de evidências sugere que há outros fatores de risco para o desenvolvimento de DA além da idade, entre eles diabetes, obesidade, inatividade física e mental, depressão, tabagismo, baixo grau de escolaridade e dieta. Desta maneira, o potencial na prevenção primária destes fatores modificáveis é muito grande e pode ser bastante explorado (NORTON *et al.*, 2014). Com base nos estudos de Rotterdam, tem-se preconizado que a eliminação dos sete mais importantes fatores modificáveis levaria a uma redução de 30% na incidência de demência. Esses achados mostram tanto o potencial com a redução de fatores de risco como a necessidade de outras estratégias terapêuticas para os 70% dos casos restantes (DE BRUIJN, 2015).

Dois grandes marcadores da fisiopatologia da Doença de Alzheimer são a presença de placas neuríticas e de emaranhados neurofibrilares; eles são respectivamente relacionados ao acúmulo de peptídeo beta amiloide ($A\beta$) em tecidos cerebrais e alterações no citoesqueleto originados da hiperfosforilação da proteína tau nos neurônios. De acordo com a hipótese amiloide, o acúmulo de placas $A\beta$ atua como um gatilho patológico para uma cascata de dano neurítico, formação de emaranhados neurofibrilares via proteína tau levando à disfunção neuronal e morte celular (BARAGE e SONAWANE, 2015).

A produção aumentada de placas $A\beta$ é uma consequência da ruptura do processo que regula a clivagem proteolítica do Precursor de Proteína Amilóide (PPA), uma glicoproteína encontrada em grandes quantidades no sistema nervoso central (SNC). As PPAs são metabolizadas por dois caminhos distintos e mutuamente exclusivos: o caminho secretório (ou não amiloidogênico) e o caminho amiloidogênico (Figura 4). Os peptídeos $A\beta$ são gerados por clivagens sucessivas de PPA por alfa (α), beta (β) e gama (γ)-secretases. No caminho secretório, a PPA é clivada pela α -secretase, liberando o fragmento N-terminal solúvel (sPPAa) e o fragmento C-terminal (C83), o qual é ainda clivado por uma gama-secretase para originar o fragmento menor C-terminal. Já no caminho amiloidogênico, a PPA é alternativamente clivada pela β -secretase, liberando um peptídeo menor sPPA β e um fragmento C-terminal maior (C99) que contém uma sequência amiloidogênica de aminoácidos. Uma clivagem adicional de PPA pela γ -secretase origina o peptídeo neurotóxico $A\beta$, o qual se polimeriza em oligômeros que se agregam em fibrilas amilóides formando as placas senis e neuríticas (CRUMP, JOHNSON e YM, 2013). Dentre as diversas isoformas de $A\beta$ possíveis de se formarem, o peptídeo $A\beta_{1-42}$ possui um papel crucial na patogênese da DA pois é o que tem o maior potencial em se agregar, sendo o mais

neurotóxico dos peptídeos. Esse processo, junto com a diminuição na remoção de A β , leva ao acúmulo extracelular de A β e subsequente ativação de cascata neurotóxica levando à alterações no citoesqueleto, disfunção neuronal e morte celular (DE PAULA, 2012).

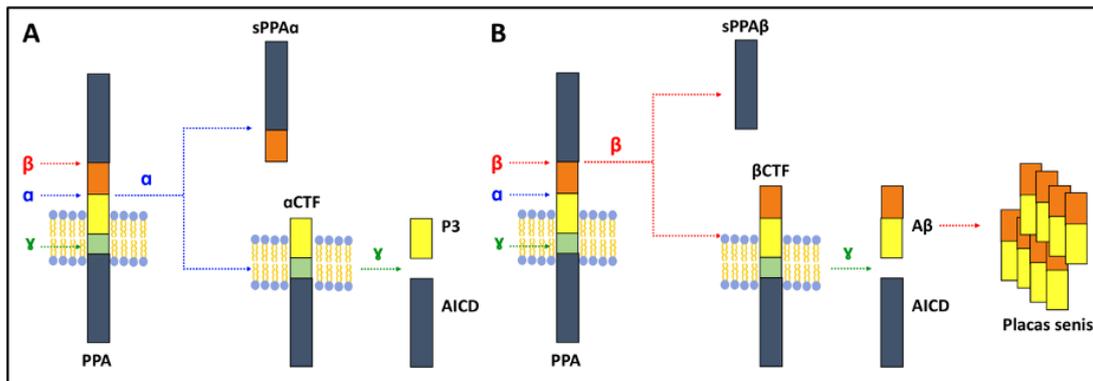


Figura 4: Processamento da proteína β -amiloide (PPA). A) Via não-amiloidogênica; B) Via amiloidogênica. Adaptada de CRUMP, JOHNSON e YM, 2013

Os oligômeros A β interagem com neurônios e células da glia levando à ativação da cascata pró-inflamatória, disfunção mitocondrial e aumento de estresse oxidativo (SANZ-BLACO *et al.*, 2008), prejuízo da sinalização intracelular de plasticidade sináptica, aumento da fosforilação de tau, aumento na atividade da glicogênio sintase quinase-3 β (GSK-3 β), regulação do metabolismo de cálcio, indução de apoptose neuronal e morte celular (ROBERTS *et al.*, 1994)

Já as proteínas tau, são encontradas principalmente em neurônios e pertencem à família de proteínas associadas a microtúbulos; elas exercem um papel importante na organização de microtúbulos e na estabilização da rede de microtúbulos neuronais, sendo essenciais para manutenção da estrutura neuronal, transporte axonal e plasticidade neuronal (BARAGE e SONAWANE, 2015). Dentro do axônio, existe um gradiente de fosforilação e alterações no padrão de fosforilação de tau ocorrem no processo de remodelamento do citoesqueleto, sendo um processo crítico para promoção de plasticidade sináptica. Um padrão anormal de fosforilação de tau afeta negativamente sua habilidade em se ligar à tubulina, desestabilizando a estrutura de microtúbulos; a proteína se dissocia dos microtúbulos e se agrega sob a forma de filamentos helicoidais insolúveis e estes formam os emaranhados neurofibrilares (BALLARD *et al.*, 2011). Embora mais de um século tenha se passado desde as primeiras descrições fisiopatológicas da DA, os mecanismos que levam a formação de placas A β e emaranhados neurofibrilares permanecem elusivos; nenhuma das

duas hipóteses esgotam o amplo espectro das alterações patológicas da DA (ROTTKAMP, 2000, DE PAULA, 2012). Desta forma, algumas hipóteses alternativas e complementares têm sido propostas.

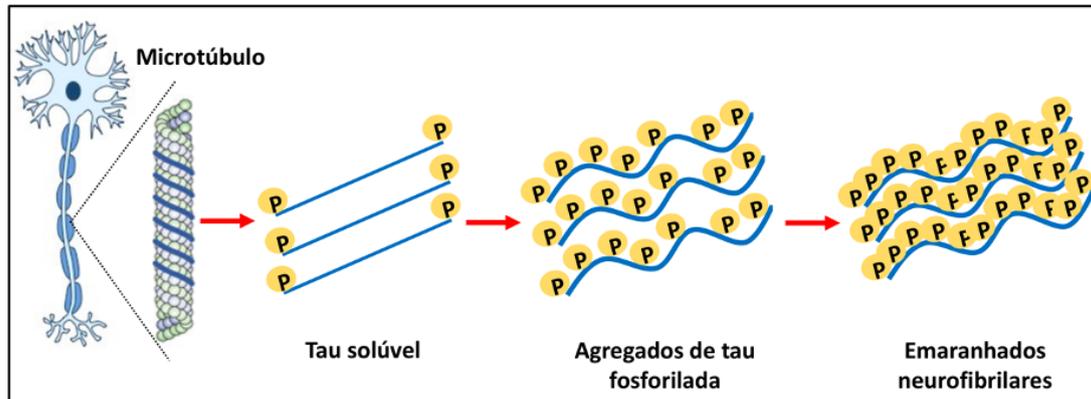


Figura 5: Formação dos emaranhados neurofibrilares. A proteína tau em sua forma solúvel dá sustentação ao microtúbulo e ao transporte axonal. Quando ocorre a hiperfosforilação desta proteína, há formação de agregados solúveis e insolúveis que dão origem a emaranhados neurofibrilares. Adaptado de Yoshiyama, Lee e Trojanowski, 2013.

Algumas linhas de evidência sustentam a hipótese de que o estresse oxidativo, nitrosativo e a inflamação tenham um papel importante na patogênese tanto da DA como do CCL, causando danos a elementos celulares vitais como ácidos nucleicos, lipídeos e proteínas (SMITH *et al.*, 2010, SULTANA, PERLUIGI e BUTTERFIELD, 2009, CENINI *et al.*, 2009, GUGLIELMOTTO, 2010, GLASS *et al.*, 2010). Muitos mediadores inflamatórios já foram detectados em concentrações elevadas em várias regiões do cérebro de pacientes com DA em função da ativação de astrócitos e da micróglia, que desempenham um papel chave na patogênese inflamatória (VASTO *et al.*, 2007 e VASTO *et al.*, 2008). Esta ativação faz com que haja um aumento na produção de mediadores inflamatórios como citocinas, fatores de crescimento e de coagulação, moléculas de adesão, prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos, óxido nítrico e proteína C-reativa (PCR). Estas substâncias, por sua vez, potencializam a produção da PPA e de emaranhados neurofibrilares, cujo processamento leva à maior deposição de A β , criando um ciclo vicioso (GLASS *et al.*, 2010, LATTA, 2015, LEE *et al.*, 2010).

As citocinas influenciam a atividade, diferenciação, proliferação e sobrevivência de células imunes e estão envolvidas na regeneração neuronal e também na regulação da produção e atividade de outras citocinas, mantendo o estado de homeostase (STOL,

JANDER e SCHROETER, 2000). Assim, até certo valor, as citocinas exercem funções importantes e necessárias ao organismo humano (DAS e BASU, 2008). No entanto, um desequilíbrio nesta homeostase pode trazer danos para a estrutura cerebral no envelhecimento; neste contexto, indivíduos carreadores de genótipos inflamatórios teriam maior risco de desenvolver doenças associadas à idade como DA (GIUNTA *et al.*, 2008). Estudo de Magalhães *et al.* (2018) mostrou que a inflamação periférica está associada à biomarcadores da DA; eles observaram que pacientes com CCL amnésico e DA que possuíam maiores concentrações de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β) tinham maiores concentrações de proteína tau líquórica e menores concentrações de peptídeo A β ₁₋₄₂ líquórico. Assim, especula-se que a inflamação periférica possa servir como um indicador de declínio cognitivo (MAROTTOLI *et al.*, 2017) contudo, vale ressaltar, que não foi estabelecido se a inflamação é causa ou consequência do quadro de CCL e DA (WYSS-CORAY e ROGERS, 2012)

Em relação ao estresse oxidativo, é sabido que os emaranhados neurofibrilares aumentam a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e de espécies reativas de nitrogênio (ERNs), desencadeiam desequilíbrio mitocondrial, seguida de morte neuronal, sendo esta uma característica marcante da doença. Adicionalmente, o peptídeo A β pode induzir a ativação do fator de transcrição do fator nuclear kappa B (NF κ B), aumentando desta forma a via inflamatória (REDDY, 2011, YE, TAI e ZHANG, 2012, YOSHIYAMA, LEE e TROJANOWSKI, 2013).

O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre as EROs e ERNs, e os mecanismos fisiológicos de defesas antioxidantes, representado por enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, glutatona peroxidase, catalase, etc) e por outros componentes com ação antioxidante não enzimáticos (alfa-tocoferol, beta-caroteno, ácido ascórbico, etc). O aumento do estresse oxidativo ou a baixa defesa antioxidante podem levar à progressão de diversas patologias como diabetes, aterosclerose, doenças cardiovasculares, DA, doença de Parkinson, desordens psiquiátricas como déficit de atenção e hiperatividade e esquizofrenia, câncer entre outras (UTTARA *et al.*, 2009, THANAN *et al.*, 2015). Inflamação e processo oxidativo geram radicais livres, que são espécies químicas altamente reativas, com um ou mais elétrons não pareados tais como radicais superóxido (O₂•⁻), hidroxila (OH•), tiol (RS•), triclorometil (CCl₃•) e óxido nítrico (NO•). Quando a formação dessas espécies se excede, ou quando o sistema antioxidante se consome, as EROs e as ERNs podem reagir com macromoléculas da célula como ácidos graxos, DNA, proteínas, etc causando danos à essas

estruturas. Intracelularmente, as EROs são principalmente geradas pela cadeia de transporte de elétrons mitocondrial e por enzimas redox como a óxido nítrico sintase desacoplada, isoformas da citocromo P-450, e subtipos da NADPH oxidase (NOXs) na forma de superóxido (COMINETTI *et al.*, 2011a).

Existem também fatores de risco genéticos em relação ao início tardio sendo o principal polimorfismo genético o gene da apolipoproteína E $\epsilon 4$ (*APOE* $\epsilon 4$). A apo E é uma glicoproteína e componente das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e alta densidade (HDL) estando portanto envolvida no metabolismo de colesterol e triglicerídeos; assim, a descoberta da variante $\epsilon 4$ do gene ApoE que aumenta o risco de desenvolvimento de DA, indica que o colesterol possa ter um papel direto na patogênese da doença (OJOPI, BERTONCINI e DIAS NETO, 2004). Ainda não se sabe ao certo por quais mecanismos a ApoE $\epsilon 4$ se associa com DA. Esta isoforma purificada parece ter maior afinidade pela A β do que as isoformas ApoE $\epsilon 3$ e $\epsilon 2$, sugerindo que ela possa atuar como um estabilizador das estruturas de fibrilas A β e como um impeditivo da depuração de A β (IMBIMBO, 2005). Experimentos realizados em camundongos “*knockout*” para o gene *APOE* e modelos de camundongos transgênicos mostraram que a presença do alelo *APOE* $\epsilon 4$ aumentou as concentrações de depósitos fibrilares A β no cérebro dos animais quando comparado ao alelo *APOE* $\epsilon 3$ (HOLTZMAN *et al.*, 2000).

Indivíduos portadores de um alelo tem um risco três vezes maior de desenvolvimento da doença enquanto que portadores dos dois alelos tem um risco oito a doze vezes maior (HEFFERNAN *et al.*, 2016). No entanto, estudos de associação genômica ampla (GWAS) identificaram mais de 20 fatores de risco genético, os quais atuam por vias inflamatórias, metabolismo de colesterol e reciclagem de vesículas endossomais. Cada um desses genes confere um risco baixo para DA, no entanto, quando combinados em poligenes, o risco pode até dobrar (KARCH e GOATE, 2015 e ESCOTT-PRICE *et al.*, 2015)

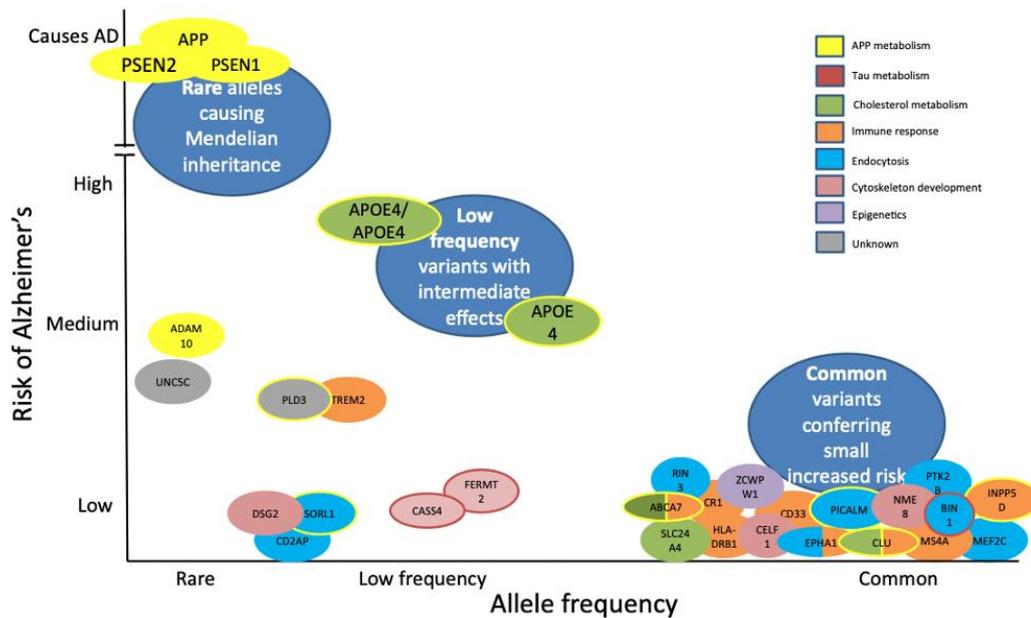


Figura 6: genes que tem sido relacionados à Doença de Alzheimer; as cores correspondem às suas funções; onde há duas cores internas, o gene tem mais de uma função; genes circulados em amarelo parecem influenciar o metabolismo da PPA; genes circulados em vermelho parecem influenciar o metabolismo de tau. (LANE, HARDY e SCHOTT, 2018).

O diagnóstico precoce de demência e DA é de grande importância em face do potencial de se modificar o tratamento. Até o presente momento, as melhores tentativas para se identificar indivíduos em risco de desenvolver demência recaem sobre o diagnóstico de CCL. A eficácia de qualquer tratamento é maximizada se a decisão de tratar é feita quando as alterações da doença são ainda incipientes. Assim, o líquido torna-se um alvo na procura por biomarcadores uma vez que os marcadores de DA são restritos ao parênquima cerebral; os candidatos mais promissores são as concentrações de peptídeo β amiloide 42 ($A\beta$ 42) e também o total de proteína tau e proteína tau fosforilada (T-tau e P-tau), também denominados assinatura biológica para DA (FORLENZA *et al.*, 2010 a). Estudo de metanálise de Diniz *et al.*, (2008) evidenciou que a análise destes biomarcadores líquidos adicionam informações relevantes para se identificar indivíduos com CCL em maior risco de desenvolverem DA. O estudo mostrou que pacientes que passaram de CCL para DA tinham menores concentrações de $A\beta$ 42 líquorica em relação aos pacientes que se mantiveram estáveis em CCL. Já as concentrações de T-tau e P-tau líquoricas foram maiores nos indivíduos CCL com característica amnésica (CCL mais avançado) e DA. Assim,

pacientes que preenchem o critério para CCL amnésico e possuem altos valores líquóricos de T-tau e P-tau junto com uma A β 42 líquórica baixa podem ser considerados pacientes pré-clínicos para DA (DINIZ, PINTO JR, FORLENZA, 2008). Da mesma forma, estudo multicêntrico de Mattsson *et al.* (2009) também concluiu que os valores líquóricos de A β 42, T-tau e P-tau são pertinentes para se identificar casos de DA incipiente.

Em relação à genotipagem, pacientes com alelo *APOE* ϵ 4 têm menores concentrações de A β 42 e maiores concentrações de T-tau líquóricas em relação a pacientes que não são portadores do alelo (MATTSSON, 2009). Herukka *et al.*, (2007) mostraram que o status ApoE ϵ 4 interage com as concentrações no líquido de A β 42, T-tau e P-tau em indivíduos CCL amnésicos, e que esta interação aumenta o risco de conversão para DA e é maior do que qualquer parâmetro isoladamente.

Por fim, recentemente um grande esforço tem sido direcionado para se entender a relação do fator neurotrófico associado ao cérebro (BDNF) e características fisiopatológicas da DA; esta neurotrofina de maior distribuição no sistema nervoso central (SNC) (TAPIA-ARANCIBIA *et al.*, 2008) tem um papel crucial na regulação axonal e no crescimento da árvore de dendritos, além de ter uma ação na plasticidade sináptica, diferenciação e sobrevivência neuronal, neuroproteção, resiliência neuronal e capacidade de reparar diversos insultos celulares (HU e RUSSEK, 2008). Trabalho de Forlenza *et al.*, (2010 b) mostrou menores concentrações de BDNF sérico em pacientes com CCL e DA em comparação à controles saudáveis; no entanto, análises de “*follow up*”, revelaram que as concentrações de BDNF não são preditivas da progressão para DA ou deterioração cognitiva em CCL. Porém, ainda são necessários estudos adicionais visto que há achados na direção oposta, mostrando maiores concentrações de BDNF em pacientes com prejuízo cognitivo e DA (Laske *et al.*, 2007). De toda forma, a avaliação das concentrações de BDNF sérico pode adicionar valor para prever o risco de desenvolver DA, porém, de forma isolada, não tem força suficiente para se tornar um biomarcador. Adicionalmente, existe uma limitação técnica uma vez que os testes de Elisa não diferenciam entre o pro-BDNF e o BDNF maduro, o que pode levar a direções opostas no desfecho da doença (Lim *et al.*, 2015).

2.3. Cognição e Selênio

Alguns autores mostram que uma alimentação saudável, rica em vitaminas, minerais e compostos bioativos, contribui para o retardo do declínio cognitivo durante o envelhecimento e em pacientes com DA (LEE *et al.*, 2009; SPACCAVENTO *et al.*, 2009;

WU e SUN, 2017). A importância do selênio (Se) em doenças neurológicas e sua ação no cérebro vem sendo demonstrada na literatura. A atividade antioxidante de selenoproteínas no sistema nervoso central é bem estabelecida e baixas concentrações de selênio têm sido associadas às lesões isquêmicas cerebrais (FANG *et al.*, 2013). Estudos apontam que o Se e as selenoproteínas têm uma ação cerebral que vai além da ação antioxidante, entre elas, a regulação de influxo de cálcio (UGUZ e NAZIROGLU, 2012), biogênese mitocondrial (MENDELEV *et al.*, 2012), destoxificação de metais pesados (DENG *et al.*, 2015), e quelação de metais de transição (DU *et al.*, 2013).

Recentemente, o uso de modelos animais “*knockout*” trouxe um maior entendimento do papel de selenoproteínas no sistema nervoso como descrito no quadro abaixo.

Tabela 2. Resumo de selenoproteínas envolvidas no desenvolvimento cerebral (DIO2, DIO3, GPx4, SELENOP, Txnrd1) e/ou altamente expressas no cérebro (GPx4, Sep15, SelK, SelM, SELENOP, SelW)

Gene	Localização subcelular	Principais locais de expressão no cérebro	Resposta ao Se dietético	Modelos de camundongos “knockout”
DIO2	Membrana retículo endoplasmático	Cóclea, hipotálamo	Moderada	Déficit auditivo; prejuízo na termogênese
DIO3	Membrana plasmática	Cóclea e cerebelo	Moderada	Déficit auditivo; alteração na morfologia cerebelar e prejuízo na função locomotora
GPx4	Citosol, mitocôndria e núcleo	Cerebelo, hipocampo, hipotálamo	Resistente	Letalidade embrionária; convulsões e ataxia
Sep15	Lúmen retículo endoplasmático	Cerebelo, hipocampo	Moderada	Catarata precoce; sem relato de prejuízo neurológico
SelK	Reticulo endoplasmático e membrana plasmática	Cerebelo, hipocampo, hipotálamo	Moderada	Prejuízo na resposta imune; sem relato de prejuízo neurológico
SelM	Lúmen do retículo endoplasmático	Bulbo olfatório, cerebelo, hipotálamo, cóclea	Moderada	Obesidade sem déficit cognitivo ou motor
SELENOP	Secretada	Cerebelo, plexo coroide, bulbo olfatório, hipocampo	Responsiva	Déficit cognitivo e motor; convulsões, ataxia e neurodegeneração com dieta deficiente em Se
SelW	Citosol	Hipocampo, córtex, cerebelo, bulbo olfatório	Responsiva	Sem publicação
Txnrd1	Citosol, núcleo	Cerebelo, hipocampo	Resistente	Letalidade embrionária; hipoplasia cerebelar e déficit motor

Adaptado de Pitts *et al*, (2014).

Legenda: Se: selênio

Apesar da concentração de Se ser baixa no cérebro, em períodos de depleção do mineral, o cérebro recebe um suprimento prioritário de Se e seus valores são mantidos estáveis em períodos de deficiência, mostrando sua importância para o metabolismo deste órgão (HAWKES e HORNBOSTEL, 1996, ZACHARA *et al.*, 2001, HARATAKE, KOGA e INOUE, 2011). Ratos deficientes em Se apresentaram concentrações cerebrais 29% abaixo quando comparados a animais que tiveram suficiência do mineral, enquanto que no fígado e nos rins, esta queda foi de 99% e 92% respectivamente (KÜHBACHER *et al.*, 2009). Em humanos, as baixas concentrações sanguíneas estão significativamente associadas com declínio cognitivo (CARDOSO, 2014, HAWKES e HORNBOSTEL, 1996 e BERR *et al.*, 2000). Cardoso *et al.* (2010) e Vural *et al.* (2010) mostraram uma menor atividade de enzimas antioxidantes dependentes de Se, em especial a GPx1 em pacientes com DA. Parudariu *et al.* (2010) observaram menor atividade da GPx1 tanto em pacientes demenciados como em pacientes com CCL.

Estudos *in vitro* e em animais mostram uma possível associação entre Se e DA. A deficiência do mineral foi associada a um aumento na formação de placas A β em cérebros de camundongos transgênicos *Tg2576* (modelos animais de DA onde ocorre aumento na produção de placas amiloides) (HARATAKE *et al.*, 2013). Há também estudos mostrando que o tratamento de cultura de células de neuroblastoma de animais com selenato de sódio reduziu a fosforilação da proteína tau (VAN EERSEL *et al.*, 2010 e CORCORAN *et al.*, 2010). Outro estudo em camundongos triplamente transgênicos, expressando formas mutantes correspondentes ao fenótipo de DA, quando suplementados com selenometionina, houve redução da fosforilação de proteína tau, menores concentrações de marcadores inflamatórios e melhora da cognição (SONG *et al.*, 2014). Por fim, Martini *et al.* (2019), avaliaram a administração de ebselen (composto orgânico rico em Se) em modelo de camundongos induzidos à DA por meio de injeção intracerebrovascular de estreptozotocina e verificaram a melhora de memória e diminuição do estresse oxidativo no hipocampo por meio do aumento de enzimas antioxidantes.

Já em humanos, Cardoso *et al.* (2016) mostraram que o consumo de uma castanha-do-brasil ao dia, a qual provia aproximadamente 288 μ g de Se, por um período de 6 meses, foi associado com melhora em performance cognitiva em pacientes diagnosticados com comprometimento cognitivo leve. Além disso, pacientes com DA apresentaram baixas concentrações de Se no plasma, eritrócitos e unhas quando comparados ao grupo controle (CARDOSO *et al.*, 2010). Da mesma forma, Smorgon *et al.* (2004) descreveram uma

correlação direta entre concentrações reduzidas de Se plasmático e comprometimento cognitivo em pacientes com DA quando comparado a indivíduos saudáveis. Rikkert *et al.* (2014) mostraram ainda que mesmo pacientes com DA bem nutridos tinham concentrações plasmáticas de selênio inferiores quando comparadas a indivíduos saudáveis, sugerindo assim que haja diferenças no *status* nutricional de pacientes com DA mesmo quando não há desnutrição. Adicionalmente, outros dois estudos mostraram uma possível ação benéfica da suplementação de Se na melhora do desempenho cognitivo apesar deste não ter sido o único nutriente suplementado em ambos estudos (SHELTENS *et al.*, 2010 e KESSE-GUYOT, 2011).

Contudo, estudo recente (PREADVISE) avaliou a associação do uso de suplementos, vitamina E e Se, com demência. O estudo foi realizado por um período médio de 5 anos, em indivíduos com 60 anos ou mais, não demenciados, em que foram suplementados com alfa-tocoferol (400 UI/dia) ou selenometionina (200µg/dia) ou ambos; não foi encontrada qualquer associação do uso destes antioxidantes com a prevenção da incidência de demência (KRYSCIO *et al.*, 2017). No entanto, vale ressaltar que neste estudo, os indivíduos não apresentavam deficiência em Se, o que pode ter afetado a resposta ao tratamento, indicando possivelmente que a suplementação de Se pode não ter impacto na cognição em indivíduos que já tenham suficiência do mineral.

A ação benéfica do Se aparentemente se dá por meio de diversas selenoproteínas, entre elas a enzima glutathiona peroxidase (GPx) e a SELENOP e pela ação do Se na modulação inflamatória. Recentemente, alguns estudos vêm mostrando evidências do papel do selênio na resposta inflamatória, no entanto, a maior parte desses resultados foram demonstrados em estudos *in vitro* (DUNTAS, 2009). Já em humanos, estudo de Maehira *et al.* (2002) mostrou baixas concentrações de selênio em indivíduos com quadro inflamatório em que a proteína C-reativa estava elevada. Já um outro estudo multicêntrico (ANGSTWURM *et al.*, 2007) a administração de Se reduziu a mortalidade de pacientes com sepsis e em choque séptico. O papel do Se como um elemento anti-inflamatório parece estar ligado a sua ação em células imunes, especialmente nas vias de transdução da sinalização de macrófagos e também inibindo a via do NF-κB por meio da ação da GPx (DUNTAS, 2009).

Quanto aos biomarcadores de inflamação periféricos em pacientes com DA, os estudos são inconclusivos e divergentes. Estudo recente de metanálise (SU *et al.*, 2019) mostrou aumento de inflamação periférica em pacientes com DA quando comparados ao grupo controle saudável e ao grupo CCL; o grupo CCL teve concentrações de citocinas

inflamatórias semelhantes ao grupo controle. Os autores especulam que a inflamação sistêmica seja um evento tardio durante a progressão da DA. No entanto, estudo de King *et al.*, (2018) mostrou resultados opostos, onde pacientes do grupo CCL tinham maiores concentrações de marcadores inflamatórios em relação a pacientes do grupo DA, dando ênfase ao papel da inflamação no início do declínio cognitivo. Já Forlenza *et al.* (2009), observaram aumento das concentrações séricas IL-1 β tanto no grupo DA como no grupo CCL, ambos em comparação ao grupo controle. Os achados são inconsistentes e inconclusivos, porém, a patogênese da DA é complexa e o uso de apenas um biomarcador pode não ser adequado para delinear completamente a patofisiologia da doença.

Neste contexto, há estudos relatando o possível papel do Se em reduzir a inflamação sistêmica em quadros de demência. Estudo recente Demirci *et al.* (2017), mostrou que o Se diminuiu as concentrações de citocinas inflamatórias em ratos que foram induzidos à demência pelo uso de escopolamina; o grupo tratado com a droga e Se teve redução nas concentrações de IL-1 α , IL-4 e TNF- α quando comparado ao grupo induzido à demência mas sem tratamento com Se. Também nesta mesma linha, estudo de Dominiak *et al.* (2017), usou um composto semi-sintético de selênio (Selol) para administrar a ratos que foram induzidos à inflamação cerebral e sistêmica através da administração periférica de lipopolissacarídeos (LPS); os resultados mostraram aumento de TNF- α sérico nos animais tratados com LPS mas não no grupo tratado com LPS e Selol, e também houve um menor aumento da expressão gênica de citocinas inflamatórias no córtex cerebral deste grupo em relação ao grupo LPS. Além disso, eles observaram que o grupo tratado com Selol reverteu a queda observada no RNAm de BDNF induzida por LPS.

Adicionalmente, existe também uma associação entre selenoproteínas e características patológicas da doença. Constatou-se por exemplo a presença de SELENOP junto às placas senis e aos emaranhados neurofibrilares no cérebro *postmortem* de indivíduos com DA (BELLINGER *et al.*, 2008). As concentrações também estavam elevadas no plexo coróide e no fluido cerebrospinal (RUELI *et al.*, 2015). Os autores especulam que tal fato se dê pela ação antioxidante da SELENOP e pelo seu transporte de Se para síntese de outras selenoproteínas antioxidantes, como por exemplo as GPxs que são expressas tanto em neurônios como em células da glia (GARCIA *et al.*, 2010 e ZHANG, ROCOURT e CHENG, 2010) e são reconhecidas como um dos mais importantes mecanismos protetores contra danos oxidativos (MITOZO *et al.*, 2011).

No entanto, dados da avaliação das concentrações de Se no cérebro de portadores de Alzheimer são escassos e controversos. Ramos *et al.*, (2014), reportaram um decréscimo nas concentrações de Se em portadores da doença no hipocampo e aumento no giro temporal superior, no córtex frontal, no meio do cérebro e no putâmen, apesar de uma pequena amostra. Morris *et al.* (2015) conduziram um estudo mais extenso no qual examinaram a relação entre o consumo de alimentos de origem marinha, teores de mercúrio, de Se e ApoE $\epsilon 4$ no cérebro *postmortem* de 286 idosos. O aumento de Se foi associado com um aumento na gravidade dos emaranhados neurofibrilares, de acordo com a escala patológica de Braak. Já, Cardoso *et al.* (2017) recentemente avaliaram e compararam a distribuição celular e as concentrações de Se no córtex temporal no *postmortem* de indivíduos com doença de Alzheimer controles e também avaliaram a relevância do genótipo de risco *APOE* $\epsilon 4$ na distribuição de Se. Foi observada uma associação entre DA com baixas concentrações de selênio tanto nas frações solúveis (citosólica) como insolúveis (placas e emaranhados). Além do mais, a presença do alelo *APOE* $\epsilon 4$ correlacionou-se com baixas concentrações de Se total no córtex temporal e altas concentrações de Se solúvel. Esses achados sugerem uma interação relevante entre *APOE* $\epsilon 4$ e a entrega de selênio para o cérebro, podendo esta estar prejudicada em indivíduos portadores do alelo e ainda uma distribuição alterada de Se no cérebro.

Assim, parece que carreadores do alelo *APOE* $\epsilon 4$ têm o metabolismo do selênio alterado no cérebro. A entrega de selênio neste órgão se dá pela interação da SELENOP com o receptor 2 de ApoE (ApoER2); esta interação ocorre tanto na barreira hemato-encefálica como dentro do cérebro com o fornecimento de selênio para os neurônios e para células da glia (Burk *et al.*, 2014). Podemos pensar que carreadores do alelo *APOE* $\epsilon 4$ podem ter a expressão de ApoER2 modificada ou reduzida, levando à menor interação com SELENOP e conseqüentemente à menores quantidades de selênio entregues ao cérebro (Figura 7).

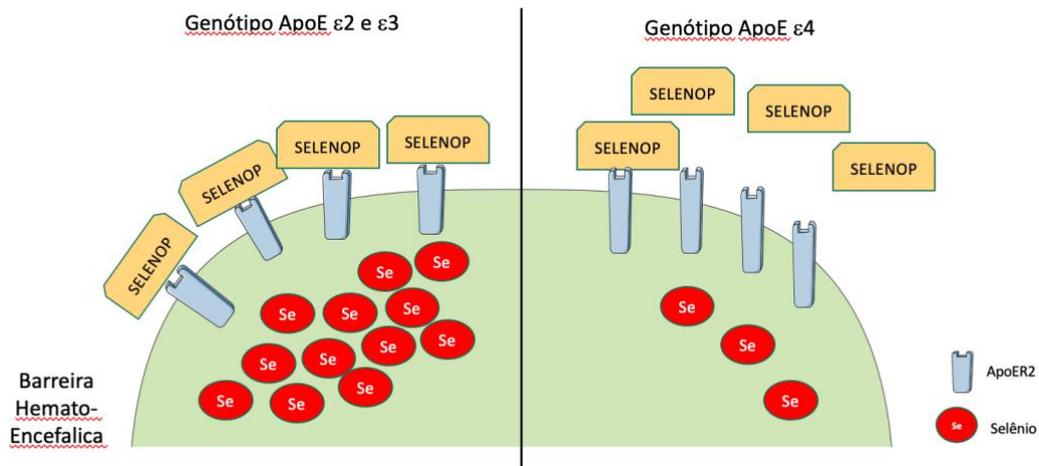


Figura 7: Interação de SELENOP com o receptor ApoER2. Adaptada de Cardoso *et al.* 2017

Desta forma, diferentes linhas de evidência indicam que a alteração do estado nutricional dos indivíduos em relação ao Se é concomitante com a patogênese da DA e que carreadores do alelo *APOE ε4* têm metabolismo alterado de selênio no cérebro; portanto, faz-se necessária a avaliação de como o Se e selenoproteínas se encontram nos diferentes compartimentos (plasma e líquido) em indivíduos com Comprometimento Cognitivo Leve e em portadores da Doença de Alzheimer com diferentes genótipos.

3. HIPÓTESES EXPERIMENTAIS

- O Comprometimento Cognitivo Leve e a Doença de Alzheimer estão associados com o estado nutricional dos indivíduos em relação ao selênio.
- O estado nutricional dos indivíduos em relação ao selênio sofre influência do genótipo *APOE ε4*

4. OBJETIVOS

4.1. Geral

- Avaliar se o Comprometimento Cognitivo Leve e a Doença de Alzheimer podem estar relacionados ao estado nutricional dos indivíduos em relação ao selênio.
- Avaliar se os indivíduos carreadores ou não do alelo *APOE ε4* com maior ou menor susceptibilidade à DA apresentam diferenças quanto aos parâmetros da avaliação do *status* de selênio.
- Avaliar se os biomarcadores normalmente utilizados para CCL e DA podem estar relacionados ao selênio.

5. CASUÍSTICA

5.1. Amostragem e Seleção dos Participantes

O recrutamento de participantes foi realizado no Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, no ambulatório de Psicogeriatría do Laboratório de Neurociências-LIM 27. Os participantes foram voluntários, de ambos os sexos, eutróficos, com idade acima de 60 anos e residentes no estado de São Paulo. O presente trabalho foi constituinte de uma subamostra do projeto maior “Instituto Nacional de Biomarcadores em Neuropsiquiatria (In-Bion)” do Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. A amostra deste estudo foi de conveniência.

Todos os participantes e seus cuidadores foram informados sobre os procedimentos a que foram submetidos e o destino do material biológico coletado. Foram esclarecidos quanto ao direito de desistência no decorrer da pesquisa, sem constrangimentos. Ao concordarem em disponibilizar material biológico para pesquisa, os responsáveis pelos participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO 1), que descreve as informações sobre o projeto, de acordo com a Resolução CNS n° 196/96, itens III, IV e V, que tratam da proteção dos participantes e orientam sobre os procedimentos referentes às pesquisas que necessitam experiências com humanos. O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo uma vez que o estudo faz parte de um projeto maior do LIM-27.

5.2. Critérios de Inclusão

Os critérios de inclusão foram estabelecidos para a pesquisa que estava sendo realizada no laboratório de Neurociências (LIM-27) do Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. O presente projeto adotou os mesmos critérios de inclusão.

O grupo controle, composto por indivíduos sem histórico pessoal de doenças neuropsiquiátricas, foi recrutado na comunidade, atendendo pareamento das variáveis sócio demográficas com o grupo de pacientes.

Os critérios gerais de inclusão adotados foram: ausência de história atual ou nos últimos 6 meses de dependência de álcool e/ou drogas psicoativas; ausência de história

prévia ou atual de hidrocefalia, epilepsia, traumatismo crânio-encefálico, doenças neurológicas degenerativas e comorbidades psiquiátricas. Pacientes clinicamente instáveis ou com saúde frágil no momento da avaliação foram excluídos. Todos os participantes dessa pesquisa assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Para o diagnóstico de DA inicial foi utilizado o método de rastreio Mini Exame do Estado Mental (MEEM) e o teste cognitivo de Cambridge (CAMCOG) segundo os critérios diagnósticos do NINCDS-ADRDA (McKhann et al., 1984). Os sujeitos apresentavam DA leve a moderada. O diagnóstico de CCL obedeceu aos critérios estabelecidos pela Classificação Internacional das Doenças (CID-10) para Comprometimento Cognitivo Leve (F.06.7), corroborado, sempre que possível, pelos critérios de Petersen para a condição descrita como Mild Cognitive Impairment (MCI) (Petersen et al., 1999), isto é: (1) queixa de perda de memória feita pelo paciente e/ou corroborada pelo acompanhante; (2) déficit de memória comprovado por meio de exame neuropsicológico (adiante), capaz de caracterizar desempenho de memória inferior à normalidade ($\leq 1,5$ DP), levando-se em conta as normas estabelecidas para a respectiva faixa etária e nível de instrução; (3) ausência de comprometimento de outras funções cognitivas; (4) capacidade de desempenhar atividades da vida diária preservada; (5) ausência de demência. Para o grupo controle, foram selecionados idosos com queixas de memória subjetivas que procuraram atendimento no ambulatório, porém não preencheram os critérios para CCL ou DA.

O diagnóstico diferencial da síndrome demencial foi estabelecido com o auxílio de exames laboratoriais e de imagem cerebral, realizados no Complexo HC por meio da rotina de atendimento ambulatorial. Foram realizadas reuniões de consenso envolvendo os diferentes profissionais da equipe, com o objetivo de se estabelecer a hipótese-diagnóstica mais pertinente para cada caso. Os casos de demência vascular (DV) foram diagnosticados segundo os critérios NINCDS-AIREN (Roman, 1993). Casos compatíveis com síndromes demenciais de outras etiologias, que não a DA, DV ou formas mistas (DA+DV), foram encaminhados para outros serviços especializados dentro do Hospital das Clínicas.

Foi realizada avaliação neuropsicológica onde os participantes foram submetidos aos seguintes testes:

- WASI - Wechsler Abbreviated Scale of Intelligence;
- WMS III - Wechsler Memory Scale - Third Edition;
- TDE - Teste de Desempenho Escolar;

- RBMT - Teste Comportamental de Memória de Rivermead;
- FOME - Fuld Object-Memory Evaluation;

5.3. Protocolo Experimental

Este estudo é de natureza transversal. Os dados foram coletados de três diferentes grupos: grupo controle (CONT), grupo com comprometimento cognitivo leve (CCL) e grupo com doença de Alzheimer (DA).

O material biológico coletado foi analisado para caracterizar os indivíduos quanto ao estado nutricional relativo ao selênio; para avaliar parâmetros de inflamação e para determinar genotipagem (*APOE ε4*); quantificação proteica de SELENOP; quantificação de BDNF e assinatura biológica para DA. Para caracterização dos participantes, foi coletado um questionário sobre informações socioeconômicas, antecedentes familiares para doenças crônicas não transmissíveis, uso de medicamentos e presença de doenças.

6. MATERIAL E MÉTODOS

6.1. *Coleta de Material Biológico*

Amostras de 20 mL de sangue foram coletadas com seringas estéreis e descartáveis, no período da manhã e com os participantes em jejum de 12 horas. As amostras de sangue foram destinadas às análises de concentração de selênio nos diferentes compartimentos, concentração de SELENOP nos diferentes compartimentos, concentração de marcadores de assinatura biológica para DA, concentrações de BDNF e genotipagem, e marcadores de inflamação.

a) Obtenção do plasma

A separação do plasma foi realizada por meio de centrifugação por 15 minutos a 3000 rpm. As amostras de plasma foram devidamente identificadas e armazenadas em freezer -80°C até o momento das análises.

b) Obtenção do líquido

As amostras de líquido foram obtidas por meio de punção lombar nos espaços intervertebrais L3/L4 ou L4/L5, com uma agulha de calibre 23. As coletas foram realizadas por médico neurologista, no período matutino, em tubos de polipropileno com capacidade para 12-15mL. Em seguida, as mesmas foram centrifugadas a 3200 rpm por 10 minutos a 4°C, separadas em alíquotas (0,5mL cada) e armazenadas em freezer (-80°C) para posterior análise.

6.2. *Análises Bioquímicas*

6.2.1. Determinação da concentração de selênio no plasma e no líquido

A concentração de selênio foi determinada por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS, Perkin Elmer DRC II) conforme metodologia previamente padronizada pelo Laboratório de Toxicologia e Essencialidade de Metais, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil (BATISTA *et al.*, 2009).

6.2.2. Determinação do perfil lipídico e glicemia de jejum

Esses dados foram obtidos pelos prontuários de cada paciente no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo

6.2.3. Determinação da insulina

Esses dados foram obtidos pelos prontuários de cada paciente no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo

6.2.4. Determinação de marcadores inflamatórios

As concentrações das citocinas foram determinadas no plasma por imunoenensaio fluorimétrico baseado na tecnologia Luminex® xMAP® (MAP: Multiple Analyte Profiling) utilizando pares de anticorpos monoclonais disponíveis comercialmente. Foram dosadas as seguintes citocinas: interleucina 1 beta (IL-1 β), interleucina 10 (IL-10), interleucina 6 (IL-6), interleucina 5 (IL-5), interleucina 2 (IL-2), interleucina 4 (IL-4), interleucina 8 (IL-8), interferon gama (IFN γ), e fator de necrose tumoral alfa (TNF α).

6.2.5. Determinação da concentração da Selenoproteína P

A concentração plasmática da SELENOP foi determinada por ELISA por meio de kit disponível comercialmente (Abexxa, Ltd.) em um leitor de microplaca (Biotec Synergy H1, Biotek). A proteína foi quantificada no plasma e no líquido.

6.2.6. Determinação das concentrações líquóricas de T-Tau, P-Tau e A β ₁₋₄₂

As análises dos biomarcadores líquóricos de T-Tau, P-Tau e A β ₁₋₄₂ foram feitas em duplicata com ensaio INNo-Bia AlzBio3 (Innogenetics, Ghent, Belgium), uma plataforma multiplex Luminex xMAP. Depois de umedecer o filtro da placa com um tampão de lavagem, uma suspensão de microesferas com os anticorpos correspondentes foi adicionada à placa e esta foi incubada durante uma noite no escuro. Posteriormente, a placa foi lavada e um conjugado de detecção foi adicionado e incubado por 1h em temperatura ambiente. A placa foi lavada e posteriormente adicionada à uma solução de leitura; o ensaio foi analisado em uma plataforma Luminex IS (Luminex, Austin, Texas, EUA).

6.2.7. Determinação do genótipo APOE

O DNA genômico foi isolado do sangue total e a genotipagem APOE foi realizada usando ensaio de discriminação alélica TaqMan® 5'-exonuclease obtido da Applied Biosystems (Foster City, CA, EUA). Essa metodologia utiliza dois ensaios de PCR para

identificar polimorfismo de nucleotídeo único (rs429358, rs7412) dentro do exon 4 do gene *APOE*. Os resultados dos ensaios individuais foram usados para determinar o genótipo *APOE*.

6.2.8. Determinação das concentrações de BDNF

O fator neurotrófico cerebral foi medido usando um anti-BDNF em um kit sanduíche ELISA de acordo com a metodologia fornecida pelo fabricante (Chemikine TM; EMD Millipore Corporation, MA, EUA).

6.3. Análise estatística

Após a obtenção e tabulação dos dados, foi realizada a análise estatística com o *software Statistical Package for the Social Sciences*, versão 23.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) e o ambiente R, versão 4.0.3. Inicialmente foram feitos testes de normalidade através do teste de Kolmogorov-Smirnov, e de homogeneidade de variância com o teste de Levene. Para a análise de comparação de médias dos parâmetros estudados entre os grupos, utilizou-se o teste t de Student e o teste de variância (ANOVA) para as variáveis paramétricas e o teste de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis para variáveis não paramétricas. Considerou-se p-valor menor que 5% para discriminação de médias estatisticamente diferentes e valor entre 5 e 10% como tendência. Testes de correlações lineares de Pearson ou Spearman foram feitos de acordo com a normalidade e homogeneidade de variância dos dados, considerando valores significativos abaixo de 5%. Foi feita regressão linear entre parâmetros de selênio como variável resposta e diagnóstico, genótipo *APOE* $\epsilon 4$, idade e gênero como preditores e regressão logística entre parâmetros de diagnóstico como variável resposta e idade, gênero, deficiência ou não de selênio, e carreadores ou não do genótipo *APOE* $\epsilon 4$ como preditores.

7. RESULTADOS

7.1. Caracterização da população de estudo

Participaram da pesquisa 70 idosos, com idade acima de 60 anos, todos residentes na cidade de São Paulo. Dos 70 pacientes, 28 eram do grupo Controle (CONT), 14 do grupo Comprometimento Cognitivo Leve (CCL) e 28 do grupo Alzheimer (DA). As características sociodemográficas bem como escala de cognição e parâmetros metabólicos e inflamatórios da população estudada estão representadas na tabela abaixo.

Tabela 3. Características sociodemográficas e metabólicas dos participantes do estudo.

	N	Média(DP)	Mediana (intervalo interquartil Q1-Q3)	Valores de referência*
CARACTERIZAÇÃO				
Idade (anos)	67	76,1± 6,8	76 (71,5-80)	-
Escolaridade (anos)	68	11,9± 10,7	11 (5-16)	-
MMSE	53	25,3± 5,1	27 (24-29)	-
CAMCOG	53	83,5± 20,4	93 (75-98)	-
MARCADORES DE SELÊNIO				
Selênio Plasma (µg/L)	58	116,9± 49,6	104,7 (86,8-122,5)	≥84-100 ¹
Selênio Líquor (ppb)	42	4,4± 0,98	4,2 (3,7-4,9)	-
SEPP Plasma (ng/mL)	57	9415,3±6602,5	6495 (5047-10150)	-
SEPP Líquor (ng/mL)	45	7,2± 5,8	5,4 (3,9-7,2)	-
METABÓLICOS				
AST (U/L)	47	21,9± 5,9	21,0 (18-25)	≤ 32 ³
ALT (U/L)	48	18,3±5,8	18,0 (14-21)	≤32 ³
GGT (U/L)	36	24,4± 16,2	20,0 (14,7-27)	8-41 ³
Glicemia (mg/dL)	50	89,4± 21,0	84,5 (79-96,7)	75-99 ³
Insulina (mU/L)	40	7,9± 3,7	7,4 (5,1-10,2)	2-19 ³
LDL (mg/dL)	47	107,9± 34,8	109 (83-126)	≤110 ³
HDL (mg/dL)	48	62,8± 26,1	60 (52-67)	≥35 ³
CT (mg/dL)	47	188,9± 40,7	187,0 (160,0-213,5)	≤170 ³
TG (mg/dL)	46	123,4±76,2	91,0 (76-148,8)	≤130 ³
Proteína (g/dL)	23	7,0± 0,4	7,1 (6,9-7,3)	6,5-8,1 ³
Albumina (g/dL)	24	4,3± 0,7	4,5 (4,3-4,6)	3,5-5,2 ³
Aβ-42 (pg/mL)	42	423,3± 148,4	420,1(337,03-494,1)	<416 ⁴
T-Tau (pg/mL)	42	111,6±80,4	79,6 (50,8-152,2)	<76 ⁴
P-Tau (pg/mL)	42	59,3± 45,6	43,9 (48,4-76,9)	<76,7 ⁴

A β 42/pTau	42	10,5 \pm 6,8	9,5 (4,9-14,6)	>9,53 ⁴
A β 42/Tau	42	5,8 \pm 3,8	5,6 (2,9-8,7)	>4,13 ⁴
BDNF (pg/mL)	63	195,5 \pm 174,6	147,7 (168,9-255,1)	-

INFLAMATÓRIOS

PCR (mg/dL)	36	2,1 \pm 2,1	1,8 (1,6-3,0)	\leq 1,0 ³
IFN γ (pg/mL)	48	2,1 \pm 2,0	1,41 (0,82-2,4)	-
IL10 (pg/mL)	49	9,0 \pm 13,6	4,5 (2,5-7,7)	-
IL1 β (pg/mL)	48	0,9 \pm 0,9	0,8 (0,6-1,0)	-
IL2 (pg/mL)	49	2,5 \pm 7,2	0,9 (0,7-1,1)	-
IL4 (pg/mL)	41	8,0 \pm 20,5	1,0 (0,02-6,4)	-
IL5 (pg/mL)	48	2,3 \pm 5,5	1,2 (1,1-1,7)	-
IL6 (pg/mL)	48	6,1 \pm 22,8	1,6 (1,1-2,9)	-
IL8 (pg/mL)	49	12,8 \pm 24,8	5,9 (3,9-8,3)	-
TNF α (pg/mL)	49	10,1 \pm 6,7	8,6 (5,6-13,3)	-

* Valores de referência:

¹ Thomson *et al.*, 2004

² Gerhardsson *et al.*, 2008

³ Hospital das Clínicas FM-USP

⁴ Referência do *kit* disponível comercialmente (INNo-Bia AlzBio3)

Participaram do estudo 70 indivíduos, dos quais 50 eram do sexo feminino e 20 do sexo masculino; dentre os três grupos analisados, 28 indivíduos eram do grupo Controle, 14 do grupo CCL e 28 do grupo DA (Figura 9). Por um teste de regressão logística, não evidenciamos diferença entre os gêneros nos 3 grupos.

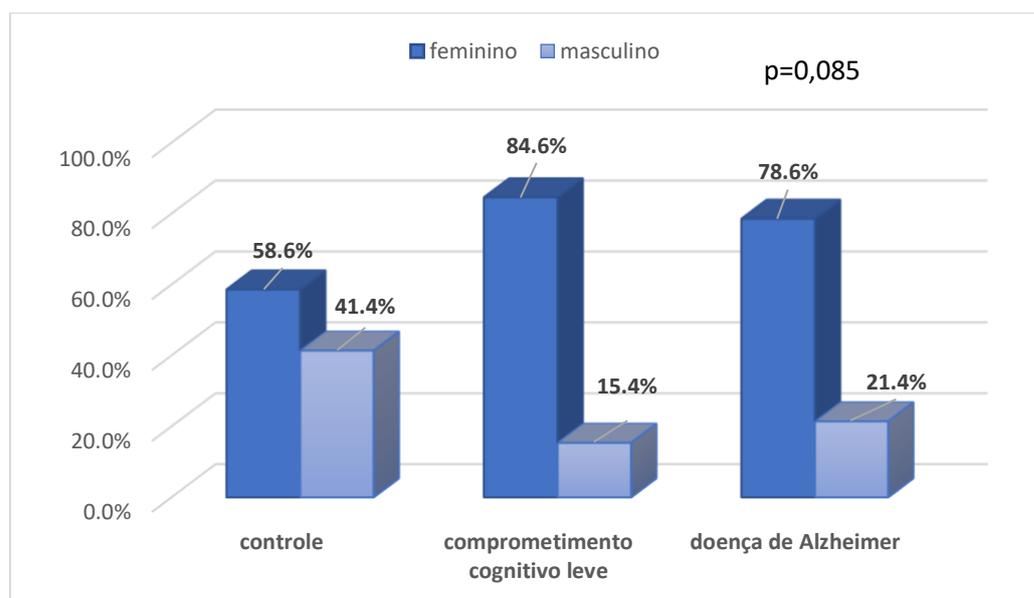


Figura 8. Frequência de gênero nos grupos avaliados no estudo.

Alguns parâmetros sociodemográficos, escala de cognição (MMSE e CAMCOG), marcadores precoces liquóricos de assinatura biológica para DA (A β 42, T-Tau, P-Tau) e BDNF foram comparados entre os três grupos (Tabela 4). Não houve diferença entre os grupos em relação à idade e gênero. Porém, houve diferença entre os grupos em relação a anos de escolaridade, sendo que tanto o grupo CCL e DA diferiram do grupo CONT, tendo estes menos anos de escolaridade. Já em relação a presença do alelo *APOE e4*, não se observou diferença entre os grupos. Quanto aos testes cognitivos MMSE e CAMCOG, houve diferença entre os grupos, sendo que os pacientes com DA obtiveram a menor pontuação. Os biomarcadores liquóricos (A β 42, T-tau e P-tau) e a neurotrofina BDNF, não diferiram entre os grupos. Porém, apesar da falta de significância estatística, verificou-se uma tendência dos indivíduos DA terem maiores quantidades de P-tau em relação ao grupo controle; também há uma tendência do grupo DA ter menores concentrações de A β 42.

Tabela 4. Comparação entre os três grupos estudados em relação a características sociais e marcadores relacionados à cognição

	CONT	CCL	DA	p-valor
Idade ^e	75,8±6,5	76,1±7,6	76,4±7,1	0,95
Escolaridade ^e	13,9±5,2 ^a	7,6±4,0 ^b	9,3±5,3	<0,001
Gênero (Masc%) ^d	42,9	14,3	21,4	0,37
Carreador <i>APOE ε4</i> (%)	29,6	18,2	32,1	0,37
MMSE (med/DP) ^e	28,7±1,4 ^a	25,4±2,8 ^b	20,4±6,0 ^c	<0,001
CAMCOG (med/DP) ^e	97,2±4,5 ^a	84,7±9,7 ^b	64,3±24,6 ^c	<0,001
Aβ 42(med/DP) ^e	459,8±154	462,8±99,7	362,0±157,8	0,10
T-Tau (med/DP) ^d	110,5±69,6	84,1±65,8	131,5±96,2	0,22
P-Tau (med/DP) ^e	41,1±13,4 ^a	56,7±52,9	78,1±54,1	0,07
BDNF(med/DP) ^e	186,5	151,8	225,3	0,46

^a DA vs CONT; ^b CCL x CONT; ^c DA x CCL

^d Teste Kruskal-Wallis para amostras independentes

^e Teste Anova para amostras independentes

Legenda: CONT= grupo controle; CCL= grupo comprometimento cognitivo leve; DA= grupo doença de Alzheimer

7.2. Parâmetros Relacionados ao genótipo *APOE ε4*

Em relação à genotipagem, encontrou-se uma frequência alélica de 13,6% alelo ϵ_2 , 70,4% alelo ϵ_3 e 16% do alelo ϵ_4 , o que é bem semelhante à frequência populacional (alelo ϵ_2 3-8%, alelo ϵ_3 71-85% e alelo ϵ_4 9-23%) (BERTRAM *et al.*, 2007) (Tabela 5).

Tabela 5. Frequência do genótipo *APOE*, alelos, e carreadores *APOE* $\epsilon 4$ versus não carreadores na população estudada

Genótipo/Alelos	N=66 (100%)
Genótipo APOE	
$\epsilon 2/\epsilon 2$	3 (4,5)
$\epsilon 2/\epsilon 3$	12 (18,2)
$\epsilon 3/\epsilon 3$	32 (48,5)
$\epsilon 3/\epsilon 4$	17 (25,8)
$\epsilon 4/\epsilon 4$	2 (3,0)
Alelo	
$\epsilon 2$	9 (13,6)
$\epsilon 3$	46 (70,4)
$\epsilon 4$	11 (16%)
Carreadores* APOE	
$\epsilon 4-$	47 (71,2)
$\epsilon 4+$	19 (28,8)

* $\epsilon 4-$ = não carreadores ($\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 3$); $\epsilon 4+$ = carreadores ($\epsilon 3/\epsilon 4$, $\epsilon 4/\epsilon 4$)

Também avaliou-se por meio de um teste de regressão logística, a frequência dos carreadores e não carreadores do alelo *APOE* $\epsilon 4$ e observou-se que não houve diferença nos grupos controle, CCL e DA (Figura 10).

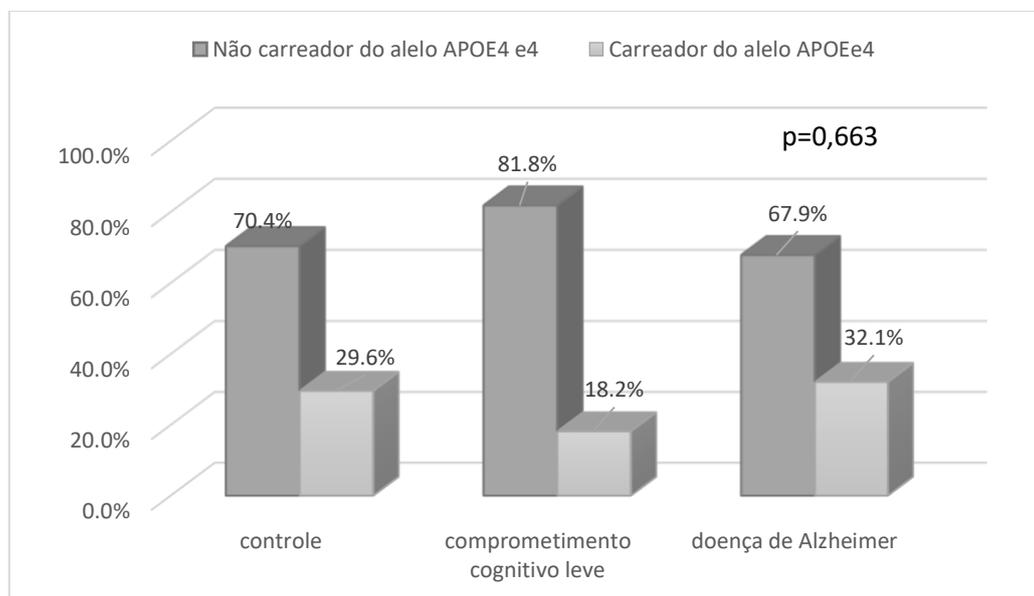


Figura 9. Frequência dos carreadores e não carreadores do alelo *APOE* $\epsilon 4$ nos três grupos

Quando se comparou as concentrações de Se plasmático e líquórico e SELENOP plasmática e líquórica, não observamos diferenças entre os grupos não carreadores e carreadores do alelo *APOE ε4*. No entanto, observamos uma maior tendência de menores concentrações de Se plasmático no grupo de carreadores do alelo *APOE ε4* (Tabela 6 e Figura 11).

Tabela 6. Concentrações de Selênio (plasmático e líquórico) e SELENOP (plasmático e líquórico) em carreadores e não carreadores do alelo *APOE ε4*

	Não Carreadores Alelo <i>APOE ε4</i>	Carreadores Alelo <i>APOE ε4</i>	P-valor
Se Plasma (µg/L) ^a	121,3± 51,9 108,5 (95,3-123,6)	110,2±47,7 90,2 (81,8-129,2)	0,159
Se líquido (µg/L) ^b	4,5± 1,0 4,4 (3,8-5,2)	4,2±0,8 4,0 (3,7-4,6)	0,305
SELENOP plasma (ng/mL) ^a	9597,0± 6719,0 6682 (5066-10450)	9818,7±6862,8 7513,7(5138-10857)	0,932
SELENOP líquido (ng/mL) ^a	7,0± 4,7 5,64 (4,1-7,3)	8,1±8,5 5,47 (3,9-7,7)	0,974

Resultados apresentados em média (desvio padrão) e mediana (intervalos interquartil Q1-Q3). ^a Teste Mann-Whitney de amostras independentes. ^b Teste Student's T para amostras independentes

Legenda:

Se: selênio

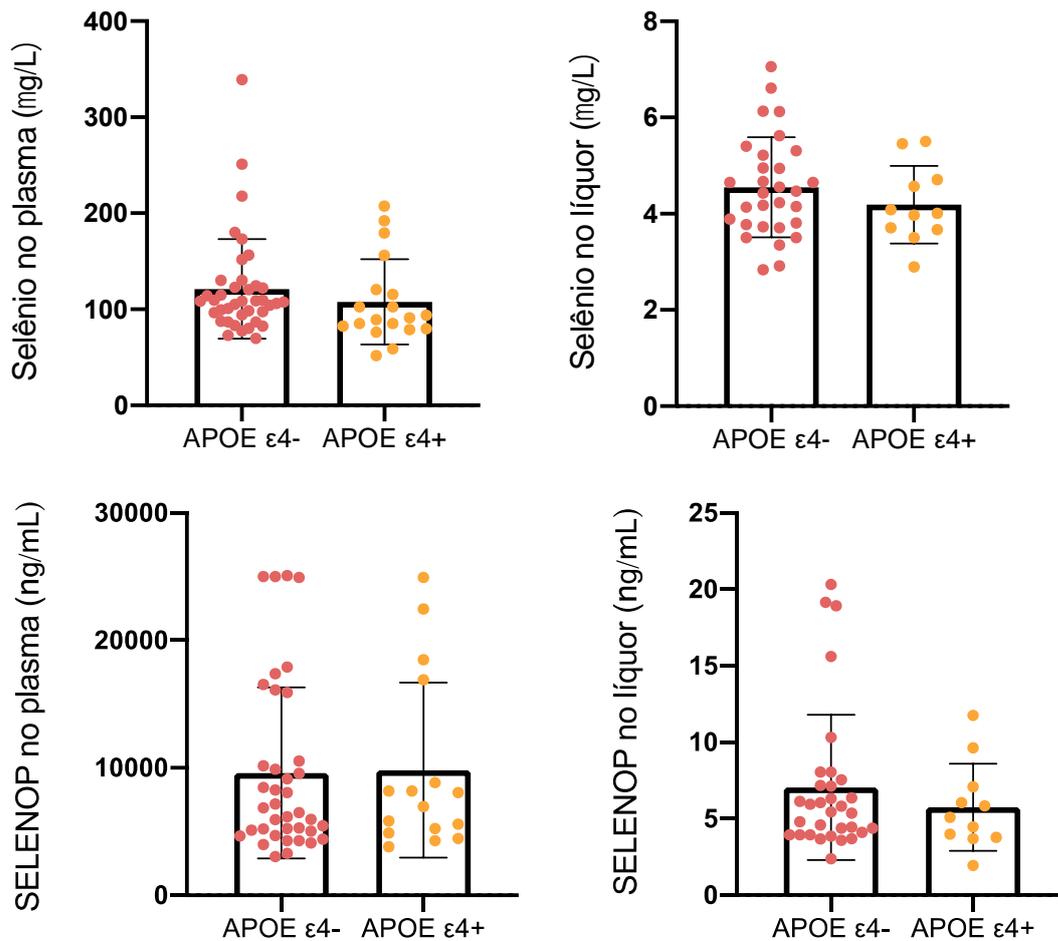


Figura 10. Distribuição de Selênio (plasma e líquido) e SELENOP (plasma e líquido) em carreadores ($\epsilon 4+$) e não carreadores ($\epsilon 4-$) do alelo *APOE ε4*

7.3. Biomarcadores de demência

Foram realizados testes de correlação entre biomarcadores líquóricos de demência (A β 42, T-Tau, P-Tau) e marcadores de selênio e marcadores inflamatórios. Não foi observada correlação entre assinatura biológica e Se plasmático e líquórico e SELENOP plasmática e líquórica.

Em relação aos marcadores inflamatórios, observamos correlação positiva entre as concentrações de proteína tau e IL-10 ($r=0,38$; $p=0,041$).

Foram realizadas correlações entre Se (plasma e líquido), SELENOP (plasma e líquido) e testes de cognição MMSE e CAMCOG (Tabela 7).

Tabela 7. Correlação de (plasma e líquido), SELENOP (plasma e líquido) e metais com os testes de cognição MMSE e CAMCOG

	MMSE/MMSE aj	CAMCOG/CAMCOG aj
Selênio Plasma	0,436**/0,206	0,448**/0,211
Selênio Líquor	0,123/0,134	0,225/0,253
SELENOP Plasma	-0,096/-0,092	-0,139/-0,119
SELENO Líquor	-0,321/-0,267*	-0,134/-0,182*

Teste de Correlação de Spearman. Correlação ajustada para anos de escolaridade (aj).

*p<0,05

**p<0,01

7.4. Marcadores de selênio

Para avaliação do selênio e da selenoproteína P, diversos testes foram realizados para avaliar como este elemento-traço se comporta no plasma e no líquido de pacientes saudáveis e pacientes com CCL e DA.

Dos 58 pacientes em que a análise de Se plasmático foi realizada, 12 apresentaram deficiência de Se plasmático conforme referência mais aceita ($Se < 84 \mu\text{g/L}$) (THOMSON, 2004), sendo que 3 eram do grupo CONT, 2 do grupo CCL e 7 do grupo DA. A regressão logística foi realizada para avaliar se havia diferença entre o grupo DA e CCL em relação ao grupo controle, mas não houve diferença (Figura 12).

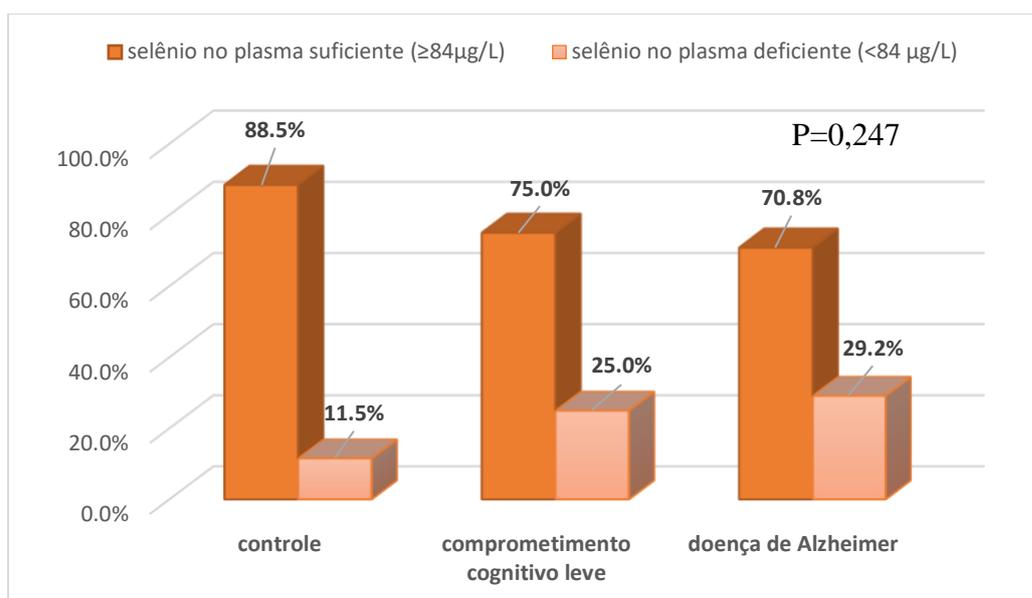


Figura 11. Frequência de indivíduos deficientes em selênio e não deficientes entre os três diferentes grupos.

A regressão linear foi utilizada para verificar se os valores de Se plasmático e líquóricos poderiam estar relacionados ao diagnóstico (CCL e DA), presença do alelo *APOEε4* e idade nas concentrações de Se plasmático e líquóricos (Tabela 8), mas não ficou evidenciada qualquer associação.

Tabela 8. Associação entre os parâmetros de selênio e os diagnósticos de CCL e DA, presença do alelo *APOEε* e idade em modelo de regressão linear

Variáveis dependentes	Variáveis independentes	Coefficiente β padronizados	p-valor
Selênio plasma	Diagnóstico CCL	-8,3	0,745
	Diagnóstico DA	-25,8	0,118
	alelo <i>APOEε</i>	-8,93	0,583
	idade	-0,05	0,961
Selênio líquido	Diagnóstico CCL	0,74	0,177
	Diagnóstico DA	0,19	0,622
	alelo <i>APOEε</i>	-0,25	0,480
	idade	0,03	0,216

O parâmetro de regressão estima o coeficiente β padronizado, e os valores de p são para as variáveis independentes.

Para avaliar se o diagnóstico de CCL e DA estariam relacionados ao gênero, idade, anos de escolaridade, deficiência de selênio e carreador do alelo *APOEε* (Tabela 9) foi realizada uma regressão logística, mas evidenciou-se apenas relação com a escolaridade.

Tabela 9. Distribuição do gênero, idade, anos de escolaridade, adequação/deficiência de selênio e carreadores ou não do alelo *APOEε* 4 dos pacientes, segundo os grupos

Variáveis independentes	Variáveis dependentes			Total	p-valor*
	CONT	CCL	DA		
Gênero (n/%)					0,085
Feminino	16 (57,1)	12 (85,7)	22 (78,6)	33 (80,5)	
Masculino	12 (42,9)	2 (14,3)	6 (21,4)	8 (19,5)	
Total		13 (100)	0,74	41 (100)	
Idade (anos) (med/DP)	75,8 (6,5)	76,1 (7,6)	76,4 (7,1)	76,1 (6,9)	0,956
Escolaridade (anos) (med/DP)	13,9 (5,2)	7,6 (4,0)	9,3 (5,3)	10,8 (5,6)	<0,001
Selênio Plasmático (n/%)					0,319
Adequado	22(88)	7 (77,8)	17 (70,8)	46 (79,3)	
Deficiente	3 (12)	2 (18,2)	7 (29,2)	12 (20,7)	
Total	25 (100)	9 (100)	24 (100)	58 (100)	
<i>APOEε</i> 4 (n/%)					0,663
Carreador	19 (70,4)	9 (81,8)	19 (67,9)	47 (71,2)	
Não Carreador	8 (29,6)	2 (18,2)	9 (32,1)	19 (28,8)	
Total	27 (100)	11 (100)	28 (100)	66 (100)	

* Regressão Logística Univariada com variável dependente grupo (CONT, CCL, DA)

Legenda: CONT= grupo controle; CCL= grupo comprometimento cognitivo leve; DA= grupo doença de Alzheimer

Alguns parâmetros relacionados à demência foram comparados entre os que estavam com deficiência e os que não estavam (Tabela 10) e não foi observada diferença entre os dois grupos. Porém, apesar de não significativa, pode-se verificar que o grupo deficiente em Se teve uma tendência a ter uma menor pontuação de MMSE e CAMCOG.

Tabela 10. Concentrações de marcadores de cognição e pontuação de testes cognitivos no grupo deficiente em selênio e não deficiente.

	Deficiente em Se	Não Deficiente em Se	p-valor
BDNF (pg/mL) ^a	143,9± 86,0	205,9± 190,3	0,205
MMSE ^a	22,2± 6,4	26,1± 5,1	0,059
CAMCOG ^a	71,9± 26,6	87,0± 19,2	0,063
Aβ 42 (pg/mL) ^a	476,6± 241,9	422,3± 99,9	0,531
T-Tau (pg/mL) ^b	111,3± 78,6	101,9± 68,1	0,929
P-Tau (pg/mL) ^a	46,7± 21,0	62,6± 49,4	0,364
Aβ42/Tau	6,4±4,4	6,1±3,9	0,840
Aβ42/pTau	12,7±8,1	10,0±6,5	0,350

Resultados em média e desvio padrão.

^a Teste T para amostras independentes

^b Teste de Mann-Whitney para amostras independentes

Legenda:

Se: selênio

BDNF: fator neurotrófico derivado do cérebro

Aβ-42: peptídeo Aβ-42

T-Tau: proteína tau total

P-Tau: proteína tau fosforilada

Foram realizados testes de correlação entre Se (plasmática e líquórica) e SELENOP (plasmática e líquórica) com os biomarcadores Aβ 42, T-Tau, P-Tau, Aβ42/Tau e Aβ42/PTau, porém não se observou correlação entre esses parâmetros.

Também se avaliou o Se (plasmático e líquórico) e SELENOP (plasmática e líquórica) nos três grupos, e não se observou diferença entre os grupos (Tabela 11).

Tabela 11. Concentrações de metais (plasma e líquido) SELENOP (plasma e líquido) nos grupos controle, Comprometimento Cognitivo Leve e no grupo Doença de Alzheimer

	CONT	CCL	DA	p-valor
MARCADORES DE SELÊNIO				
Selênio Plasma ($\mu\text{g/L}$) ^d	126,3 \pm 55,5	120,68 \pm 47,58	106,79 \pm 44,22	0,22
	108,5 (94,2-130,3)	108,7 (93,7-120,35)	99,5 (81,8-115,8)	
Selênio Líquor ($\mu\text{g/L}$) ^e	4,20 \pm 0,62	4,94 \pm 1,10	4,40 \pm 1,11	0,28
	4,0(3,7-4,65)	4,9 (4,1-5,6)	4,3 (3,7-4,9)	
SELENOP Plasma (ng/mL) ^d	10257 \pm 6685	5899 \pm 2015	9710 \pm 7287	0,24
	8064(5180-16626)	5623 (4297-5971)	6918 (5000-10251)	
SELENOP Líquor (ng/mL) ^d	6,76 \pm 5,75	7,92 \pm 4,71	7,35 \pm 6,69	0,29
	4,39 (3,69-6,06)	6,37 (5,45-9,63)	5,85 (4,42-7,34)	

^{0a} DA vs CONT; ^b CCL x CONT; ^c DA x CCL

^d Teste Kruskal-Wallis para amostras independentes

^e Teste One-Way ANOVA

Resultados em média (desvio padrão) e mediana (intervalo interquartil Q1-Q3)

Legenda: CONT= grupo controle; CCL= grupo comprometimento cognitivo leve; DA= grupo doença de Alzheimer

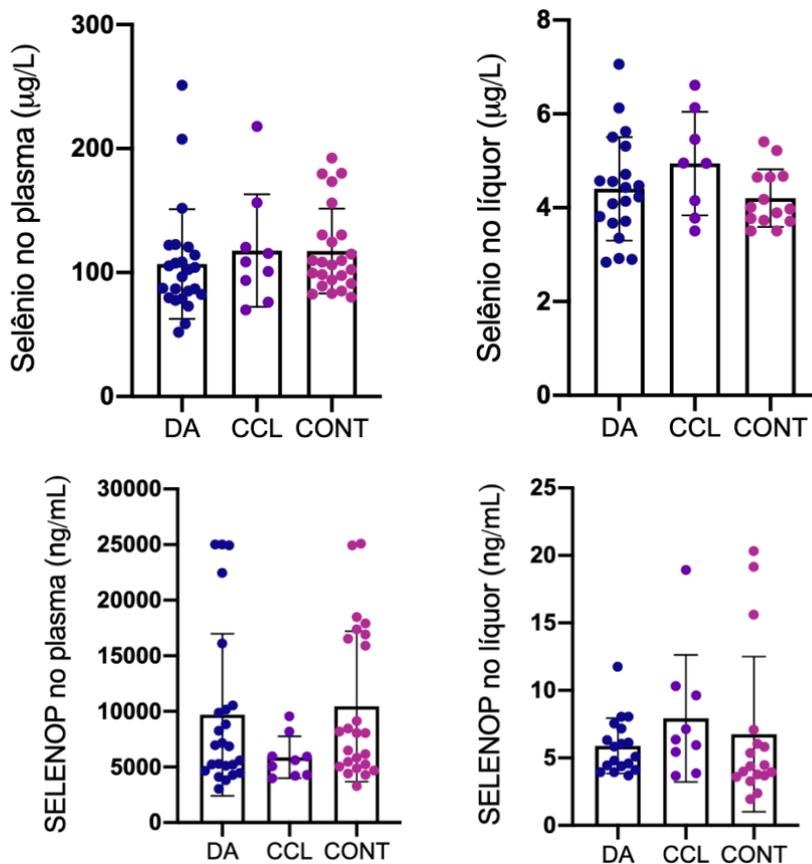


Figura 12. Distribuição de selênio e SELENOP no plasma e líquido nos diferentes grupos

Testes de correlação também foram realizados entre Se (plasma e líquido) e SELENOP (plasma e líquido). Observou-se uma associação entre Se plasmático e Se líquido conforme figura abaixo.

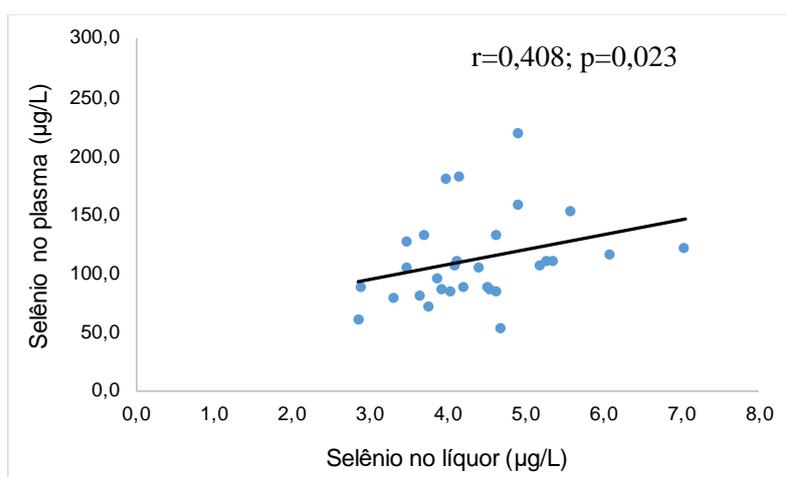


Figura 13. Correlação entre selênio plasmático e selênio líquido

Também observou-se associação entre Se plasmático e a pontuação nos testes MMSE ($r=0,436$; $p=0,004$) e CAMCOG ($r=0,448$; $p=0,003$), porém estas não se mantiveram após

ajuste para anos de escolaridade como visto na tabela 7; observou-se associação entre Se plasmático e anos de escolaridade ($r=0,350$; $p=0,008$) bem como associação entre Se plasmático e IFN- γ ($r=0,328$; $p=0,039$). Já em relação à SELENOP observou-se associação entre SELENOP líquórica e IFN- γ ($r=0,401$; $p=0,017$) e associação entre SELENOP plasmática e IL-10 ($r=0,326$; $p=0,043$).

Parâmetros de demência foram comparados entre valores de SELENOP abaixo de 6000 ng/mL ou acima deste valor (Tabela 12). De acordo com estudo de Brodin *et al.* (2020), a SELENOP atinge um platô nos valores entre 6000 a 7000 ng/mL quando há suprimento adequado de selênio. No entanto, só houve diferença significativa entre os grupos abaixo e acima do platô em relação às concentrações de P-Tau; no grupo “acima” as concentrações de P-Tau foram inferiores aos do grupo “abaixo” ($p=0,04$).

Tabela 12. Concentrações de BDNF e marcadores de demência entre indivíduos com valores de SELENOP abaixo ou acima do platô.

	ABAIXO PLATÔ	ACIMA PLATÔ	p-valor
BDNF (pg/mL) ^a	187,9±156,0	210,6±188,9	0,63
MMSE ^a	25,5 ± 5,4	25,0±5,8	0,76
CAMCOG ^a	85,9±19,9	81,5±23,1	0,52
A β 42 (pg/mL) ^a	442,9±122,3	441,3±199,0	0,98
T-Tau (pg/mL) ^b	103,6±66,2	110,9±79,4	0,95
P-Tau (pg/mL) ^a	71,2±51,8	41,9±17,9	0,04
A β 42/Tau	6,1±3,4	6,2±5,0	0,99
A β 42/pTau	9,0±6,0	12,8±8,1	0,16

Resultados em média e desvio padrão

^a Teste T para amostras independentes

^b Teste Mann-Whitney para amostras independentes

Legenda:

BDNF: fator neurotrófico derivado do cérebro

A β -42: peptídeo A β -42

T-Tau: proteína tau total

P-Tau: proteína tau fosforilada

7.5. Marcadores inflamatórios

Foi realizado teste de correlação entre Se plasmático e líquórico, SELENOP plasmática e líquórica e metais com diversas citocinas conforme tabela abaixo (Tabela 13).

Tabela 13 - teste de correlação entre Se plasmático e líquórico

	PCR	IFN_GAMA	IL10	IL1B	IL2	IL4	IL5	IL6	IL8	TNFALFA
MARCADORES DE SELÊNIO										
Selênio Plasma	-0,137	,328*	-0,124	0,112	0,095	0,324	0,234	0,26	0,022	-0,049
Selênio Liquor	0,321	0,225	-0,163	-0,01	-0,053	-0,061	0,037	0,014	-0,182	-0,121
SEPP Plasma	,391*	0,254	,326*	0,059	0,031	-0,234	0,139	0,129	0,121	0,057
SEPP Liquor	,577**	-,401*	-0,055	-0,308	-0,272	0,067	-0,278	-0,076	-0,006	0,064

Teste de correlação Spearman. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Também foi avaliada as diferenças entre as citocinas nos três grupos conforme tabela 14. Houve apenas diferença entre os grupos em relação a interleucina 10, tendo essa maiores valores no grupo controle.

Tabela 14. Concentração de marcadores inflamatórios nos grupos controle, CCL e DA

	CONT	CCL	DA	p-valor
PCR (mg/dL)	2,49± 2,70 1,8 (0,75-3,3)	2,38± 1,54 3,0 (1,1-3,4)	1,44± 0,86 1,5 (0,6-2,0)	0,498
IFN γ (pg/mL)	2,35±2,41 1,6 (1,0-3,3)	2,99± 3,11 1,4 (0,7-4,9)	1,66± 1,10 1,4 (0,8-2,2)	0,845
IL-10 (pg/mL)	14,22±19,67 5,2 (2,4-14,3)	1,65± 1,36 ^b 1,5(0,34-2,9)	6,82± 6,30 ^c 5,5 (3,4-7,5)	0,004
IL-1 β (pg/mL)	1,00±1,16 0,82 (0,61-0,96)	0,71± 1,20 0,13 (0,01-0,77)	0,91± 0,48 0,77 (0,67-1,07)	0,291
IL-2 (pg/mL)	1,86±2,28 1,06 (0,80)	8,06± 18,48 0,94 (0,28-2,46)	1,33± 1,65 0,87 (0,69-0,25)	0,272
IL-4 (pg/mL)	11,42±28,84 0,59 (0,02-7,91)	10,81±18,91 1,93 (1,12-9,39)	3,52±7,06 0,59 (0,01-5,2)	0,386
IL-5 (pg/mL)	3,63±8,74 1,21 (1,06-1,36)	0,73±0,74 0,67 (0,06-1,3)	1,53±0,57 1,43 (1,21-1,76)	0,070
IL-6 (pg/mL)	11,03±35,61 1,95 (1,23-3,9)	5,28±11,33 0,95 (0,17-1,33)	2,26±1,76 1,5 (1,2-2,9)	0,147
IL-8 (pg/mL)	18,50±37,09 6,85 (5,20-13,30)	12,77±15,82 2,21 (0,93-24,2)	8,10±10,07 5,79 (4,0-6,76)	0,262
TNF- α (pg/mL)	10,60±7,98 8,39 (5,6-11,24)	7,28±8,95 3,5 (1,54-10,22)	10,08±6,66 10,3 (7,92-13,6)	0,173

^aDA vs CONT; ^bCCL x CONT; ^cDA x CCL

Teste Kruskal-Wallis para amostras independentes

Resultados em média (desvio padrão) e mediana (intervalo interquartil Q1-Q3)

Legenda: CONT= grupo controle; CCL= grupo comprometimento cognitivo leve; DA: grupo doença de Alzheimer

8. DISCUSSÃO

Demências neurodegenerativas são reconhecidamente, condições médicas prevalentes em todo o mundo e estima-se que haverá um aumento em países ocidentais nos próximos anos (PRINCE *et al.*, 2013). Sabidamente, o estado nutricional de um indivíduo pode determinar a evolução de diversas condições o que também vale para o declínio cognitivo e doença de Alzheimer (BENGMARK, 2006). O envelhecimento torna os indivíduos mais vulneráveis à déficits nutricionais pois estes tendem a fazer piores escolhas alimentares, possuem necessidades nutricionais aumentadas e apresentam alterações metabólicas inerentes ao envelhecimento, como por exemplo menor taxa de absorção de nutrientes (LETSIOU *et al.*, 2009). Assim, tornam-se mais suscetíveis aos danos causados pelo estresse oxidativo e processos inflamatórios no sistema nervoso central (BAYER-CARTER *et al.*, 2011 e FRITH *et al.*, 2018). Hoje temos evidência que algumas dietas estão associadas com a menor incidência de demência (VALLS-PEDRET *et al.*, 2015 e SOLFRIZZI *et al.*, 2017).

Neste contexto, o elemento-traço selênio (Se) vem ganhando interesse, tanto do ponto de vista nutricional como também toxicológico (VICENTI *et al.*, 2017). Entretanto, dados na literatura são escassos e divergentes quanto ao metabolismo do Se no cérebro. Este estudo fez uma avaliação do estado nutricional de indivíduos saudáveis, com CCL e com DA em relação ao Se, utilizando amostras de plasma e líquido. Também avaliou as interações do Se e SELENOP com o genótipo *APOE ε4* e biomarcadores precoces de DA no líquido (Aβ42, P-Tau e T-Tau) bem como a ação do Se como elemento anti-inflamatório.

8.1. Selênio, selenoproteína P e cognição

O selênio é um elemento-traço de fundamental importância para saúde humana. As propriedades exercidas por ele se dão por sua incorporação em proteínas, as chamadas selenoproteínas. Dados recentes têm dado uma nova ênfase à ação do Se na fisiologia cerebral, podendo este exercer funções protetoras mas também tóxicas, a depender da forma química e da quantidade (DOMINIAC *et al.*, 2016 e VICENTI *et al.*, 2017). Embora o conteúdo de Se no cérebro seja de apenas 2,3% do total de Se corporal, o cérebro é protegido da depleção deste elemento, em função de uma estrutura hierárquica do metabolismo de Se (SOLOVYEV *et al.*, 2018, e KUHBAKER *et al.*, 2009). Sob condições de baixo suprimento, o cérebro tende a manter concentrações constantes do mineral (BURK e HILL, 2009) e acredita-se que a SELENOP tenha um papel central na manutenção desta hierarquia (KUHBAKER *et al.*,

2009). De fato, o prejuízo na homeostase do Se cerebral ou deficiência grave de Se causam danos neurológicos e podem ser fatais em casos extremos (RAYMAN, 2012 e OZDEMIR, 2011).

O Se tem importância no CCL e na DA em função de suas múltiplas ações. Como um elemento antioxidante, ele protege as células dos danos causados pelo estresse oxidativo por meio da ação de selenoproteínas como a glutathione peroxidase e a SELENOP (LOEF, SCHRAUZER e WALACH, 2011). Os resultados na literatura são bastante divergentes quanto às concentrações de Se na DA. Alguns apontam para menores concentrações de Se (CARDOSO *et al*, 2014, CEBELLOS-PICOT *et al*, 1996, RIKKERT *et al*, 2014) enquanto outros (PAGLIA *et al*, 2016 e KRISHNAN e RANI, 2014), não mostraram alterações quando comparado a indivíduos saudáveis. Estudo de Cardoso *et al*. (2014) reportou uma correlação negativa entre as concentrações de Se eritrocitário e declínio cognitivo, porém sem diferenças no Se plasmático entre os grupos CCL e controle saudável. Já estudo de Rikkert *et al*. (2014) e Vural *et al*. (2010) mostraram baixas concentrações de Se plasmático em pacientes com DA. Tais diferenças entre os estudos podem se dar pela heterogeneidade das metodologias, populações distantes com diferentes faixas etárias, pontuações de MMSE diferentes e falta de dados como estado nutricional dos indivíduos.

O presente estudo não evidenciou diferenças entre o Se plasmático e o Se líquido entre os 3 grupos. No entanto, dentre os 58 pacientes em que se fez a avaliação do Se plasmático, 12 apresentaram deficiência de Se. Entretanto, dado o pequeno número amostral dos indivíduos com deficiência de Se, não foi possível encontrar uma diferença significativa que indicasse a relação da deficiência com os biomarcadores indicativos do CCL e da DA.

No líquido, não há muitos relatos na literatura à respeito do Se em indivíduos com CCL ou DA; os estudos que avaliaram Se em pacientes com DA não observaram diferenças nas concentrações de Se líquido quando comparadas às de indivíduos saudáveis (MESEGUER *et al*, 1999, GERHARDSSON *et al*, 2008 e CARDOSO *et al*, 2017). Neste estudo, não houve diferença entre os grupos, o que vai de encontro aos dados da literatura.

Na regressão linear para estimar os valores de Se plasmático e líquido com base no diagnóstico (CCL e DA), e na presença do alelo *APOE ε4* e gênero simultaneamente, não foram encontradas evidências de que esses fatores possam estar associados às concentrações deste micronutriente.

Em relação aos marcadores da assinatura biológica para DA, também não se observou diferença entre os indivíduos que estavam deficientes em Se dos que não estavam. Também não se observou associação entre Se plasmático e líquido com a assinatura biológica para DA.

Porém, observou-se uma correlação positiva ($r=0,339$ e $p=0,054$), entre a A β 42 e Se líquórico, apesar do valor p não ser $\leq 0,05$. Assim, poderíamos pensar que maiores concentrações de Se no líquido, poderiam contribuir para o aumento de A β 42. Isto sugere um possível efeito protetor do Se, pois quanto maior o valor de A β 42 no líquido, menor a chance da assinatura biológica ser positiva para DA. Após amplo levantamento da literatura, vimos que este foi o primeiro estudo a avaliar a associação do Se plasmático e líquórico com marcadores de DA líquóricos (A β 42, p-Tau e T-Tau) em humanos. Vicenti *et al.* (2017) também fizeram uma avaliação em humanos porém entre diferentes espécies de Se líquórico e assinatura biológica para DA, para verificar se o risco de conversão para DA poderia ser influenciado pela exposição ao Se. Eles observaram que a forma inorgânica (Se(VI)), espécie esta que não é incorporada à proteínas, caracterizada por um metabolismo peculiar e por toxicidade, poderia ser usada para prever a conversão de CCL para DA e possivelmente causar DA. Este efeito contrasta com muitos estudos que mostram o potencial efeito benéfico do Se e das selenoproteínas na progressão de CCL e da DA, tanto em animais (JIN *et al.*, 2017, RUELI *et al.*, 2017, ZHANG *et al.*, 2017) como em humanos (CARDOSO *et al.*, 2016, SMORGAN *et al.*, 2004, RIKKERT *et al.*, 2014). Tal fato poderia ter ocorrido em função do Se(VI) causar estresse oxidativo (GRANT *et al.*, 2011), genotoxicidade e apoptose (BISWAS, TALUKDER e SHARMA, 1997 e CEMELI, MARCOS e ANDERSON, 2006).

Uma correlação importante encontrada neste estudo foi entre Se plasmático e Se líquórico ($r=0,408$; $p=0,023$). Da mesma forma, Cardoso *et al.*, (2017) observaram associação entre concentrações de Se sérico e líquórico, no entanto tal correlação foi apenas observada em um grupo de indivíduos com DA que receberam uma suplementação com altas quantidades de selênio (supranutricional), ao passo que o grupo que recebeu uma suplementação com valores de referência de ingestão, tal correlação não foi observada. Já estudo de Meseguer *et al.* (1999) observou uma tendência contrária, correlação negativa entre selênio plasmático e líquórico. Também estudo de Michalke, Grill e Berthele (2009) não encontrou associação entre Se sérico e Se no líquido de 35 pacientes com queixas neurológicas. Tais divergências podem ser em função da idade, patologia dos participantes, tamanho da amostra, dentre outros. A literatura é bastante escassa quanto a possíveis correlações entre metais no soro e no líquido. Após ampla revisão da literatura sobre este tema, verificamos que o presente estudo e os acima mencionados foram os únicos que avaliaram a correlação entre Se plasmático e líquórico. Se mais estudos confirmarem esta correlação, a dosagem do Se plasmático poderia inferir sobre o *status* de Se no sistema nervoso central, não necessitando portanto, a dosagem líquórica. Entretanto, vale ressaltar, que até o presente momento, não existe um biomarcador padrão ouro para a avaliação

do estado nutricional do indivíduo em relação ao Se, bem como a distribuição do mesmo nos diferentes compartimentos corporais (COMBS, 2015 e LONGNECKER *et al.*, 1996).

Uma ferramenta de diagnóstico para CCL e DA utilizada no presente estudo foi a escala MMSE e a escala CAMCOG, além de testes neuropsicológicos e avaliação funcional. Em ambas as escalas, quanto menor a pontuação, menor a cognição. Na correlação desta pontuação com as concentrações plasmáticas de Se, foi observada uma correlação positiva de Se com MMSE ($r=0,448$; $p=0,003$) e CAMCOG ($r=0,436$; $p=0,004$). No entanto, quando realizada a correção para anos de escolaridade, a correlação tornou-se fraca e não significativa. Alguns outros estudos apontam para associação entre MMSE e Se plasmático; Shahar *et al.* (2010) mostraram que menores concentrações de Se plasmático estavam associados com menor pontuação no MMSE em pacientes com 65 anos de idade ou mais, no entanto não foi feito nenhum tipo de ajuste para a análise. Cardoso *et al.* (2018), observaram que ao suplementarem doses nutricionais e supranutricionais de Se para pacientes com DA, houve uma correlação positiva entre as concentrações de Se liquórico e a pontuação MMSE, com melhora de performance cognitiva. Akbaraly *et al.* (2007) avaliaram a associação das alterações de Se em curto prazo (2 anos) e em longo prazo (9 anos) de uma população de idosos na França. Eles observaram uma maior queda na pontuação de MMSE conforme o declínio nas concentrações de Se, mas só na avaliação após 9 anos. Diferentemente dos estudos mencionados, Chmatalova *et al.* (2017) não encontraram associação entre Se plasmático e pontuação MMSE em indivíduos com CCL e DA. O presente estudo, bem como estudo de Chamatalova *et al.* (2017) são de natureza transversal, assim, não foi possível analisar a evolução da pontuação de MMSE em função das concentrações de Se ao longo do tempo, o que os difere dos demais estudos, e o que pode ter levado a diferentes resultados.

Em relação à SELENOP, não foi encontrada associação entre as concentrações plasmáticas e liquóricas com Se plasmático e Se liquórico. Tal resultado diverge dos achados reportados na literatura. Estudo recente de Brodin *et al.* (2020) mostrou uma correlação positiva entre Se e SELENOP no plasma na etapa inicial do estudo, porém tal correlação não se manteve após infusão endovenosa de selenito. Vale ressaltar que no estudo de Brodin *et al.* (2020) questionou-se o platô de SELENOP, visto que a infusão de selenito em altas concentrações provocou aumento de SELENOP além do valores propostos de platô mencionado em estudos anteriores (HURST *et al.*, 2010, XIA *et al.*, 2010, HILL *et al.*, 1996 e BURK *et al.*, 2006). Também estudo de Hill *et al.* (1996), mostrou uma correlação positiva entre Se plasmático e SELENOP plasmática de jovens de três cidades chinesas com deficiência de Se ou suplementados com Se. Da mesma forma, estudo de Solovyev *et al.* (2013) encontrou

associação entre Se plasmático e SELENOP plasmática, apenas quando os valores séricos de Se eram maiores que $65\mu\text{g/L}$; abaixo deste valor eles não observaram qualquer associação. Já o estudo de Burk *et al.* (2006) vai de encontro aos achados do presente estudo por não terem encontrado associação entre o Se plasmático e a SELENOP no plasma, no entanto, diferente do nosso trabalho, todos os participantes do estudo tinham estado nutricional adequado em relação ao Se.

Também foi avaliada a associação da SELENOP plasmática e líquórica com a assinatura biológica para DA. Não foi observado qualquer tipo de associação. Da mesma forma, quando distribuímos os pacientes naqueles que tiveram valores de SELENOP abaixo do platô e acima do platô, também não observamos qualquer associação. Porém, foi observada uma diferença entre pTau líquórica entre os grupos, sendo que o grupo com valores acima do platô teve menores concentrações de pTau. Até onde conhecemos, este é o primeiro estudo a ter este tipo de resultado e tal diferença entre os grupos indica que altas concentrações de SELENOP plasmática possam contribuir para diminuir os valores líquóricos de proteína tau fosforilada. Não há outros estudos até o presente momento mostrando a associação de SELENOP plasmática com pTau, mas há estudos em modelos animais que mostram a ação do Se em diminuir a proteína tau bem como sua fosforilação. O selenato de sódio reduziu a hiperfosforilação da tau em diferentes modelos de camundongos e em células de neuroblastoma através da ativação da fosfatase 2A (PP2A) (CORCORAN *et al.*, 2010, VAN EERSEL *et al.*, 2010). Da mesma forma, estudo de Xie *et al.* (2018) em que se utilizou um composto de selênio (selênio metil-selenocisteína) em um modelo de camundongos triplamente transgênico para DA; houve redução de estresse oxidativo, neuroinflamação, formação de A β e também redução da hiperfosforilação da tau, com melhora de aprendizado espacial e do déficit de memória. Em humanos não há estudos que tenham mostrado a associação de Se ou mesmo SELENOP e redução da pTau, no entanto, estudos *in vitro* e *in vivo* vem indicando esta importante ação do Se em inibir a PP2A e assim reduzir a fosforilação da tau.

Este estudo também se propôs a quantificar a neurotrofina BDNF nos três grupos e analisar uma possível associação com selênio. Esta neurotrofina regula a sobrevivência de neurônios e é a neurotrofina mais presente no SNC (DINIZ e TEIXEIRA, 2011). Nos últimos anos um grande esforço tem sido direcionado para compreender a relação entre BDNF e a fisiopatologia da DA. Alguns estudos apontam para uma menor concentração desta em pacientes com CLL e DA (FORLENZA, 2010a). No presente estudo, não encontramos diferença entre os três grupos. Também avaliamos a associação de BDNF e Se visto que estudo de Dominiak *et al.* (2017) realizado em ratos, mostrou que a administração de Selol (um doador

de Se orgânico) fez com que não houvesse diminuição da expressão de *BDNF* induzidas por tratamento de LPS. Da mesma forma, Michell *et al.* (1998) mostraram que a deficiência de Se reduziu a expressão de *BDNF* em ratos filhotes. Abedelhaffez e Hassan (2013), investigaram a ação do Se em ratos filhotes com hipotireoidismo; eles observaram que os ratos que foram tratados com Se tiveram maiores concentrações de BDNF no cerebelo e no hipocampo. O presente estudo não encontrou associação entre BDNF e concentrações plasmáticas e líquóricas de Se. Cardoso *et al.* (2018) e um estudo com idosos australianos sem comprometimento cognitivo e com concentrações adequadas de Se, também não encontraram associação entre as concentrações de BDNF e Se plasmático. Até onde conhecemos, o presente estudo e o estudo de Cardoso *et al.* (2018) foram os únicos a avaliar a associação desta neurotrofina com Se em humanos e com resultados divergentes dos encontrados em modelos animais. Desta forma, parece que os achados em animais não se replicam em humanos, no entanto, ainda são poucos os estudos para se estabelecer qualquer tipo de associação.

8.2. Selênio, selenoproteína P e genótipo APOE ε4

A SELENOP é o principal transportador de Se em mamíferos. Esta selenoproteína apresenta dez átomos de Se, um dos quais está situada na região N-terminal, a qual atua como enzima, e os outros nove estão situados no domínio C-terminal rico em selenocisteína (Sec), o qual proporciona um mecanismo de transporte do Se altamente eficiente (FERGUNSON *et al.*, 2012). A estrutura da SELENOP plasmática permanece desconhecida e também não se sabe ao certo quantas isoformas circulantes existem. Um estudo recente (BALLIHASUT *et al.*, 2012) reportou três diferentes isoformas no plasma de humanos, duas com Se incorporado, e uma terceira como uma variante truncada.

No cérebro, o Se tem sua entrada pela SELENOP e esta é incorporada por endocitose após se ligar ao receptor 2 de apolipoproteína E (apoER2) na barreira hemato-encefálica (BHE) em células endoteliais de capilares cerebrais e em células epiteliais do plexo coroide (BURK *et al.*, 2014). O ApoER2 também possibilita a entrada de Se nos neurônios uma vez que está presente nessas células. No cérebro, a SELENOP é principalmente expressa em astrócitos, muito embora seja também encontrada em neurônios em todas as áreas do cérebro, em especial no putâmen e na substância negra (STEINBRENNER *et al.*, 2006 e SCHARPF *et al.*, 2007). Estudos em animais já mostraram que a deleção do gene *SELENOP* ou *APOER2* prejudica a entrada de Se no cérebro e os animais acabam tendo disfunção neurológica grave (SCHWEIZER *et al.*, 2004, RAYMAN *et al.*, 2012 e BURK *et al.*, 2007). A entrada de Se no

cérebro foi prejudicada em camundongos que sofreram “*knockout*” de ApoER2 e estes animais desenvolveram disfunção neurológica. Portanto, há indicação de que o cérebro é dependente de SELENOP para obter Se. Há poucos estudos que reportaram a relação do Se com a ApoE e o receptor de lipoproteína (ApoER2). Tanto a SELENOP como a ApoE usam o receptor ApoER2 para entrega de Se e lipídios respectivamente, apesar de se ligarem em locais diferentes no receptor (TRDIN *et al.*, 2020). Neste contexto, avaliamos as concentrações de Se (plasma e líquido) e SELENOP (plasma e líquido) em carreadores do alelo $\epsilon 4$ e não carreadores. Não foi observada diferença entre as concentrações de Se e SELENOP nos carreadores e não carreadores. Na literatura há estudos que mostraram uma possível interação entre Se e o genótipo *APOE* $\epsilon 4$. Gao *et al.* (2009) observaram menores concentrações de Se na urina de idosos chineses nos carreadores do genótipo *APOE* $\epsilon 4$. Cardoso *et al.* (2017) mostraram uma interação relevante entre *APOE* $\epsilon 4$ e entrega de Se para o cérebro em pacientes com DA. Eles observaram que os carreadores do alelo *APOE* $\epsilon 4$ tinham menores concentrações de Se total no cérebro e menores concentrações na fração da membrana em relação aos não carreadores. Já em um outro estudo (MORRIS *et al.*, 2016) em que foi examinada a associação entre o consumo de peixes, concentrações de mercúrio, concentrações de Se e ApoE $\epsilon 4$ no cérebro de 286 idosos, foi observada uma associação de Se com maior gravidade de emaranhados neurofibrilares. Assim, podemos perceber que os estudos são divergentes e que ainda não é possível estabelecer associação entre o genótipo e concentração de Se no cérebro. No presente estudo, especulávamos que carreadores do alelo *APOE* $\epsilon 4$ teriam uma menor interação da SELENOP com o receptor ApoER2 uma vez que este genótipo pode levar à menor expressão de *APOER2*, e que desta forma a SELENOP seria encontrada em maiores quantidades no líquido. No entanto, não observamos qualquer diferença.

8.3. Marcadores inflamatórios, selênio e demência

Existem evidências consideráveis que uma resposta inflamatória possa estar envolvida na cascata neurodegenerativa da DA. Por exemplo, estudo patológico tem mostrado que citocinas pró-inflamatórias são expressas em maiores quantidades no cérebro de pacientes com DA quando comparado a indivíduos saudáveis. Em cérebros de camundongos transgênicos, as citocinas são encontradas ao redor de placas β amiloides (JOHNSTON, BOUTIN e ALLAN, 2011). Citocinas também foram detectadas no líquido e no sangue periférico de pacientes com CCL e DA, e têm sido reconhecidas como fator de risco da conversão de CCL para DA (TARKOWSKI *et al.*, 2003). Estudo de metanálise (SWARDFAGER *et al.*, 2010) mostrou

maiores concentrações periféricas de IL-6, TNF- α , IL-1 β , TGF- β e IL-12 em indivíduos com DA em relação aos controles saudáveis.

As citocinas podem ativar a micróglia e astrócitos que se tornam grande geradores de neuroinflamação, o que pode contribuir para disfunção neuronal e deterioração cognitiva. Uma das hipóteses para o envolvimento da inflamação na patofisiologia da DA é a de que placas neuríticas e emaranhados neurofibrilares atuem como agentes pró-inflamatórios; estes elementos estimulam a secreção de citocinas pró e anti-inflamatórias, em uma tentativa de reduzir a formação de placas e emaranhados neurofibrilares (JOHNSTON, BOUTIN e ALLAN, 2011). Como consequência, há aumento de estresse oxidativo, que leva à disfunção e morte neuronal. Entretanto, não está completamente claro se a neuroinflamação precede ou contribui para o desenvolvimento de placas neuríticas e dos emaranhados (MAGALHÃES *et al.*, 2018).

Desta forma, como o Se tem capacidade anti-inflamatória, poderia ser mais uma forma dele contribuir para a prevenção e tratamento de CCL e DA. Um mecanismo molecular pelo qual o Se exerce ação anti-inflamatória foi identificado em um polimorfismo do gene que codifica a selenoproteína S (SELS); a presença do polimorfismo foi correlacionado com maiores concentrações de citocinas como IL-6, IL-1 β e TNF- α (CURRAN *et al.*, 2005). Além disso, é sabido que concentrações adequadas de Se no organismo podem contribuir de forma positiva na evolução de doenças inflamatórias como câncer (BANNING *et al.*, 2008), doenças cardiovasculares (FLORES-MATEO *et al.*, 2006), osteoporose (CHENG *et al.*, 2011) dentre outras. Estudo de Alehagen *et al.* (2015) mostrou que a suplementação com Se e Coenzima Q10 diminuiu as concentrações de proteína C reativa (PCR) em pacientes com aterosclerose. Também estudo de Jamilian *et al.* (2018), onde mulheres com síndrome do ovário policístico foram suplementadas com Se e probiótico, tiveram uma melhora significativa em vários aspectos da doença e também nas concentrações de PCR. Há evidências que o Se diminua a inflamação em pacientes com DA pois Tamtaji *et al.* (2019) ao suplementarem Se e probiótico, observaram redução das concentrações de PCR tanto no grupo que recebeu apenas Se como no grupo que recebeu Se e probiótico.

Assim, este estudo se propôs a avaliar se o estado nutricional dos indivíduos em relação ao Se e se as concentrações de Se poderiam estar associadas com as concentrações de marcadores inflamatórios. Em relação a associação de Se plasmático e liquórico com marcadores inflamatórios, não observamos qualquer correlação. Silva (2018) observou correlação negativa entre Se plasmático e IL-6 e IFN- γ , no entanto esta correlação apenas foi observada após suplementação dos participantes do estudo com castanha-do-brasil, fonte alimentar rica em Se.

Também avaliamos a associação da SELENOP plasmática e líquórica com marcadores inflamatórios, observamos correlação positiva das concentrações plasmáticas de PCR, tanto com a SELENOP plasmática ($r=0,551$; $p=0,003$) como a líquórica ($r=0,687$; $p<0,001$). Tais resultados foram inesperados e divergem dos estudos acima mencionados em relação ao Se e marcadores inflamatórios; no entanto é importante ressaltar, que o presente estudo é de natureza transversal e não houve suplementação como nos estudos citados. Houve correlação positiva entre SELENOP plasmática e IL-10 ($r=0,482$; $p=0,002$). A IL-10 tem característica de citocina anti-inflamatória, o que nos diz a favor do Se atuando como um agente anti-inflamatório. Assim, embora a maioria dos parâmetros avaliados no presente trabalho não tenham levado a resultados que pudessem comprovar a hipótese da influência do estado nutricional dos indivíduos quanto ao Se e um possível papel desse micronutriente tanto para redução do risco de doenças neurológicas como para uma eventual melhora dessas condições por meio da suplementação com Se como observado em alguns estudos, este trabalho traz alguns resultados inéditos da concentração de Se e SELENOP no liquor de pacientes com CCL e DA. Podemos também especular sobre algumas tendências que eventualmente poderiam ter significância estatística com o aumento da amostra, abrindo novas perspectivas para estudos futuros.

9. CONCLUSÃO

O estado nutricional de indivíduos saudáveis e de pacientes com CCL e DA em relação ao selênio, não teve influencia nos parâmetros associados a essas patologias, incluindo a presença do genótipo APOE $\epsilon 4$, assinatura biológica para DA, BDNF e marcadores de inflamação.

Como esperado, a SELENOP apresentou correlação positiva com a Interleucina 10, demonstrando o efeito antiinflamatório do Se.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEDELHAFFEZ, A.S.; HASSAN, A. Brain derived neurotrophic factor and oxidative stress index in pups with developmental hypothyroidism: neuroprotective effects of selenium. **Acta Physiologica Hungarica**, v. 100 (2), p.197-210, 2013

AKBARALY, N. T., *et al.* Plasma selenium over time and cognitive decline in the elderly. **Epidemiology**, v.18(1), p. 52–58, 2007.

ALBERT, M.S., *et al.* The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimer's & dementia: The Journal of the Alzheimer's Association**, v.7 (3), p.270–279, 2011.

ALEHAGEN, U., *et al.* Levels of sP-selectin and hs-CRP decrease with dietary intervention with selenium and coenzyme Q10 combined: a secondary analysis of a randomized clinical trial. **PLoS One**, v.16;10(9):e0137680

ALZHEIMER'S DISEASE INTERNATIONAL. World Alzheimer Report. The global economic impact of dementia. Wimo, A., Prince, M. **Alzheimer's Disease International (ADI)**, 2010.

ALZHEIMER'S DISEASE INTERNATIONAL. World Alzheimer Report. Improving the healthcare for people living with dementia. Prince, M., *et al.* **Alzheimer's Disease International (ADI)**, 2016.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th ed.). DSM-5. Washington, DC: Author, 2013

ANGSTWURM, M.W., *et al.* Selenium in intensive care (SIC): results of a prospective randomized, placebo-controlled, multiple-center study in patients with severe systemic inflammatory response syndrome, sepsis, and septic shock. **Critical Care Medicine**, v.35 (1), p.118-26, 2007.

ANSARI, M.A.; SCHEFF S.W. Oxidative stress in the progression of Alzheimer disease in the frontal cortex. **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, v.69(2), p. 155-67, 2010.

ARTHUR, J.R. *et al.* Selenium in the immune system. **Journal of Nutrition**, v.133, p.1457S-1459S, 2003.

BALLARD, C., *et al.* Alzheimer's disease. **Lancet**, v.377, p.1019-31, 2011.

BALLIHAUT, G., *et al.* Multiple forms of selenoprotein P in a candidate human plasma standard reference material. **Metallomics**, v. 4(6), p. 533–538, 2012.

BANNING, A., *et al.* GPx2 counteracts PGE2 production by dampening COX-2 and mPGES-1 expression in human colon cancer cells. **Antioxidants & Redox Signaling**, v.10, p.1491–1500, 2008.

BARAGE, S.H; SONAWANE, K.D. Amyloid cascade hypothesis: pathogenesis and therapeutic strategies in Alzheimer's disease. **Neuropeptides**, v.52, p.1-18, 2015.

BASAMBOMBO, L.L. *et al.* Use of Vitamin E and C Supplements for the Pre-vention of Cognitive Decline. **Annals of Pharmacotherapy**, v.51(2), p. 118-124, 2017

BATISTA, B. L. *et al.* Determination of trace elements in biological samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) with tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature. **Analytica Chimica Acta**, v.646, p. 23-29, 2009.

BAYER-CARTER, J.L. *et al.* Diet intervention and cerebrospinal fluid biomarkers in amnesic mild cognitive impairment. **Archives of neurology**, 68 (6), p.743-52, 2011.

BELLINGER, F.P. *et al.* Association of selenoprotein p with Alzheimer's pathology in human cortex. **Journal of Alzheimer's Disease**, v.15, p.465-472, 2008.

BENGMARK, S. Impact of nutrition on ageing and disease. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v.9(1), p.2-7, 2006.

BENSTOEM, C. *et al.* Selenium and its supplementation in cardiovascular disease-what do we know? **Nutrients**, v.7(5), p.3094-3118, 2015.

BERR, C. *et al.* Cognitive decline is associated with systemic oxidative stress-the EVA study. **Journal of the American Geriatrics Society**, v.48 (10), p.1285-91, 2000.

BERTRAM, L. *et al.* Systematic meta-analyses of Alzheimer disease genetic association studies: the AlzGene database. **Nature Genetics**, v.39 (1), p.17-23, 2007.

BISWAS, S.; TALUKDER, G.; SHARMA, A. Selenium salts and chromosome damage. **Mutation Research**, v.390, p.201-5, 1997.

BOURDEL-MARCHASSON, I. *et al.* Antioxidant defences and oxidative stress markers In: Erythrocytes and plasma from normally nourished elderly Alzheimer patients. **Age and Aging**, v.30 (3), p.235-41, 2001.

BRODIN, O. *et al.* Selenoprotein P as biomarker of selenium status in clinical trials with therapeutic dosages of selenite. **Nutrients**, 12;12(4):1067, 2020.

BROWN, K.M.; ARTHUR, J.R. Selenium, selenoproteins and human health: a review. **Public Health Nutrition**, v.4(2B), p.593-599, 2011.

BURK, R.F.; HILL, K.E. Selenoprotein P-expression, functions, and roles in mammals. **Biochimica et Biophysica Acta**, Nov;1790(11):1441-7, 2009.

BURK, R.F.; HILL, K.E. Selenoprotein P: an extracellular protein with unique physical characteristics and a role in selenium homeostasis. **Annual Review of Nutrition**, v.25, p. 215-235, 2005.

BURK, R.F. *et al.* Effects of chemical form of selenium on plasma biomarkers in a high-dose human supplementation trial. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v.15, n.4, p.804-810, 2006.

BURK, R.F. *et al.* Deletion of apolipoprotein E receptor-2 in mice lowers brain selenium and causes severe neurological dysfunction and death when a low-selenium diet is fed. **The Journal of Neuroscience**, v.27, n.23, p.6207-11, 2007.

BURK, R.F.; HILL, K.E. Selenoprotein P-expression, functions, and roles in mammals. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1790(11), p.1441-7, 2009.

BURK, R.F. *et al.* Selenoprotein P and apolipoprotein E receptor-2 interact at the blood brain barrier and also within the brain to maintain an essential selenium pool that protects against neurodegeneration. **The FASEB Journal**, v.8, p.3579-3588, 2014.

BURK, R.F.; HILL, K.E. Regulation of Selenium Metabolism and Transport. **Annual Review of Nutrition**, v.35, p.109-34, 2015.

CAMOZZATO, A.L. *et al.* Incidence of mild cognitive impairment and Alzheimer disease in Southern Brazil. **Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology**, v.22(3), p.181-187, 2009.

CARDOSO, B.R. *et al.* Nutritional status of selenium in Alzheimer's disease patients. **British Journal of Nutrition** v.103, p. 803-806, 2010.

CARDOSO, B.R., *et al.* Selenium status in elderly: relation to cognitive decline. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.28(4), p.422-426, 2014.

CARDOSO, B.R. *et al.* Selenium, selenoproteins and neurodegenerative diseases. **Metallomics**, v.7, p.1213-1228, 2015.

CARDOSO, B.R., *et al.* Effects of Brazil nut consumption on selenium status and cognitive performance in older adults with mild cognitive impairment: a randomized controlled pilot trial. **European Journal of Nutrition**, v.55(1), p.107-16, 2016.

CARDOSO, B.R. *et al.* The APOE ϵ 4 allele is associated with lower selenium levels in the brain: implications for Alzheimer's disease. **ACS Chemical Neuroscience**, v.8(7), p.1459-1464, 2017.

CARDOSO, B.R. *et al.* Selenium status is not associated with cognitive performance: a cross-sectional study in 154 older Australian adults. **Nutrients**. 10(12):1847, 2018.

CEBALLOS-PICOT, I. *et al.* Peripheral antioxidant enzyme activities and selenium in elderly subjects and in dementia of Alzheimer's type – place of the extracellular glutathione peroxidase. **Free Radical Biology and Medicine**, v.20, p.579-587, 1996.

CEMELI, E.; MARCOS, R.; ANDERSON, D. Genotoxic and antigenotoxic properties of selenium compounds in the in vitro micronucleus assay with human whole blood lymphocytes and TK6 lymphoblastoid cells. **The Scientific World Journal**. v.6, p.1202–10, 2006.

- CENINI, G. *et al.* Elevated levels of pro-apoptotic p53 and its oxidative modification by the lipid peroxidation product, HNE, in brain from subjects with amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v.12, p.987-994, 2008.
- CHAUHAN, V.; CHAUHAN, A. Oxidative stress in Alzheimer's disease. **Pathophysiology**, v.13, p.195-208, 2006.
- CHEN, J.; BERRY, M.J. Selenium and selenoproteins in the brain and brain diseases. **Journal of Neurochemistry**, v.86(1), p.1-12, 2003.
- CHENG, A.W.M. *et al.* Selenomethionine inhibits IL-1 β inducible nitric oxide synthase (iNOS) and cyclooxygenase 2 (COX2) expression in primary human chondrocytes. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.19, p.118–125, 2011
- CHMATALOVA, Z. *et al.* Relation of plasma selenium and lipid peroxidation end products in patients with Alzheimer's disease. **Physiological Research**. v.66(6), p.1049-1056, 2017
- CHOURAKI, V.; SESHADRI, S. Genetics of Alzheimer's disease. **Advances in Genetics**, v.87, p.245-294, 2014.
- CICERO, C.E. *et al.* Metals and neurodegenerative diseases. A systematic review. **Environmental Research**, v.159, p.82-94, 2017.
- COLPO, E. *et al.* Brazilian nut consumption by healthy volunteers improves inflammatory parameters. **Nutrition**, v.30, p.459-465, 2014.
- COMBS, G.F.JR. Biomarkers of selenium status. **Nutrients** v.7, p.2209–2236, 2015
- COMINETTI, C. *et al.* (2011a) Estresse oxidativo, selênio e nutrigenética. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**. Brazilian Journal of Food and Nutrition, v.36, n.3, p.131-153.
- COMINETTI, C. *et al.* Association between glutathione peroxidase-1 Pro198Leu polymorphism, selenium status, and DNA damage levels in obese women after consumption of Brazil nuts. **Nutrition**, v.9, p.891-896, 2011b.
- CORCORAN, N.M., *et al.* Sodium selenate specifically activates PP2A phosphatase, dephosphorylates tau and reverses memory deficits in an Alzheimer's disease model. **Journal of Clinical Neuroscience**, v.17, p.1025–1033, 2010.
- COSTA, N.A. *et al.* Erythrocyte selenium concentration predicts intensive care unit and hospital mortality in patients with septic shock: a prospective observational study. **Critical Care**, v.18, n.3, R92, 2014.
- CRUMP, C.J.; JOHNSON, D.S.; LI, Y.M. Development and mechanism of γ -secretase modulators for Alzheimer's disease. **Biochemistry**. v.52(19), p.3197-3216, 2013.
- CURRAN, J.E. *et al.* Genetic variation in selenoprotein S influences inflammatory response. **Nature Genetics**, v.37, p.1234–1241, 2005.

DAS, B.C.; DASGUPTA, S.; RAY, S.K. Potential therapeutic roles of retinoids for prevention of neuroinflammation and neurodegeneration in Alzheimer's disease. **Neural Regeneration Research**, v.14(11), p.1880-1892, 2010

DAS, S.; BASU, A. Inflammation: a new candidate in modulating adult neurogenesis. **Journal of Neuroscience Research**, v.86(6), p.1199–1208 , 2008.

DE BRUJIN, R.F. *et al.* The potential for prevention of dementia across two decades: the prospective, population-based Rotterdam Study. **BMC Medicine**, v.13, p.132, 2015.

DE LUIGI, A. *et al.* Inflammatory markers in Alzheimer's disease and multi-infarct dementia, **Mechanisms of Ageing and Development**, v.122, p.1985-1995, 2001.

DE PAULA, V.J. *et al.* Alzheimer's disease. **Subcellular Biochemistry**, v.65, p.329-352, 2012.

DEMIRCI, K., *et al.* Selenium attenuates apoptosis, inflammation and oxidative stress in the blood and brain of aged rats with scopolamine-induced dementia. **Metabolic Brain Disease**, v.32(2), p.321-329, 2017

DENG, Z. *et al.* Effects of selenium on lead-induced alterations in A β production and Bcl-2 family proteins. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.39(1), p.221-8, 2015.

DINIZ, B.S.; PINTO JÚNIOR, J.A.; FORLENZA, O.V. Do CSF total tau, phosphorylated tau, and beta-amyloid 42 help to predict progression of mild cognitive impairment to Alzheimer's disease? A systematic review and meta-analysis of the literature. **The World Journal of Biological Psychiatry**:. v. 9(3), p.172-82, 2008.

DINIZ, B.S.; TEIXEIRA, A.L. Brain-derived neurotrophic factor and Alzheimer's disease: physiopathology and beyond. **Neuromolecular Medicine**. v.13(4), p.217-22, 2011

DOMINIAK, A. *et al.* Selenium in the therapy of neurological diseases. Where is it going? **Current Neuropharmacology**, v.14(3), p.282-99, 2016.

DONADIO, J.L.S. *Polimorfismos nos genes da enzima glutationa peroxidase e biomarcadores do estado nutricional relativo ao selênio em população adulta de São Paulo*. 2011. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

DRINGEN, R. Metabolism and functions of glutathione in brain. **Progress in Neurobiology**, v.62, n.6, p. 649:71, 2000.

DU, X., *et al.* Selenoprotein P and selenoprotein M block Zn²⁺-mediated A β ₄₂ aggregation and toxicity. **Metallomics**, v.5, p.861-70, 2013.

DUMONT, E.; VANHAECKE, F.; CORNELIS, R. Selenium speciation from food source to metabolites: a critical review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.385(7),p.1304-1323, 2006.

DUNTAS, L.H. Selenium and inflammation: underlying anti-inflammatory mechanisms. **Hormone and Metabolic Research**, v.41, n.6, p.443-7, 2009.

DYSKEN, M.W. *et al.* Effect of vitamin E and memantine on functional decline in Alzheimer disease: the TEAM-AD VA cooperative randomized trial. **Journal of the American Medical Association**, v.311(1), p.33-44, 2014.

ESCOTT-PRICE, V. *et al.* Common polygenic variation enhances risk prediction for Alzheimer's disease. **Brain**, v.138, p.3673–3684, 2015.

European Food Safety Authority (EFSA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for copper. **EFSA Journal**, v.13, n.10, p.4253, 2015.

FANG, K.M. *et al.* Trace element, antioxidant activity, and lipid peroxidation levels in brain cortex of gerbils after cerebral ischemic injury. **Biological Trace Element Research**, v.152(1), p.66-74, 2013.

FAIRWEATHER-TAIT, S. J. *et al.* Selenium in human health and disease. **Antioxidants & Redox Signaling**, v.14, p.1337–1383, 2011.

FERGUSON, L.R. *et al.* Selenium and its role in the maintenance of genomic stability. **Mutation Research**, v.733(1–2), p.100–110, 2012.

FLORES-MATEO, G. *et al.* Selenium and coronary heart disease: a meta-analysis. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.84(4), p.762-73, 2006.

FORLENZA, O.V. *et al.* Increased serum IL-1beta level in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders**, 28(6):507-512, 2009

FORLENZA, O.V. *et al.* Clinical and biological predictors of Alzheimer's disease in patients with amnesic mild cognitive impairment. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v.32(3), p.216-222, 2010 (a)

FORLENZA, O.V. *et al.* Effect of brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and serum levels on the progression of mild cognitive impairment. **World Journal of Biological Psychiatry**, v.11(6), p. 774–780, 2010 (b).

FORLENZA, O.V. *et al.* Mild cognitive impairment. Part 1: clinical characteristics and predictors of dementia. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v.35(2), p.178-85, 2013.

FORLENZA, O.V. *et al.* Decreased Neurotrophic Support is Associated with Cognitive Decline in Non-Demented Subjects. **Journal of Alzheimer's Disease**, v.46(2), p.423-9, 2015.

FRITH, E. *et al.* Dietary inflammatory index and memory function: population-based national sample of elderly Americans. **British Journal of Nutrition**, v.119(5), p.552-558, 2018

GAO, S. *et al.* Selenium level is associated with apoE epsilon4 in rural elderly Chinese. **Public Health Nutrition**, v.12(12), p.2371-6, 2009.

GARCIA, T. *et al.* Oxidative stress status and RNA expression in hippocampus of an animal model of Alzheimer's disease after chronic exposure to aluminum. **Hippocampus**, v. 20(1), p.218-25, 2010.

GERHARDSSON, L. *et al.* Metal concentrations in plasma and cerebrospinal fluid in patients with Alzheimer's disease. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders**, v.25(6), p.508-15, 2008.

GIUNTA, B. *et al.* Inflammaging as a prodrome to Alzheimer's disease. **J Neuroinflammation**, 5:51, 2008.

GLASS, C. K. *et al.* Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. **Cell**, v.140(6), p.918-934, 2010

GRANT, K. *et al.* Adenosine 5'-phosphosulfate reductase (APR2) mutation in Arabidopsis implicates glutathione deficiency in selenate toxicity. **Biochemical Journal**, v.438, p.325-35, 2011.

GUGLIELMOTTO, M. *et al.* Oxidative stress mediates the pathogenic effect of different Alzheimer's disease risk factors. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v.2, p.1-8, 2010.

HARATAKE, M. *et al.* Elevated amyloid- β plaque deposition in dietary selenium-deficient Tg2576 transgenic mice. **Metallomics**, v.5, p.479-83, 2013.

HAWKES, W.C.; HORNBOSTEL, L. Effects of dietary selenium on mood in healthy men living in a metabolic research unit. **Biological Psychiatry**, v.39, p.121-28, 1996.

HEFFERNAN, A.L.; *et al.* The neurobiology and age-related prevalence of the ϵ 4 allele of apolipoprotein E in Alzheimer's disease cohorts. **Journal of Molecular Neuroscience**, v.60, n.3, p.316-24, 2016.

HEPPNER, F.L.; RANSOHOFF, R.M.; BECHER, B. Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. **Nature Reviews Neuroscience**. v.16(6), p.358-72, 2015.

HERUKKA, S.K. *et al.* CSF A β 42, Tau and phosphorylated Tau, APOE epsilon4 allele and MCI type in progressive MCI. **Neurobiology of Aging**, v.28(4), p.507-514, 2007.

HILL, K.E. *et al.* Selenoprotein P concentration in plasma is an index of selenium status in selenium-deficient and selenium-supplemented Chinese subjects. **Journal of Nutrition**, v.126(1), p.138-45, 1996

HILL, K.E. *et al.* Deletion of selenoprotein P alters distribution of selenium in the mouse. **Journal of Biological Chemistry**. v.278(16), p.13640-13646, 2003.

HILL, K.E. *et al.* Selenoprotein p concentration in plasma is an index of selenium status in selenium-deficient and selenium-supplemented chinese subjects. **Journal of Nutrition**, v.126, p.138-145, 1996.

- HOFFMANN, P.R. *et al.* The selenoproteome exhibits widely varying, tissue-specific dependence on selenoprotein P for selenium supply. **Nucleic Acids Research**, v.35, p.3963-3973, 2007.
- HOLTZMAN, D.M. *et al.* Apolipoprotein E isoform-dependent amyloid deposition and neuritic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.97, p. 2892 – 7, 2000.
- HU, Y.; RUSSEK, S. J. BDNF and the diseased nervous system: a delicate balance between adaptive and pathological processes of gene regulation. **Journal of Neurochemistry**, v.105, p. 1–17, 2008.
- HURST, R. *et al.* Establishing optimal selenium status: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.91, p.923–931. 2010
- HURST, R. *et al.* EURRECA-Estimating selenium requirements for deriving dietary reference values. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.53(10), p.1077-1096, 2013
- IMBIMBO, B.P.; LOMBARD, J.; POMARA, N. Pathophysiology of Alzheimer's disease. **Neuroimaging Clinics of North America**, v.15(4), p.727-53, 2005.
- INSTITUTE OF MEDICINE. National academies press. Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids. **Washington (DC): National Academies Press (US)**;, 2000.
- ISLAM, M.T. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders. **Neurological Research**, v.39(1), p.73-82, 2017.
- JAMILIAN, M. *et al.* The effects of probiotic and selenium co-supplementation on parameters of mental health, hormonal profiles, and biomarkers of inflammation and oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome. **Journal of Ovarian Research**, v.11(1), p.80, 2018.
- JIN, N, *et al.* Sodium selenate activated Wnt/ β -catenin signaling and repressed amyloid- β formation in a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease. **Experimental Neurology**. v.297, p.36-49, 2017.
- JOHNSTON, H.; BOUTIN, H., ALLAN, S.M. Assessing the contribution of inflammation in models of Alzheimer's disease. **Biochemical Society Transactions**, v.39(4), p. 886–890, 2011
- KARCH, C.M.; GOATE, A.M. Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. **Biological Psychiatry**, v.77, p.43–51, 2015.
- KEESE-GUYOT, E. *et al.* French adults' cognitive performance after daily supplementation with antioxidant vitamins and minerals at nutritional doses: a post hoc analysis of the supplementation in vitamins and minerals antioxidants (SU.VI.MAX) trial. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.94, p.892-899, 2011.
- KING, E. *et al.* Peripheral inflammation in prodromal Alzheimer's and Lewy body dementias. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, v.89(4), p.339-345, 2018.

KIPP, A.P. *et al.* Revised reference values for selenium intake. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**. v.32, p.195-9, 2015

KOSSINOVA, O. *et al.* A novel insight into the mechanism of mammalian selenoprotein synthesis. **RNA (Nova York, NY)**, v.19, n.8, p.1147-58, 2013.

KNOPMAN, D.S., PETERSEN, R.C. Mild Cognitive Impairment and Mild Dementia: A clinical perspective. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 89, n.10, p.1452–1459, 2014.

KRISHNAN, S.; RANI, P. Evaluation of selenium, redox status and their association with plasma amyloid/tau in Alzheimer's disease. **Biological Trace Element Research**, v.158, p. 158-165, 2014.

KRYSCIO, R.J. *et al.* Association of antioxidant supplement use and dementia in the prevention of Alzheimer's disease by Vitamin E and selenium trial (PREADViSE). **JAMA Neurology**, v.74, n.5, p.567-573, 2017.

KÜHBACHER, M. *et al.* The brain selenoproteome: priorities in the hierarchy and different levels of selenium homostasis in the brain of selenium-deficient rats. **Journal of Neurochemistry**, v.110, p.133-142, 2009.

LABUNSKYY, V. M.; HATFIELD, D. L.; GLADYSHEV, V. N. Selenoproteins: molecular pathways and physiological roles. **Physiological Reviews**, v.94, p.739-77, 2014.

LAMBERT, M.A. *et al.* Estimating the burden of early onset dementia; systemic review of disease prevalence. **Eur J Neurol**, v.21, p.563-69, 2014.

LANE, C.A; HARDY, J.; SCHOTT, J.M. Alzheimer's disease. **European Journal of Neurology**, v.25(1), p.59-70, 2018.

LATTA, C. H.; BROTHERS, H. M.; WILCOCK, D. M. Neuroinflammation in Alzheimer's disease; a source of heterogeneity and target for personalized therapy. **Neuroscience**, v.302, p.103-111, 2015.

LEE, K.S. *et al.* Nutritional risk and cognitive impairment in the elderly. **Archives of Gerontology and Geriatrics – Journal**, v.48, p.95-99, 2009.

LEE, Y.J. *et al.* Inflammation and Alzheimer's Disease. **Archives of Pharmacal Research**, v.33(10), p.1539-56, 2010.

LETSIOU, S. *et al.* Serum total selenium status in Greek adults and its relation to age. The ATTICA study cohort. **Biological Trace Element Research**, v.128(1), p.8-17, 2009.

LI, F.J.; SHEN, L.; JI, H.F. Dietary intakes of vitamin E, vitamin C, and β -carotene and risk of Alzheimer's disease: a meta-analysis. **Journal of Alzheimer's Disease**, v.31(2), p.253-8, 2012.

LIM, Y.; ZHONG, J.H.; ZHOU XF. Development of mature BDNF-specific sandwich ELISA. **J Journal of Neurochemistry**, v.134(1), p.75-85, 2015.

- LOEF, M.; SCHRAUZER, G.N.; WALACH, H. Selenium and Alzheimer's disease: a systematic review. **Journal of Alzheimer's Disease**, v.26, p. 81-104, 2011.
- LONGNECKER, M.P. *et al.* Use of selenium concentration in whole blood, serum, toenails, or urine as a surrogate measure of selenium intake. **Epidemiology**. v.7(4), p.384-90, 1996.
- MAEHIRA, F. *et al.* Alterations of serum selenium concentrations in the acute phase of pathological conditions, **Clinica Chimica Acta**, v. 316, n:1-2, p.137-46, 2002.
- MAES, M. *et al.* A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative processes in that illness. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v.35, p.676-92, 2011.
- MAGALHÃES, T.N.C. *et al.* Systemic inflammation and multimodal biomarkers in amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. **Molecular Neurobiology**, v.55(7), p.5689-97, 2018
- MARIANI, E. *et al.* Oxidative stress in brain aging, neurodegenerative and vascular diseases: an overview. **Biomedical & Life Sciences**, v.827(1), p.65-75, 2005.
- MAROTTOLI, F.M. *et al.* Peripheral inflammation, apolipoprotein E4, and amyloid-beta interact to induce cognitive and cerebrovascular dysfunction. **ASN Neuro**, 9(4):1759091417719201, 2017
- MARTENS, A.; COZZOLINO, S. M. F. Mapeamento da distribuição de selênio em território brasileiro por meio da análise de alimentos nativos: feijão (*FASEOLOS VULGARIS* L.) e carne bovina para consumo humano e águas e solos oriundas. Relatório PROCESSO FAPESP 00/11578-3 VINCULADO AO PROCESSO 00/11699- 5, 2002.
- MARTINI, F. *et al.* A multifunctional compound ebselen reverses memory impairment, apoptosis and oxidative stress in a mouse modelo F sporadic Alzheimer's disease. **Journal of Psychiatric Research**, v.109, p.107-117, 2019.
- MATTSSON, N. *et al.* CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. **JAMA The Journal of the American Medical Association**, v.302(4), p.385-393, 2009.
- MC KHANN, G. *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**, v.34, p.939-44, 1984.
- MENDELEV, N. *et al.* Selenite stimulates mitochondrial biogenesis signaling and enhances mitochondrial functional performance in murine hippocampal neuronal cells. **PloSOne**, v.7, n.10, :e47910, 2012.
- MESEGUER, I. *et al.* Cerebrospinal fluid levels of selenium in patients with Alzheimer's disease. **Journal of Neural Transmission**, v.106(3-4), p.309-15, 1999.

- MICHALKE, B.; GRILL, P.; BERTHELE, A. A method for low volume and low Se concentration samples and application to paired cerebrospinal fluid and serum samples. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.23(4), p.243-50, 2009
- MITCHELL, J.H. *et al.* Selenoprotein expression and brain development in preweanling selenium and iodine-deficient rats. **Journal of Molecular Endocrinology**, 20, 203e210, 1998.
- MITOZO, P.A., *et al.* A study of the relative importance of the peroxiredoxin-, catalase-, and glutathione-dependent systems in neural peroxide metabolism. **Free Radical Biology and Medicine**, v.51, n.1, p.69-77, 2011.
- MOGHADASZADEH, B.; BEGGS, A.H. Selenoproteins and their impact on human health through diverse physiological pathways. **Physiology (Bethesda)**, v.21, p.307-315, 2006.
- MORRIS, M.C., *et al.* MIND diet slows cognitive decline with aging. **Alzheimer's & Dementia**, v.11, p.1015-22, 2015.
- NAVARRO-ALARCON, M.; CABRERA-VIQUE, C. Selenium in food and the human body: a review. **Science of the Total Environment**, v.1(3), p.115-141, 2008.
- NITRINI, R. *et al.* Incidence of dementia in a community-dwelling Brazilian population. **Alzheimer Disease and Associated Disorders**, v.18(4), p.241-246, 2004.
- NORTON, S. *et al.* Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: an analysis of population-based data. **The Lancet Neurology**, v.13, p.788-94, 2014.
- NG, T.P. *et al.* Metabolic syndrome and the risk of mild cognitive impairment and progression to dementia: follow-up of the Singapore Longitudinal Ageing Study Cohort. **JAMA Neurology**, v.73(4), p.456-63, 2016.
- OJOPI, E.P.B.; BERTONCINI, A.B.; DIAS NETO, E. Apolipoproteína E e a doença de Alzheimer. **Revista de Psiquiatria Clínica: São Paulo**, v. 31, n. 1, p. 26-33, 2004.
- OZDEMIR, E. Physiopathological role of selenium and selenoprotein in neuropsychiatric disease. **Journal of Medical Sciences**, v.11, p.11-18, 2011.
- PAGLIA, G. *et al.* Distinctive pattern of serum elements during the progression of Alzheimer's disease. **Scientific Reports**, 6:22769, 2016.
- PALTA, P. *et al.* Depression and oxidative stress: results from a meta-analysis of observational studies. **Psychosomatic Medicine**, v. 76, n.1, p.12-9, 2014.
- PANDYA, S.Y, *et al.* Does mild cognitive impairment always lead to dementia? A review. **Journal of the Neurological Sciences**, v.369, p.357-362, 2016
- PAPP, L.V. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. **Antioxidants & Redox Signaling**, v.9, n.7, p.775-806, 2007.

- PARUDARIU, M. *et al.* Changes of some oxidative stress markers in the serum of patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**, v. 469, p. 6–10, 2010.
- PETERS, U. Serum selenium and risk of prostate cancer - a nested case-control study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.85, n.1, p.209-217, 2007.
- PETERSEN, R.C. *et al.* Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. **Arch Neurol**, v. 56, p. 303–308, 1999.
- PETERSEN, R.C. *et al.* Practice parameter: early detection of dementia: mild cognitive impairment (an evidence-based review). **Neurology**, v. 56, p.1133–1142, 2001.
- PETERSEN, R.C. *et al.* Prevalence of mild cognitive impairment is higher in men. The Mayo clinic study of aging. **Neurology**, v.75, p.889–97, 2010.
- PETERSEN, R.C. Clinical practice. Mild cognitive impairment. **The New England Journal of Medicine**, v.364, n.23, p.2227–2234, 2011.
- PITTS, M.W. *et al.* Selenoproteins in nervous system development and function. **Biological Trace Element Research**, v.161 (3), p. 231-45, 2014.
- PRINCE, M. *et al.* The global prevalence of dementia: a systematic review and metaanalysis. **Alzheimers Dement**, v. 9, n.1, p.63-75 e62, 2013.
- RAMOS, P., *et al.* Anatomical regional differences in selenium levels in the human brain. **Biological Trace Element Research**, v.163(1-2), p.89-96, 2015.
- RAYMAN, M.P. Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. **British Journal of Nutrition**, v.100, n.2, p.254-268, 2008.
- RAYMAN MP. Selenium and human health. **Lancet**, v.379(9822), p.1256-68, 2012.
- RAMAN, A.V. *et al.* Absence of selenoprotein P but not selenocysteine lyase results in severe neurological dysfunction. **Genes, Brain and Behavior**, v.11(5), p.601-13, 2012.
- REDDY, P.H. Abnormal tau, mitochondrial dysfunction, impaired axonal transport of mitochondria, and synaptic deprivation in Alzheimer's disease. **Brain Research**, v.1415, p.136-48, 2011.
- REEVES, M.A.; HOFFMANN, P.R. The human selenoproteome: recent insights into functions and regulation. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.66, n.15, p.2457-2478, 2009.
- RIKKERT, O. *et al.* Differences in nutritional status between very mild Alzheimer's disease patients and healthy controls. **Journal of Alzheimer's Disease**, v.41, p.261-71, 2014.
- ROBERTS, G.W. *et al.* Beta amyloid protein deposition in the brain after severe head injury: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. **Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry**, v.57(4), p.419-425, 1994.

- ROCHA, A.V. *Estado nutricional relativo ao selênio de crianças ribeirinhas do estado de Rondônia*. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- ROMAN, M.; JITARU, P.; BARBANT, C. Selenium biochemistry and its role for human health. **Metallomics**, v.6 (1), p.25-54, 2014.
- ROTTKAMP, C. *et al.* Oxidative stress, antioxidants, and Alzheimer disease. **Alzheimer Disease and Associated Disorders**, v.14(1), p.S62-6, 2000.
- RUELI, R.H.L.H. *et al.* Increased selenoprotein P in choroid plexus and cerebrospinal fluid in Alzheimer's disease brain. **Journal of Alzheimer's Disease**, v.44, p.379-383, 2015.
- SACHDEV, P.S. *et al.* Classifying neurocognitive disorders: the DSM-5 approach. **Nature Reviews Neurology**, v.10(11), p.634-642, 2014.
- SANFORD AM. Mild Cognitive Impairment. **Clinics in Geriatric Medicine**, v.33(3), p.325-337, 2017.
- SANTOS, L.B. *Polimorfismo Pro198Leu no gene que codifica para a glutatona peroxidase 1 e sua relação com o estado nutricional relativo ao selênio de uma população adulta residente no município de Fortaleza, Ceará*. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.
- SANZ-BLASCO, S. *et al* Mitochondrial Ca²⁺ overload underlies Abeta oligomers neurotoxicity providing an unexpected mechanism of neuroprotection by NSAIDs. **PLoS ONE**, 3:e2718, 2008.
- SCHARPF, M. *et al.* Euronal and ependymal expression of selenoprotein P in the human brain. **Journal of Neural Transmission**, v.114(7), p.877-884, 2007.
- SCHWEIZER, U. Selenium and brain function: a poorly recognized liaison. **Brain Research Reviews**, v.45(3), p.164-78, 2004.
- SCHOMBURG, L. *et al.* Gene disruption discloses role of selenoprotein P in selenium delivery to target tissues. **Biochemical Journal**, v. 370(2), p.397-402, 2003.
- SHAHAR, A. *et al* Plasma selenium is positively related to performance in neurological tasks assessing coordination and motor speed. **Movement Disorders**, v.25(12), p.1909-15, 2010.
- SHELTENS, P. *et al.* Efficacy of a medical food in mild Alzheimer's disease: a randomized, controlled trial. **Alzheimer's Dementia**, v.6, p.1-10, 2010.
- SILVA, G.B. *Efeito do consumo de castanhas-do-brasil (Bertholettia excelsa H.B.K.) sobre os biomarcadores inflamatórios e o estado nutricional relativo ao selênio de mulheres obesas*. 96p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2018.

SMITH, M.A. *et al.* Increased iron and free radical generation in preclinical Alzheimer Disease and Mild Cognitive Impairment. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 19, n. 1, p. 363–372, 2010.

SMORGON, C. *et al.* Trace elements and cognitive impairment: an elderly cohort study. **Archives of gerontology and geriatrics**, v.9, p.393-402, 2004.

SOLFRIZZI, V. *et al.* Relationships of dietary patterns, foods, and micro and macronutrients with Alzheimer's Disease and late-life Cognitive Disorders: a systematic review. **Journal of Alzheimer's Disease**, v.59(3), p.815-849, 2017.

SOLOVYEV, N. *et al.* Selenium speciation in paired serum and cerebrospinal fluid samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.405(6), p.1875-84, 2013.

SOLOVYEV, N. *et al.* Selenium, selenoprotein P, and Alzheimer's disease: is there a link? **Free Radical Biology and Medicine**, v.127, p.124-133, 2018.

SOLOVYEV N. Selenoprotein P and its potential role in Alzheimer's disease. **Hormones**, v.19(1), p.73-79, 2020.

SONG, G. *et al.* Selenomethionine ameliorates cognitive decline, reduces tau hyperphosphorylation, and reverses synaptic deficit in the triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v.41, p.85-99, 2014.

SPACCAVENTO, S. *et al.* Influence of nutritional status on cognitive, functional and neuropsychiatric deficits in Alzheimer's disease. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v.48, p.356-60, 2009.

STEINBRENNER, H.; SIES, H. Selenium homeostasis and antioxidant selenoproteins in brain: implications for disorders in the central nervous system. **Archives of Biochemistry and Biophysics** v.15, n. 536(2), p.152-7, 2013.

STEINBRENNER, H. *et al.* Involvement of selenoprotein P in protection of human astrocytes from oxidative damage. **Free Radical Biology and Medicine**. v.40(9), p.1513–1523, 2006.

STOCKLER-PINTO, M. *et al.* Effect of Brazil nut supplementation on the blood levels of selenium and glutathione peroxidase in hemodialysis patients. **Nutrition**, v.26, p.1065-1069, 2010.

STOCKLER-PINTO, M.B. *et al.* Brazil Nut (*Bertholletia excelsa*, H.B.K.) improves oxidative stress and inflammation biomarkers in hemodialysis patients. **Biological Trace Element Research**, v.158, v.1, p.105-112, 2014.

STOLL, G.; JANDER, S.; SCHROETER, M. Cytokines in CNS disorders: neurotoxicity versus neuroprotection. **Journal of Neural Transmission**, v.59, p.81–89, 2000.

SU, C. *et al.* Peripheral inflammatory biomarkers in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a systematic review and meta-analysis. **Psychogeriatrics**, v.19(4), p.300-309, 2019.

SULTANA, R.; PERLUIGI, M.; BUTTERFIELD, D.A. Oxidatively modified proteins in Alzheimer's disease (AD), mild cognitive impairment and animal models of AD: role of Aβ in pathogenesis. **Acta Neuropathologica**, v.118, p.131-150, 2009.

SUTHERLAND, G.T. *et al.*. Oxidative stress in Alzheimer's disease: Primary villain or physiological by-product?. **Redox Report**, 18(4):134-141, 2013.

SUZUKI, K.T. Metabolomics of selenium: Se metabolites based on speciation studies. **Journal of Health Science**, v.51, n.2, p.107-114, 2005.

SWARDFAGER, W. *et al.* A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease. **Biological Psychiatry**, 68(10):930, 2010.

TAMTAJI, O.R. *et al.* Probiotic and selenium co-supplementation, and the effects on clinical, metabolic and genetic status in Alzheimer's disease: A randomized, double-blind, controlled trial. **Clinical Nutrition**, v.38(6), p.2569-2575, 2019.

TAPIA-ARANCIBIA, L. *et al.* New insights into brain BDNF function in normal aging and Alzheimer disease. **Brain Research Reviews**, v.59(1), p.201–220, 2008.

TARKOWSKI, E. *et al.* Intrathecal inflammation precedes development of Alzheimer's disease. **Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry**, v.74(9), p.1200–1205, 2003.

THANAN, R. *et al.* Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v.16, p.193-217, 2015.

THOMSON, C.D. Selenium and iodine intakes and status in New Zealand and Australia. **British Journal of Nutrition**, v.91, p.661-672, 2004.

Thomson CD. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. **European Journal of Clinical Nutrition**, Mar;58(3):391-402, 2004.

TRAULSEN, H. *et al.*. Selenoprotein P protects low-density lipoprotein against oxidation. **Free Radical Research**, v.38(2), p.123-128, 2004.

TRDIN, A. *et al.* Trace elements and APOE polymorphisms in pregnant women and their newborns. **Environment International**, 143:105626, 2020.

UGUS, A.C.; NAZIROGLU, M. Effect of selenium on calcium signaling and apoptosis in rat dorsal root ganglion neurons induced by oxidative stress. **Neurochemical Research**, v.37(8), p.1631-8. 2012.

UTTARA, B. *et al.* Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. **Current Neuropharmacology**, v.7, p.65-74, 2009.

VALLS-PEDRET, C. *et al.* Mediterranean diet and age-related cognitive decline: A randomized clinical trial. **JAMA Internal Medicine**, v.175, p.1094–1103, 2015.

VAN EERSEL, J. *et al.* Sodium selenate mitigates tau pathology, neurodegeneration, and functional deficits in Alzheimer's disease models. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.107, p.13888–13893, 2010.

VASTO, S. *et al.* Inflammation, genes and zinc in Alzheimer's disease. **Brain Research. Review**, v.58, p.96-105, 2008.

VASTO, S. *et al.* Alzheimer's disease and genetics of inflammation: a pharmacogenomic vision. **Pharmacogenomics**, v.8, p.1735-45, 2007.

VINCETI, M. *et al.* A selenium species in cerebrospinal fluid predicts conversion to Alzheimer's dementia in persons with mild cognitive impairment. **Alzheimer's Research & Therapy**, 19;9(1):100, 2017.

VINCETI, M. *et al.* Selenium and selenium species in the etiology of Alzheimer's dementia: The potential for bias of the case-control study design. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.53, p.154-162, 2019.

VURAL, H. *et al.* Alterations of plasma magnesium, copper, zinc, iron and selenium concentrations and some related erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with Alzheimer's disease. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 24, n.3, p. 169-73, 2010.

WEEKS, B.S.; HANNA, M.S.; COOPERSTEIN, D. Dietary selenium and selenoprotein function. **Medical Science Monitor**, v.18, n.8, p.127-132, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION; PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Encuesta multicéntrica: salud, bien estar y Envejecimiento (SABE) en América Latina y el Caribe. Anales da 36ª Reunión Del Comité Asesor de Investigaciones en salud. Washington (DC): **World Health Organization**, 2001.

WU, L.; SUN, D. Adherence to Mediterranean diet and risk of developing cognitive disorders: An updated systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. **Scientific Reports**, 7:41317, 2017.

WYSS-CORAY, T.; ROGERS, J. Inflammation in Alzheimer disease-A brief review of the basic science and clinical literature. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, 2, a006346, 2012.

XIA, Y.M. *et al.* Optimization of selenoprotein p and other plasma selenium biomarkers for the assessment of the selenium nutritional requirement: A placebo-controlled, double-blind study of selenomethionine supplementation in selenium-deficient chinese subjects. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.92, p.525–531,2010.

XIE, Y. *et al.* Se-Methylselenocysteine Ameliorates Neuropathology and Cognitive Deficits by Attenuating Oxidative Stress and Metal Dyshomeostasis in Alzheimer Model Mice. **Molecular Nutrition & Food Research**, 62, e1800107, 2018.

YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: a review. **Journal of Food Science and Technology (LWT)**, v.42, p.1573-1580, 2009.

YE, X.; TAI, W.; ZHANG D. The early events of Alzheimer's disease pathology: from mitochondrial dysfunction to BDNF axonal transport deficits. **Neurobiology of Aging**, 33(6):1122.e1-10, 2012.

YOO, M.H. *et al.* Delineating the role of glutathione peroxidase 4 in protecting cells against lipid hydroperoxide damage and in Alzheimer's disease. **Antioxidants & Redox Signaling**, v.12(7), p.819-27, 2010.

YOSHIYAMA, Y.; LEE, V.M.; TROJANOWSKI, J.Q. Therapeutic strategies for tau mediated neurodegeneration. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v.84(7), p.784-95, 2013.

ZACHARA, B.A. *et al.* Tissue level, distribution and total body selenium content in healthy and diseased human in Poland. **Archives of Environmental & Occupational Health**, v.56, p.461-466, 2001.

ZHANG, S. *et al.* Comparative analysis of selenocysteine machinery and selenoproteome gene expression in mouse brain identifies neurons as key functional sites of selenium in mammals. **Journal of Biological Chemistry**, v.283, p.2427-2438, 2008.

ZHANG, S.; ROCOUT, C.; CHENG, W.H. Selenoproteins and the aging brain. **Mechanisms of Ageing and Development**, v.131(4), p.253-60, 2010.

ANEXOS

ANEXO 1- Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa HC FMUSP/CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Instituto Nacional de Biomarcadores em Neuropsiquiatria (INBION)

Pesquisador: Wagner Farid Gattaz

Área Temática: Genética Humana:

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

Versão: 14

CAAE: 66092117.0.1001.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO
FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.438.275

Apresentação do Projeto:

O projeto é apresentado como um protocolo que reúne vários projetos de natureza multidisciplinar e multiinstitucional com a co-participação da UNICAMP, que prevê a coleta de material biológico dos participantes para o desenvolvimento de projetos específicos, que interagem por meio da comparação dos diferentes resultados, na busca de substratos biológicos das doenças neuropsiquiátricas como pré-requisito para o desenvolvimento de terapias mais eficazes e, sobretudo, de estratégias preventivas através do diagnóstico precoce.

Grupos de pacientes das diferentes categorias diagnósticas (Esquizofrenia, o Transtorno Bipolar, Doença de Alzheimer, indivíduos com Comprometimento Cognitivo Leve, idosos com queixas de memória) serão estudados simultaneamente em 6 dimensões: neuroquímica, neuroimagem, neuromodulação, neurocognição/psicopatologia, genômica e proteômica. Os achados nestes grupos serão comparados com um grupo controle de indivíduos saudáveis. Adicionalmente, serão também investigados nestas 6 dimensões indivíduos com transtornos subclínicos, que apresentam sintomas psiquiátricos esporádicos (por exemplo alucinações ou ideias paranóides) sem todavia desenvolver a doença psiquiátrica completa. Este grupo intermediário permitirá investigar estádios de transição para esclarecer o continuum entre saúde e doença nas dimensões clínicas e neurodiagnósticas.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira César **CER:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappelq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 3.438.275

Objetivo da Pesquisa:

O projeto conforme apresentado reúne diferentes projetos voltados para o estudo de aspectos etiológicos comuns e marcadores diferenciais entre a Esquizofrenia, o Transtorno Bipolar e a Doença de Alzheimer. Esses pacientes serão estudados simultaneamente em 6 dimensões, a saber: 1. Neuroquímica; 2. Neuroimagem; 3. Neuromodulação; 4. neurocognição e psicopatologia; 5. genômica; 6. Proteômica, sendo que cada uma delas apresenta objetivos específicos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os desconfortos e riscos esperados são específicos para cada módulo de atuação. De maneira geral:

- para os processos da coleta de sangue o risco é o de apresentar dor, desconforto ou hematoma.
- Com relação à coleta de líquido, o risco envolve apresentação de dor de cabeça ao levantar, sensações cutâneas subjetivas (ex., frio, calor, formigamento, pressão etc.), dor local, infecção, meningite, sangramento e excepcionalmente óbito.
- Para o procedimento da Estimulação magnética transcraniana, a colocação de touca de tecido na cabeça para mapeamento magnético, que não traz dor, mas pode trazer algum desconforto. Dor de cabeça é possível acontecer, mas é de leve intensidade e incomum. Pode ocorrer sensação de contração muscular nos membros durante o exame.
- Durante o exame de ressonância magnética, o desconforto é o do tempo em que é preciso ficar no aparelho e o barulho forte que o aparelho faz.
- Nos exames de PET ou SPECT, há o desconforto de uma picada de injeção, para que seja injetado o material do exame e a necessidade de ficar imóvel.

Em relação aos benefícios, não há benefício direto para o participante; trata-se de estudo experimental. É possível, mas não garantido, que os pacientes com estas doenças possam ser beneficiados pelos resultados deste estudo no futuro, bem como seus familiares. O estudo visa maior esclarecimento dos mecanismos biológicos responsáveis pelo aparecimento de transtorno psiquiátricos. De posse destes conhecimentos, espera-se conseguir, no futuro, melhores estratégias para o tratamento do referido transtorno.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto conforme apresentado reúne iniciativas de projetos múltiplos e fará a coleta de material biológico e outros dados dos pacientes com diferentes doenças psiquiátricas. É um projeto de 6 anos que fará acompanhamento desses pacientes para estudo da evolução dos respectivos

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 3.438.275

quadros clínicos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Essa emenda tem por objetivo solicitar a inclusão da aluna Adriana Gisele Hertzog da Silva Leme no projeto em questão. A aluna será responsável por determinar os níveis periféricos de marcadores inflamatórios e fator neurotrófico cerebral em pacientes com Doença de Alzheimer, comprometimento cognitivo leve e idosos saudáveis. Será responsável também por monitor os parâmetros nutricionais inferidos a partir do exames de rotina.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Inclusão da aluna Adriana Gisele Hertzog da Silva Leme.

Não há pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_1385805_E4.pdf	25/06/2019 12:12:13		Aceito
Outros	Carta_emenda_equipe.pdf	25/06/2019 12:08:14	Wagner Farid Gattaz	Aceito
Outros	Carta_emenda_PB_WFG.pdf	17/01/2019 14:57:22	Wagner Farid Gattaz	Aceito
Outros	Projeto_DoutoradoACC_PB.docx	17/01/2019 14:55:57	Wagner Farid Gattaz	Aceito
Outros	Carta_pendencia.doc	09/10/2018 16:01:01	Wagner Farid Gattaz	Aceito
Outros	justificativa_emenda_2.pdf	09/10/2018 15:56:39	Wagner Farid Gattaz	Aceito
Outros	Projeto_CA_emenda2.docx	19/09/2018 11:36:33	Wagner Farid Gattaz	Aceito
Outros	Carta_riscos.doc	24/07/2018 14:34:27	Wagner Farid Gattaz	Aceito
Outros	Carta_tcle.doc	03/07/2018 11:01:49	Wagner Farid Gattaz	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEInBion_aprovado_INBION.docx	03/07/2018 10:49:36	Wagner Farid Gattaz	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappelq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 3.438.275

Outros	Carta2_emenda1.doc	25/06/2018 16:39:21	Wagner Farid Gattaz	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	INBioN.doc	08/06/2018 14:56:39	Wagner Farid Gattaz	Aceito
Outros	projetochecklist.pdf	08/06/2018 14:51:46	Wagner Farid Gattaz	Aceito
Outros	2249_0001anexol.pdf	08/06/2018 14:51:32	Wagner Farid Gattaz	Aceito
Outros	ProjetoHPGJ_Emenda_1.docx	08/06/2018 14:28:03	Wagner Farid Gattaz	Aceito
Outros	Declaracao_PlataformaBrasil.pdf	27/04/2018 11:11:36	Wagner Farid Gattaz	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	RegulamentoFuncional_Biorrepositorio.p df	15/12/2017 16:18:45	Wagner Farid Gattaz	Aceito
Folha de Rosto	2248_0001folhaderosto.pdf	22/03/2017 14:02:54	Wagner Farid Gattaz	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 04 de Julho de 2019

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
 (Coordenador(a))

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

ANEXO 2- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DA PESQUISA

TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA “INSTITUTO NACIONAL DE BIOMARCADORES EM NEUROPSIQUIATRIA (IN-BION)”

PESQUISADOR PRINCIPAL: Wagner Farid Gattaz

CARGO/FUNÇÃO: Professor Titular do Departamento de Psiquiatria/Psiquiatra

DEPARTAMENTO/INSTITUTO: Departamento e Instituto de Psiquiatria – Ipq HCFMUSP

1 – Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que visa ao estudo de biomarcadores e suas alterações em indivíduos portadores de (i) doença de Alzheimer (DA), (ii) Comprometimento Cognitivo Leve (CCL), (iii) indivíduos idosos com queixas ou sintomas leves de memória insuficientes para caracterizar as condições acima, mas que representam uma condição de risco para declínio cognitivo, (iv) Transtorno bipolar (TB), (v) Esquizofrenia, (vi) Transtornos subclínicos e (vii) indivíduos jovens saudáveis (grupo controle), estabelecendo-se possíveis correlações entre as doenças em estudo. Pelo fato dos transtornos psiquiátricos não serem totalmente esclarecidos, faz-se necessário desenvolver exames específicos que possam efetivamente diferenciá-los permitindo um tratamento mais específico.

2 – Procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais: Se você decidir participar, deverá ser preenchida uma ficha de histórico e avaliação clínica (psiquiátrica e cognitiva) e serão realizados os seguintes procedimentos:

- Coleta de 10-40 mL (equivalente a 3 colheres de sopa) de sangue por punção periférica da veia do antebraço;
- Coleta de 12-15mL (equivalente a 1 colher de sopa) de líquido cefalorraquidiano (LCR) ou líquido, no período matutino, por punção na coluna lombar no nível do espaço entre a terceira e a quarta vértebras lombares com uma agulha fina; Nota: apenas serão submetido à punção lombar para coleta de LCR os participantes com transtornos neurocognitivo e/ou comportamentais; indivíduos do grupo controle serão excluídos deste procedimento;
- Ressonância Magnética Cerebral;
- Tomografia por emissão de pósitron e
- Estimulação Magnética Transcraniana
- Avaliação Neuropsicológica

As amostras de sangue e líquido serão utilizadas para as determinações bioquímicas e genéticas. Todo material será codificado de modo que a identidade dos participantes não seja revelada.

3 – Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados: Se você concordar em participar deste estudo serão coletadas amostras de seu sangue por punção periférica da veia do antebraço. Você poderá fazer também uma coleta de líquido, se desejar e preencher os critérios para realização deste procedimento. Para realizar este exame, você deverá ficar sentado imóvel e será feita uma punção (‘picada’) nas suas costas com uma agulha fina e estéril, que será jogada fora depois do uso. Este procedimento é seguro e será feito por um profissional qualificado e experiente (neurologista ou anestesista). Será retirada uma amostra do líquido que banha a medula, chamado ‘líquor’, na qual serão feitas análises laboratoriais. Você fará também um exame que avalia o cérebro chamado ressonância magnética. Nesse exame você deitará numa espécie de cama que se move lentamente dentro de um tubo largo, que faz parte do equipamento. Após iniciado o exame para registrar as imagens do cérebro, você deverá manter a cabeça imóvel dentro do tubo. Durante o exame você ouvirá em alguns momentos barulhos fortes que indicam que o equipamento está funcionando. Enquanto você estiver deitada dentro da máquina, poderá se comunicar conosco e, se for necessário, interromperemos o exame para que você possa sair do equipamento. Este é um exame bastante comum e é muito usado. Não serão usados remédios ou drogas durante o exame.

Pode ser que você também seja convidado a fazer um segundo exame que vê o funcionamento do cérebro chamado PET (Tomografia por Emissão de Pósitrons). Para realizar esses exames será preciso injetar na sua veia uma medicação que é radioativa. É também preciso que você esteja de jejum de 8 horas. Você receberá a injeção da medicação na veia e permanecerá deitado em repouso numa sala sem muita luz ou barulho até a hora do exame, ficando também deitado num equipamento parecido com a ressonância. É preciso sua colaboração para não mexer a cabeça durante o exame. Apesar da medicação ser radioativa, ela é segura e não causa malefícios para a sua saúde. A quantidade de radiação que você receberá é pequena, e menor que a radiação de um exame de Radiografia com contraste. A ocorrência de qualquer alergia ou reação pela medicação é muito rara. Para a realização da Estimulação Magnética Transcraniana, você deverá sentar-se em uma cadeira especializada e receberá estímulos magnéticos no couro cabeludo com um aparelho apropriado. Isso estimulará sua mão, na qual serão colocados eletrodos com gel sobre a pele (sem uso de agulhas) que medirão como sua mão se comporta com esta estimulação. Isso dura por volta de 30 minutos. Não há uso de agulhas, o exame é indolor e realizado por um médico especialista.

Para a realização de todos esses exames, será necessário que você compareça por pelo menos 4 dias ao Hospital. Dia 1: você passará em consulta com um médico da equipe que fará a avaliação inicial, isso levará em média 2 horas; dia 2: você fará a coleta de sangue em jejum e fará os exames de imagem do cérebro, nesse dia você ficará no hospital por 4 horas; dia 3: Neste dia você realizará um exame neuropsicológico com profissionais especializados. Nesse exame você participará de vários testes, que podem durar até duas horas; dia 4: neste dia você realizará a coleta de líquido, para esse exame você precisará ficar no hospital por 2 horas.

Você passará por consulta médica e realizará os exames de sangue a cada 12 meses.

4 – Desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3: Para os processos da coleta de sangue você poderá apresentar dor, desconforto ou hematoma quando o sangue for retirado. Com relação à coleta de líquido, você poderá apresentar dor de cabeça ao levantar, sensações na pele (ex., frio, calor, formigamento, pressão etc.), dor local. Raramente pode ocorrer infecção da pele no local da picada, o que normalmente não traz consequências importantes e pode ser tratada com medicamento de uso local. Muito raramente, podem ocorrer infecções mais profundas causando meningite, com risco de morte. Mas asseguramos que, até hoje, em nosso serviço, estas complicações mais graves nunca ocorreram e tomaremos todos os cuidados para que continue assim. Para o procedimento da Estimulação Magnética

Transcraniana, a colocação de touca de tecido na cabeça para mapeamento magnético, que não traz dor, mas pode trazer algum desconforto. Dor de cabeça é possível acontecer, mas é de leve intensidade e incomum. Pode ocorrer sensação de contração muscular nos membros durante o exame, mas isto é parte do procedimento e não é desconfortável. Outros efeitos colaterais não foram observados durante este exame, que é utilizado há mais de 25 anos por dezenas de centros de pesquisa. Durante o exame de ressonância magnética, o desconforto é o do tempo em que é preciso ficar no aparelho. Algumas pessoas podem se sentir incomodadas com o barulho forte que o aparelho faz. Geralmente, as pessoas conseguem relaxar e completar o exame sem grandes dificuldades. Não há outros riscos esperados neste tipo de exame. Caso você se sinta desconfortável, o exame será interrompido imediatamente e reiniciado um pouco mais tarde, se você assim desejar. Nos casos em que for também realizado o exame de avaliação de imagem do cérebro (PET), você sentirá o desconforto de uma picada de injeção, para que seja injetado o material do exame. Durante estes exames, você deverá se esforçar para não mexer a cabeça. As imagens do cérebro obtidas não serão utilizadas para outro fim, senão o de estudar o tamanho, a forma e o funcionamento de várias regiões do seu cérebro, pelos pesquisadores responsáveis pelo estudo.

5 – Benefícios para o participante: Não há benefício direto para o participante; trata-se de estudo experimental. É possível, mas não garantido, que os pacientes com estas doenças possam ser beneficiados pelos resultados deste estudo no futuro, bem como seus familiares. O estudo visa maior esclarecimento dos mecanismos biológicos responsáveis pelo aparecimento de transtorno psiquiátricos. De posse destes conhecimentos, espera-se conseguir, no futuro, melhores estratégias para o tratamento do referido transtorno. Os dados obtidos nos exames de ressonância magnética e de PET poderão mostrar com mais precisão quais as áreas no cérebro com algum tipo de funcionamento diferente nas pessoas acometidas de algum transtorno.

6 – Duração da pesquisa: 72 meses

7 – Garantia de acesso: Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr. Wagner Farid Gattaz que pode ser encontrado no endereço Rua Ovídio Pires de Campos, 785, São Paulo – SP. Telefone 2661-8010. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre

a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: (11) 2661-7585, (11) 2661-1548, (11) 2661-1549 – E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

8 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

9 – É garantido o direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente.

10 – É garantido o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

11 – Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. As despesas de alimentação e transporte serão ressarcidas. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. Não há compensação financeira relacionada à sua participação, porém em caso de qualquer intercorrência médica causada direta ou indiretamente pelos procedimentos da pesquisa você receberá todo o atendimento médico necessário, por nossa equipe no Instituto de Psiquiatria e/ou Hospital das Clínicas. Em caso de dano decorrente dessas intercorrências, você será indenizado conforme legislação vigente.”

12 – É compromisso do pesquisador utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “**INSTITUTO NACIONAL DE BIOMARCADORES EM NEUROPSIQUIATRIA (IN-BION)**”

Eu discuti com o Dr. Wagner Farid Gattaz sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em

participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

_____ Data ____/____/____
Assinatura do paciente/representante legal

_____ Data ____/____/____
Assinatura da testemunha

Para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(SOMENTE PARA O RESPONSÁVEL DO PROJETO)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

_____ Data ____/____/____
Assinatura do responsável pelo estudo

**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO (OU ETIQUETA INSTITUCIONAL DE IDENTIFICAÇÃO)
DO PARTICIPANTE DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME: _____

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: _____

SEXO: M F

DATA NASCIMENTO: ____ / ____ / ____

ENDEREÇO: _____ Nº: _____ APTO: _____

BAIRRO: _____ CIDADE: _____

CEP: _____ TELEFONE: (____) _____

2. RESPONSÁVEL LEGAL: _____

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.): _____

DOCUMENTO DE IDENTIDADE: _____

SEXO: M F

DATA NASCIMENTO: ____ / ____ / ____

ENDEREÇO: _____ Nº: _____ APTO: _____

BAIRRO: _____ CIDADE: _____

CEP: _____ TELEFONE: (____) _____

ANEXO 3- Ficha do Aluno

9132 - 2220910 / 2 - Adriana Gisele Hertzog da Silva Leme

Email: giseleleme@usp.br
Data de Nascimento: 28/12/1975
Cédula de Identidade: RG - 14.685.663-6 - SP
Local de Nascimento: Estado de São Paulo
Nacionalidade: Brasileira
Graduação: Farmacêutico - Bioquímico - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo - São Paulo - Brasil - 2000

Curso: Doutorado Direto
Programa: Ciência dos Alimentos
Área: Nutrição Experimental
Data de Matrícula: 01/02/2017
Início da Contagem de Prazo: 01/02/2017
Data Limite para o Depósito: 01/02/2021
Orientador: Prof(a). Dr(a). Sílvia Maria Franciscato Cozzolino - 01/02/2017 até o presente Email: smfcozzo@usp.br
Proficiência em Línguas:
 Inglês, Aprovado em 01/02/2017
Data de Aprovação no Exame de Qualificação: Aprovado em 05/04/2019
Data do Depósito do Trabalho:
Título do Trabalho:
Data Máxima para Aprovação da Banca:
Data de Aprovação da Banca:
Data Máxima para Defesa:
Data da Defesa:

Resultado da Defesa:

Histórico de Ocorrências: Primeira Matrícula em 01/02/2017
Nova Matrícula em 17/07/2017

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 6542 em vigor de 20/04/2013 até 28/03/2018).

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 27/07/2020

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
FBA5899-3/1	Biodisponibilidade de Nutrientes e de Substâncias Bioativas em Alimentos e Dietas	01/03/2017	11/04/2017	90	6	100	A	N	Concluída
FBA5712-6/3	Fisiologia da Nutrição I	02/03/2017	12/04/2017	90	6	100	A	N	Concluída
QBQ5893-2/1	Processos Redox em Bioquímica (Instituto de Química - Universidade de São Paulo)	01/08/2017	13/11/2017	60	4	100	B	N	Concluída
FBC5780-2/4	Análise de Dados Aplicados às Pesquisas Biológicas	07/08/2017	17/09/2017	90	6	95	A	N	Concluída
QBQ5710-11/1	Biologia Molecular do Gene (Instituto de Química - Universidade de São Paulo)	16/08/2017	07/11/2017	180	0	-	-	N	Matrícula cancelada
HNT5759-3/1	Genômica Nutricional no Contexto das Doenças Crônicas não Transmissíveis (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	26/09/2017	31/10/2017	60	4	93	A	N	Concluída
FBC5722-5/2	Controle Hormonal da Resposta Inflamatória	02/04/2018	22/04/2018	60	4	100	A	N	Concluída
FBC5954-1/1	Redação de Trabalhos Científicos	12/04/2018	18/04/2018	15	0	-	-	N	Matrícula cancelada
MPS5810-1/1	Roadmap Básico para Escrita Científica (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	07/08/2018	17/09/2018	60	0	-	-	N	Pré-matrícula indeferida
ICB5752-1/5	Como Comunicar Sua Ciência: Melhorando a Oratória e a Empatia com o Público (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	27/08/2018	10/09/2018	30	2	100	A	N	Concluída
HNT5737-5/1	Ciência de Alimentos (Faculdade de Saúde)	02/04/2019	21/05/2019	60	4	87	A	N	Concluída

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
	Pública - Universidade de São Paulo)								
HNT5710-6/2	Micronutrientes em Estudos Populacionais (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	16/05/2019	27/06/2019	30	0	-	-	N	Matrícula cancelada
HNT5709-6/2	Dietas e Doenças Crônicas não Transmissíveis (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	20/05/2019	14/06/2019	30	0	-	-	N	Matrícula cancelada
FBA5753-2/2	Nutrigenômica e Programação das Doenças Crônicas Não-Transmissíveis	30/09/2019	06/10/2019	30	2	100	A	N	Concluída
FBA5752-2/1	Probióticos em Alimentos e suas Implicações na Saúde Humana	15/10/2019	25/11/2019	60	4	91	A	N	Concluída
FBA5905-2/3	Planejamento Experimental e Análise Multivariada	18/02/2020	14/06/2020	60	4	100	A	S	Concluída
HNT5709-7/1	Dietas e Doenças Crônicas não Transmissíveis (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	27/04/2020	01/06/2020	60	4	100	A	S	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito de tese	
Disciplinas:	0	20	42
Estágios:			
Total:	0	20	42

Créditos Atribuídos à Tese: 172

Conceito a partir de 02/01/1997:

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.

Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.



Este documento eletrônico dispensa carimbo e assinatura. Sua autenticidade pode ser comprovada fornecendo-se o código de controle na seguinte página da Universidade de São Paulo: <https://uspdigital.usp.br/iddigital>

Documento emitido às 11:24:01 horas do dia 19/11/2020 (hora e data de Brasília)

Código de controle: WD7V-AJKV-YS3L-Z3YH

Código de controle válido até: 19/12/2020

ANEXO 4- Questionários CAMCOG e MMSE

Questionário CAMCOG aplicado aos pacientes

Orientação

Tempo

120. <i>Em que dia da semana nós estamos?</i>	Incorreto	0	
	Correto	1	9
<i>Qual é data de hoje?</i>			
121. <i>Dia</i>	Incorreto	0	
	Correto	1	9
122. <i>Mês</i>	Incorreto	0	
	Correto	1	9
123. <i>Ano</i>	Incorreto	0	
	Correto	1	9
124. <i>Em que semestre do ano nós estamos?</i>	Incorreto	0	
	Correto	1	9

Local

127. <i>Diga o nome de duas ruas importantes perto daqui (ou perto de sua casa)</i>	Incorreto	0	
	Correto	1	9
128. <i>Em que andar deste prédio nós estamos?</i>	Incorreto	0	
	Correto	1	9

Linguagem

Compreensão: Resposta motora

A instrução deve ser repetida integralmente, se o sujeito não completar toda a seqüência de tarefas, sem alteração no tom de voz ou velocidade, para assegurar que seja ouvida e compreendida. Não é permitido sugerir e instruir o sujeito tarefa por tarefa.

Eu irei pedir que você execute algumas tarefas. Por favor, ouça com atenção.

132. <i>Antes de olhar para o teto, olhe para o chão</i>	Incorreto	0	
	Correto	1	9
133. <i>Bata de leve duas vezes, em cada ombro, com dois dedos, mantendo seus olhos fechados</i>	Incorreto	0	
	Correto	1	9

Questionário CAMCOG aplicado aos pacientes

Expressão: Nomeação

138. <i>Vou lhe mostrar alguns objetos. Por favor, diga-me o nome de cada um deles</i>	Sapato, sandália	—	
Mostre 'Figuras para nomear' no livreto	Máquina de escrever	—	
	Balança	—	
	Mala, valise	—	
	Relógio de parede	—	
	Abajur, lâmpada de mesa	—	
	Total	—	9

139. *Diga-me o nome de quantos animais você puder lembrar. Você tem um minuto de tempo.*

Apenas se o paciente pedir esclarecimento, explique que entre os animais estão incluídos pássaros, insetos, humanos, etc. Se este estiver hesitante, tente encorajá-lo com 'Você poderia pensar em mais algum?'

Registre o número correto em um minuto (repetições não são consideradas).

Liste todos os itens no espaço abaixo

Número correto	_____
Nota:	
Recodificação	0 = 0
	1-4 = 1
	5-9 = 2
	10-14 = 3
	15-19 = 4
	20-24 = 5
	25+ = 6

Expressão: Definições

Na questão 143 uma definição concreta recebe 1 e uma definição abstrata, 2. Exemplos são dados ao lado de cada pontuação.

143. <i>O que é uma opinião?</i>	Incorreto	0	
	Uma boa opinião sobre alguém	1	
	Uma ideia pessoal sobre algo	2	9

Memória**Evocação**

146. *Você pode me dizer quais eram os objetos nas figuras coloridas que eu lhe mostrei pouco tempo atrás?*

A descrição ou os nomes são aceitáveis.

Assinale cada ítem corretamente evocado e registre o número de itens corretos no campo 'total'

Sapato, sandália	—	
Máquina de escrever	—	
Balança	—	
Mala, valise	—	
Relógio de parede	—	
Abajur, lâmpada de mesa	—	
Total	—	9

Reconhecimento

147. *Quais destas figuras eu lhe mostrei antes?*

Mostre 'Figuras para reconhecimento' no livreto.

Assinale cada item corretamente lembrado e registre o número de itens corretos no campo 'total'

Sapato, sandália	—	
Máquina de escrever	—	
Balança	—	
Mala, valise	—	
Relógio de parede	—	
Abajur, lâmpada de mesa	—	
Total	—	9

Recuperação de informação remota

Agora eu vou fazer algumas perguntas sobre o passado.

150. <i>Quem foi o Presidente da República que construiu Brasília?</i>	Incorreto	0	
	Correto (Juscelino Kubitschek)	1	9

151. Quem foi o Presidente da República que renunciou 7 meses depois de assumir o cargo?	Incorreto	0	
	Correto (Jânio Quadros)	1	9

153. Qual era o nome do Presidente da República que se suicidou no cargo?	Incorreto	0	
	Correto (Getúlio Vargas)	1	9

Recuperação de informação recente

154. Qual é o nome do atual Presidente da República?	Incorreto	0	
	Correto	1	9

155. Quem o antecedeu?	Incorreto	0	
	Correto	1	9

156. Qual é o nome do atual Governador do Estado?	Incorreto	0	
	Correto	1	9

157. Você poderia me dizer alguma coisa que foi notícia nas últimas duas semanas? Se uma resposta geral for dada, i.e. 'guerra', pergunte por detalhes	Incorreto	0	
	Correto	1	9

Registro**Atenção/concentração**

159. Agora eu gostaria que você fizesse uma contagem regressiva de 20 até 1	Dois ou mais erros	0	
	Um erro	1	
	Correto	2	9

160. Agora eu gostaria que você subtraísse 7 de 100. Em seguida, subtraia 7 do número que você obteve. Continue subtraindo 7 até eu lhe dizer para parar. Registre as respostas. Dê 1 ponto cada vez que a diferença for 7, mesmo que a resposta anterior seja incorreta. Escore máximo=5 pontos	93	—	
	86	—	
	79	—	
	72	—	
	65	—	
	Total	—	9

Escrita: Ditado

171. Escreva este nome e endereço no envelope: João da Silva Rua José Camargo, 42 Perdizes	Incorreto	0	
	Pobre, mas aceitável	1	
	Correto	2	

A ortografia e caligrafia não são importantes.

O critério é se a carta chegará ou não ao destinatário:
i.e. 'Jão da Siva' é aceitável; '24' e 'Perdidos' são incorretos.
Em seguida diga:

Por favor, tente se lembrar deste nome e endereço, pois eu pedirei que você os repita mais tarde.

Se o sujeito é incapaz de escrever, diga o endereço devagar, duas vezes, e peça para que ele o memorize

Praxia**Cópia e desenho**

O indivíduo deve desenhar e escrever numa folha de papel em branco

164. <i>Copie este desenho (pentágono)</i>	Incorreto	0	
Cada pentágono deve possuir 5 lados e 5 cantos claramente definidos e as intersecções devem formar um diamante	Correto	1	9
166. <i>Copie este desenho (casa em 3D)</i>	Incorreto	0	
Requer janelas, porta e chaminé na posição correta e desenhados em 3D	Correto	1	9
167. <i>Desenhe um relógio grande e coloque todos os números nele</i>	Círculo	—	
Quando o sujeito tiver feito isso, diga:	(quadrado é aceitável)		
<i>'Agora coloque os ponteiros, indicando dez para as onze.'</i>	Todos os números em posições corretas	—	
	Hora correta	—	
	Total	—	9

Praxia: Ideomotora

Nas questões 173 a mímica correta é necessária. Se o sujeito usa os dedos para representar tesoura ou escova diga, por exemplo, 'Faça de conta que você está segurando uma escova de dentes'. Dê 1 ponto se o sujeito fizer movimentos de escovação, mas não se estiver apenas segurando uma escova de dentes.

173. <i>Mostre-me como você cortaria com uma tesoura</i>	Incorreto	0	
	Resposta concreta	1	
	Mímica correta	2	9

Memória: Fixação

178. <i>Qual era o nome e o endereço que você escreveu no envelope pouco tempo atrás?</i>	João	—	
Assinale cada item correto e registre o número de respostas certas no 'total'	da Silva	—	
	Rua José Camargo	—	
	42	—	
	Perdizes	—	
	Total	—	9

Pensamento Abstrato

Estas questões investigam a capacidade de pensar de forma abstrata. Respostas abstratas recebem 2, respostas concretas, 1. Exemplos são dados ao lado de cada pontuação. Se o sujeito disser: 'Eles não são semelhantes', diga: 'Eles são semelhantes de alguma maneira. Você poderia me dizer de que maneira eles são semelhantes?'

Eu vou lhe dizer o nome de duas coisas e gostaria que você me dissesse de que maneira elas são semelhantes. Por exemplo, um cachorro e um macaco são semelhantes porque ambos são animais.

179. De que maneira uma maçã e uma banana se assemelham?	Redondo, tem calorias	0	
	Alimento, germina, tem casca	1	
Registre a resposta.	Fruta	2	9
Somente nesta questão, se a pontuação for menor que 2 diga:			
'Elas também são semelhantes porque ambas são frutas'			
180. De que maneira uma camisa e um vestido se assemelham?	Tem botões	0	
	Para vestir, feito de pano, mantém você aquecido	1	
Registre a resposta	Roupa, vestimenta	2	9
181. De que maneira uma mesa e uma cadeira se assemelham?	De madeira, tem 4 pés, objeto doméstico	0	
	Usado para refeições	1	
Registre a resposta	Móveis	2	9

Percepção: Visual

Constância de objeto

184. Estas são fotografias de objetos tiradas de ângulos não usuais. Você pode me dizer o que são estes objetos?	Óculos	—
	Sapato	—
O critério é se os objetos são reconhecidos, não importando se são nomeados corretamente. Assim, descrições de função são aceitáveis.	Mala, bolsa	—
Assinale cada item respondido corretamente e registre o número de acertos no 'total'	Xícara e pires	—
	Telefone	—
	Cachimbo	—
	Total	—

Pontuação Final _____

Questionário MMSE aplicado aos pacientes

MINI EXAME DO ESTADO MENTAL

1) Como o Sr(a) avalia sua memória atualmente?

- (1) muito boa (2) boa (3) regular (4) ruim (5) péssima
(6) não sabe

Total de pontos:

2) Comparando com um ano atrás, o Sr (a) diria que sua memória está:

- (1) melhor (2) igual (3) pior (4) não sabe

Total de pontos:

ORIENTAÇÃO TEMPORAL:

Anote um ponto para cada resposta certa:

3) Por favor, diga-me:

Dia da semana () Dia do mês () Mês () Ano () Hora
aprox. ()

Total de pontos:

ORIENTAÇÃO ESPACIAL:

Anote um ponto para cada resposta certa

4) Responda:

Onde estamos: consultório, hospital, residência ()

Em que lugar estamos: andar, sala, cozinha ()

Em que bairro estamos: ()

Em que cidade estamos ()

Em que estado estamos ()

Total de pontos:

REGISTRO DA MEMÓRIA IMEDIATA:

5) Vou lhe dizer o nome de três objetos e quando terminar, pedirei para repeti-los, em qualquer ordem. Guarde-os que mais tarde voltarei a perguntar: Arvore, Mesa, Cachorro.

A () M () C ()

Obs: Leia os nomes dos objetos devagar e de forma clara, somente um a vez e anote. Se o total for diferente de três: - repita todos os objetos até no máximo três repetições; - anote o número de repetições que fez ____; - nunca corrija a primeira parte; anote um ponto para cada objeto lembrado e zero para os que não foram lembrados.

Total de pontos: ATENÇÃO E CALCULO:

6) Vou lhe dizer alguns números e gostaria que realizasse os seguintes cálculos:

100-7; 93-7; 86-7; 79-7; 72-7;
 ____; ____; ____; ____; ____.

(93; 86; 79; 72; 65)

Total de pontos: MEMÓRIA RECENTE:

7) Há alguns minutos, o Sr (a) repetiu uma série de três palavras. Por favor, diga-me agora quais ainda se lembra: A () M () C ()

Obs: anote um ponto para cada resposta correta: Arvore, Mesa, Cachorro.

Total de pontos: LINGUAGEM:

Anote um ponto para cada resposta correta:

8) Aponte a caneta e o relógio e peça pra nomeá-los: C () R ()

(permita dez segundos para cada objeto)

Total de pontos:

9) Repita a frase que eu vou lhe dizer (pronunciar em voz alta, bem articulada e lentamente)

"NEM AQUI, NEM ALÍ, NEM LÁ"

Total de pontos:

10) Dê ao entrevistado uma folha de papel, na qual esteja escrito em letras grandes: "FECHE OS OLHOS". Diga-lhe : leia este papel e faça o que está escrito (permita dez segundos).

Total de pontos:

11) Vou lhe dar um papel e quando eu o entregar, pegue com sua mão direita, dobre-o na metade com as duas mãos e coloque no chão.

P () D () C ()

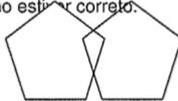
Total de pontos:

12) Pedir ao entrevistado que escreva uma frase em um papel em branco.

O Sr (a) poderia escrever uma frase completa de sua escolha? (contar um ponto se a frase tem sujeito, verbo, predicado, sem levar em conta erros de ortografia ou de sintaxe). Se o entrevistado não fizer corretamente, perguntar-lhe: "Isto é uma frase/ E permitir-lhe corrigir se tiver consciência de seu erro. (máximo de trinta segundos).

Total de pontos:

13) Por favor, copie este desenho. (entregue ao entrevistado o desenho e peça-o para copiar). A ação está correta se o desenho tiver dois pentágonos com intersecção de um ângulo. Anote um ponto se o desenho estiver correto.



Total de pontos:

Obs: Somente as respostas corretas anotadas nas perguntas de 03 a 13 e anote o total. A pontuação máxima é de trinta pontos.

TOTAL