

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

Associação dos níveis de BDNF (*brain derived neurotrophic factor*)
no Comprometimento Cognitivo Leve e na Doença de Alzheimer

Ericksen Mielle Borba

Orientadora:

Professora Doutora Márcia Lorena Fagundes Chaves

Dissertação de Mestrado

Porto Alegre, 2012

ERICKSEN MIELLE BORBA

**ASSOCIAÇÃO DOS NÍVEIS DE BDNF (*BRAIN DERIVED
NEUROTROPHIC FACTOR*) NO COMPROMETIMENTO
COGNITIVO LEVE E NA DOENÇA DE ALZHEIMER**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da UFRGS, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Professora Doutora
Márcia Lorena Faundes Chaves

Porto Alegre

2012

Agradecimentos:

A professora Márcia Chaves, pela sabedoria e orientação em todas as fases desta pesquisa, suas influências no meu desenvolvimento profissional se refletem nas páginas desta dissertação.

Aos pacientes e seus familiares que aceitaram participar do estudo, pela compreensão e disponibilidade, mesmo encontrando-se em momento tão vulneráveis de suas vidas. A eles, meu sincero reconhecimento.

Aos colegas do Grupo de Neurologia Cognitiva e do Envelhecimento, que me inspiraram a buscar a verdade e aceitar críticas; cada um, de seu próprio modo, contribuiu profissionalmente e pessoalmente para mim.

Aos colegas do Laboratório de Psiquiatria Molecular, pela companhia, amizade e ensinamentos na bancada.

Aos meus amigos, de valor inestimável e exemplos de amizade.

A minha namorada Maísa, que, apesar de estar comigo nos momentos finais da dissertação, sempre me incentivou e me deu motivos para me orgulhar do meu trabalho e empenho.

Por fim, aos meus familiares, meus pais (Agostinho e Marisa) e meus irmãos (Guilherme e Thamires), por me deixarem livre para seguir meu caminho, sempre depositando confiança e estímulo aos meus estudos. A eles, todo o meu carinho e gratidão.

"O segredo da felicidade não é fazer sempre o que se quer, mas
querer sempre o que se faz."

Leon Tolstoi

SUMÁRIO

1. Introdução.....	8
2. Revisão da Literatura.....	9
2.1 O envelhecimento.	9
2.2 Comprometimento Cognitivo Leve.....	12
2.3 Comprometimento Cognitivo Leve de único e múltiplos domínios	14
2.4 Doença de Alzheimer.....	16
2.5 As neurotrofinas	21
2.5.1 O BDNF.....	22
2.6 Neurotrofinas, Comprometimento Cognitivo Leve e a Doença de Alzheimer.....	26
3. Objetivo geral.....	28
3.1 Objetivos específicos	29
4. Referências.....	30
5. Artigo redigido em Inglês.....	47
5. Considerações Finais	68
7. Anexos	69
7.1 Escala ADL	69
7.2 Escala IADL	70
7.3 Mini Exame de Estado Mental (MEEM).....	71
7.4 Teste de Aprendizagem Auditivo-Verbal de REY (RAVLT).....	72

Lista de abreviaturas

MEEM: Mini Exame do Estado Mental;

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística;

DSM-IV: Quarta edição do Manual de Diagnóstico e Estatística dos Distúrbios Mentais da Associação Americana de Psiquiatria;

APA: Academia Americana de Psiquiatria;

NINCDS-ADRDA: *National Institute of Neurological Communicative Disorders and Stroke – Alzheimer’s Disease and related Disorders Association;*

NIA: *National Institute on Aging*

CCL: Comprometimento Cognitivo Leve;

BDNF: Brain Derived Neurotrophic Factor;

NTF: Neurotrofinas

DA: Doença de Alzheimer;

APOE: Apoliprotéina E;

APP: proteína precursora amiloide;

PS1: presilin 1

PS2: presilin 2

CDR: Clinical Dementia Rating

Abstract

Background: It has been suggested that there is an association between brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and the neuropathology of Alzheimer's disease (AD). However, little is known about the role of BDNF in subjects with mild cognitive impairment (MCI). In the present study, we investigated BDNF serum levels in healthy elderly, amnesic MCI, and mild to moderate AD patients in order to identify a possible role for this neurotrophin in preclinical and early stages of AD. **Methods:** BDNF serum levels were measured by sandwich-ELISA in healthy elderly (n=20), amnesic MCI patients (n=15) and AD patients (n=25), 12 mild and 13 moderate. MMSE scores, level of education and age were analyzed for a possible correlation with BDNF levels. **Results:** BDNF serum levels were significantly different between MCI patients and healthy subjects ($p=0.003$); MCI and mild AD patients ($p=0.023$); and MCI and moderate AD patients ($p=0.050$). BDNF showed no correlation with MMSE scores, age or level of education. **Limitations:** The small sample size in the present investigation could be a limitation. However, we carried out a power calculation that showed values higher than 80% for a confidence level of 95%. **Conclusion:** The fact that BDNF serum levels differentiated amnesic MCI patients from healthy elderly and AD patients suggests a possible role for BDNF as a preclinical biomarker of AD.

1. Introdução

O envelhecimento populacional vem sendo enfatizado como um importante fenômeno mundial. Isto ocorre por haver um crescimento mais elevado da população idosa com relação aos demais grupos etários.

Estima-se que o aumento da expectativa de vida seja dos atuais 71 anos para em torno de 81 anos, em 2050; e assim, um número cada vez maior de pessoas será acometido por doenças degenerativas associadas ao envelhecimento, como as demências. (Fichter, 1995). Atualmente no Brasil a população de idosos é de aproximadamente 20 milhões de pessoas. (IBGE, 2011).

A demência na Doença de Alzheimer é uma doença relacionada à idade e corresponde a mais da metade dos casos de demência, sendo a terceira causa de morte entre os idosos nos países desenvolvidos. (Cummings, 2004). Há evidências de que o processo neurodegenerativo inicie antes da expressão clínica da doença e o diagnóstico precoce é essencial para que intervenções terapêuticas possam ser realizadas nas fases iniciais, momento esse que o tratamento tem maiores evidências de benefício. (Chodosh, 2004).

Comprometimento Cognitivo Leve (CCL) possui várias definições, mas em geral é um conceito de um quadro de prejuízo cognitivo que compromete um ou múltiplos domínios da cognição, sem prejuízo funcional. Este conceito tem avançado em sua definição e utilidade. CCL, principalmente do tipo amnésico, é considerado um fator de risco importante para o desenvolvimento

de demência e especificamente para a doença de Alzheimer (Petersen et al., 2004; Bennett et al., 2002).

O importante papel do BDNF na ativação de cascatas fundamentais à codificação da memória (Barbacid, 1994; Patapoutian & Reichardt, 2001), bem como na constituição e função do hipocampo (Conner, 1997, 2001; Lu e Gottschalk, 2000) tornam esta neurotrofina um potencial candidato a biomarcador na DA e em seus estágios pré-clínicos. Assim, este estudo tentou avaliar a associação dos níveis séricos de BDNF em idosos saudáveis, indivíduos com Comprometimento Cognitivo Leve e na Doença de Alzheimer.

2. Revisão da Literatura

2.1 O envelhecimento.

O envelhecimento é uma etapa do desenvolvimento humano no qual ocorre um processo de transformação do organismo que se reflete nas estruturas físicas, cognitivas e também na percepção subjetiva dessas transformações (Trentini, Xavier, Fleck; 2006).

Pode ser entendido como uma etapa do processo natural da vida, cuja característica principal é acentuada pela perda da capacidade de adaptação e menor expectativa de vida (Moraes, 2004). Esta condição torna essa população mais vulnerável e predisposta a morbidades e mortalidades.

Nas últimas décadas tem se observado um significativo aumento na expectativa de vida da população mundial. Embora a demência não seja necessariamente uma consequência do envelhecimento, tanto sua incidência como prevalência aumentam drasticamente com a idade dobrando a cada década depois dos 65 anos de idade (Breteler, Ott, Hofman; 1998; Von Strauss et al., 1999; Launer et al., 1999).

Envelhecimento, por si só, não é uma doença; e sim manifestações neuropsicológicas (relacionadas com a idade e com o declínio cognitivo) e são considerados patológicos só se avançar para a demência. Os idosos são, no entanto, mais propensos a sucumbir a certas doenças neurológicas, como Comprometimento Cognitivo Leve, Doença de Alzheimer, Doença de Parkinson, Esclerose lateral amiotrófica, e distúrbios de marcha. (Jain, 2006).

Durante o envelhecimento se observa na neuroanatomia do cérebro as mudanças que ocorrem com a idade. Todas as células de organismos vivos são programadas para um ciclo definido de desenvolvimento precoce de maturação, diferenciação, senescência, e morte. Pontos importantes sobre a relação do desenvolvimento do cérebro do envelhecimento são: em contraste com outros órgãos, as células cerebrais deixam de se dividir em ou logo após, o nascimento. Sua expectativa de vida se correlaciona com o tempo de vida do organismo (Jain, 2006).

Além destas mudanças, se observa também perda de volume e peso no cérebro. A redução no peso do cérebro ocorre na ausência de doença, e pode ser de 5% até a idade de 70 anos, 10% até a idade de 80 anos, e 20% até a idade de 90 anos. (Jain, 2006). Exames de ressonância magnética mostraram uma diminuição

significativa na transversal de todo o lobo temporal, e nos volumes do hipocampo e um aumento significativo do volume ventricular, com o aumento da idade, como as mudanças mais marcantes ocorridos após 70 anos. (Scahill et al., 2003).

Na neurofisiologia do envelhecimento o efeito do envelhecimento sobre a barreira hemato-encefálica está associado a sutis, porém significativas, alterações da barreira hemato-encefálica. A diminuição do transporte de colina através da barreira sangue-cérebro tem sido observada em ratos que envelhecem e é uma possível explicação para o declínio da memória; e ocorrem também alterações do fluxo sanguíneo cerebral, com diminuição do mesmo (Jain, 2006).

A aplicação de tecnologias modernas da biologia molecular e celular para os estudos sobre a neurobiologia do envelhecimento fornece uma janela sobre os substratos moleculares do envelhecimento cerebral bem sucedido e doenças neurodegenerativas. Perfil de expressão gênica é uma ferramenta poderosa para a identificação de mudanças na expressão gênica que estão associados com o envelhecimento bem-sucedido ou doenças neurodegenerativas. O envelhecimento está associado com aumento do estresse oxidativo, distúrbios no metabolismo energético e processos do tipo inflamatórios (Jain, 2006).

Apesar de todos os distúrbios associados com o envelhecimento, o cérebro usa múltiplos mecanismos em uma tentativa de manter a integridade dos circuitos de células nervosas e promover a recuperação da função após a lesão. Vários mecanismos que entram em jogo incluem a produção de fatores neurotróficos, expressão de várias proteínas que promovem

sobrevivência celular (por exemplo, enzimas antioxidantes, proteínas que inibem apoptose), proteção do genoma pelas proteínas de reparo do DNA, e mobilização de células-tronco neurais para substituir neurônios danificados (Mattson et al., 2002).

E no sentido de prevenção evidências clínicas e experimentais indicam que a atividade física tem um impacto positivo sobre a função cerebral. Exercício físico pode aumentar os níveis de fatores neurotróficos, estimular a neurogênese, aumentar a resistência ao insulto do cérebro e melhorar a aprendizagem e o desempenho mental que contribuem para aumento da plasticidade cerebral (Cotman e Berchtold, 2002).

2.2 Comprometimento Cognitivo Leve

O Comprometimento Cognitivo Leve (CCL), do inglês *Mild Cognitive Impairment* (MCI) é caracterizado por queixa subjetiva de memória (relato corroborado por informante e escalas), função intelectual geral preservada demonstrada por desempenho habilidades linguísticas (vocabulário), demonstração de comprometimento da memória por testagem cognitiva, desempenho preservado de atividades de vida diária, e ausência de demência. (Petersen et al., 2004).

CCL não é um diagnóstico estabelecido e sim um conceito ainda em desenvolvimento para o qual diferentes critérios têm sido propostos e modificados ao longo do tempo. Este conceito é bastante heterogêneo, com múltiplas fontes de heterogeneidade,

uma relacionada à apresentação clínica e a falta de padronização de instrumentos para detectá-lo, os quais não são especificados nos critérios de Petersen o que pode explicar as enormes variações entre os estudos (Ritchie et al., 2001).

Existem evidências na literatura de que CCL represente um risco para desenvolver demência e mais especificamente doença de Alzheimer (Petersen et al., 2004; Bennett et al., 2002). Taxas de conversão anual de CCL para a demência são relatados na faixa de 2,7% (Ganguli et al., 2004) a 10-15% (Petersen et al., 2001).

Empregando o mesmo racional utilizado para os subtipos de CCL e suposições etiológicas, alguns autores passaram a sugerir mais fortemente que CCL estaria mais diretamente relacionado a fases pré-clínicas de doença (Bennet et al., 2005), propondo que o subtipo amnésico deveria ser melhor caracterizado e receber a denominação de CCL tipo Alzheimer ou DA prodrômica (Dubois, Albert, 2004).

Mais recentemente o conceito de CCL foi reformulado em função da evolução dos conhecimentos sobre a fisiopatologia e marcadores da doença de Alzheimer pelo o Instituto Nacional para o Envelhecimento Americano (National Institute on Aging - NIA) e a Associação de Alzheimer, que publicaram as recomendações para o diagnóstico de CCL devido à doença de Alzheimer (Albert et al., 2011).

Nessa publicação, o grupo de painelistas define que a inclusão do continuum entre a fase sintomática pré-demência e o início da demência. Os critérios definidos foram os seguintes: estabelecer critérios clínicos e cognitivos, preocupação cognitiva

refletindo mudança na cognição relatada pelo paciente ou informante ou médico (evidência de declínio ao longo do tempo pela história ou observada), evidência objetiva de comprometimento em um ou mais domínios cognitivos, tipicamente incluindo memória (teste de beira de leito formal para estabelecer nível de função cognitiva em múltiplos domínios), preservação da independência nas habilidades funcionais (não demenciado); e o exame etiológico de CCL consistente com processo fisiopatológico de DA, descartar causas de declínio cognitivo vascular, traumático, clínico, quando possível, fornecer evidência de declínio longitudinal, quando factível, e relatar história consistente com fatores genéticos de DA, quando relevante.

As estratégias relevantes para tratamento de CCL são limitadas a informações sobre manter hábitos de vida saudáveis. Em nível de cuidados primários à saúde, a intervenção é restrita à prevenção primária e manejo de fatores de risco para CCL e demência que são reconhecidamente modificáveis. (Winblad et al., 2004).

2.3 Comprometimento Cognitivo Leve de único e múltiplos domínios

Nos últimos tempos, estudos têm sido realizados para detectar manifestações precoces da Doença de Alzheimer, o que levariam a incluir o CCL como um estágio precoce da DA (Petersen, 2004). A construção do CCL tem sido proposta para designar um

dos primeiros, e anormal, estado de comprometimento cognitivo (Petersen, 2004).

Enquanto os critérios originais de CCL pertenciam amplamente ao déficit de memória, posteriormente ocorreu uma extensão do conceito porque aos poucos foi ficando claro que nem todas as formas de CCL progrediam para doença de Alzheimer, e então, outras apresentações de comprometimento cognitivo necessitaram ser consideradas.

Em 2003 uma conferência internacional de peritos foi realizada para revisar os critérios (Petersen, 2004; Winblad et al., 2004), e desta conferência critérios mais amplos para CCL foram propostos. A proposta foi subdividir nos fenótipos amnésicos e não amnésicos, os quais foram ainda sub-classificados em único e múltiplos domínios cognitivos (de comprometimento). Assim, surgiram os quatro seguintes subtipos: CCL amnésico; CCL não amnésico de domínio único (com comprometimento de um único domínio cognitivo outro que não memória); CCL amnésico de múltiplos domínios, caracterizado por um leve comprometimento de múltiplos domínios cognitivos incluindo memória; e CCL não amnésico de múltiplos domínios, com um leve comprometimento de múltiplos domínios, mas sem déficit de memória.

No estudo Cardiovascular Health Study, 6% da amostra apresentou CCL amnésico e 16% tinha CCL com múltiplos déficits cognitivos (Lopez et al., 2003), 6% de todos os CCL e 21,5% de todos os casos de múltiplos déficits não tinham comprometimento de memória. Há pouca informação sobre taxas de mortalidade no CCL e nos seus diferentes subtipos. Dois estudos de base populacional examinaram o risco de morte entre pessoas com CCL

(Gussekloo et al., 1997; Frisoni et al., 2000), e demonstraram que há probabilidade de 1,7 vezes maior de morrer durante o período de seguimento entre aqueles com CCL.

2.4 Doença de Alzheimer

A idade representa um fator de risco para o desenvolvimento da demência, esta afeta cerca de 5-8% dos indivíduos com idade acima de 65 anos, 15-20% de indivíduos com idade superior 75 e 25-50% dos indivíduos com mais de 85 (Hebert et al., 1995).

Demência inclui um prejuízo de múltiplas funções cognitivas, adquirido e progressivo, de intensidade suficiente para provocar incapacitação funcional ao indivíduo acometido; uma das funções que deve estar necessariamente comprometida é a memória (APA, 1994). A causa mais comum de demência é a Doença de Alzheimer (DA) cujos achados neuropatológicos centrais são depósitos beta-amilóides e emaranhados neurofibrilares de proteína TAU. O pensamento atual é de que a DA não represente uma doença única, mas uma síndrome resultante de diferentes determinantes genéticos que conduzem a um fenótipo comum com deposição amilóide e degeneração neuronal em regiões cerebrais específicas.

Ocorrem manifestações patológicas antes do aparecimento das manifestações clínicas; como a redução ou disfunção das sinapses, que poderia ser responsável por manifestações clínicas ainda mais precoces da DA, como dificuldade de encontrar palavras, principalmente nomes próprios, o que pode preceder o

aparecimento do declínio da capacidade de memorização por anos, e estas alterações podem ser causadas por oligômeros solúveis da proteína beta-amiloide (Terry, 2001).

Além da idade, existem outros fatores de risco; como as alterações genéticas, que podem ser responsáveis por aumentar o risco da Doença de Alzheimer, mesmo que em menor incidência. (Nilson et al., 2006; Slioter et al., 2001).

As mutações do gene da proteína precursora do amilóide (cromossomo 21), dos genes das pré-senilinas 1 e 2 (cromossomos 14 e 1, respectivamente), assim como o polimorfismo da apolipoproteína E (cromossomo 19) são exemplos de alterações genéticas que podem aumentar o risco para DA. A apolipoproteína E, codificada no cromossomo 19, participa do transporte de colesterol para os neurônios contribuindo para a manutenção de membranas e mielina. Há três alelos da proteína sendo o $\epsilon 4$, presente em 15% da população, muito elevado nos portadores de Alzheimer. (Farrer et al., 1997; Souza et al., 2003)

O alelo $\epsilon 4$ produz uma apoproteína E menos eficaz e contribui com aumento da frequência de placas neuríticas e deficiência colinérgica (Nee et al., 1987).

Assim como os fatores de risco para a doença existem fatores protetores. A escolaridade é identificada em inúmeros estudos provavelmente pelo conseqüente aumento da densidade sináptica de regiões corticais e pela maior capacidade de compensação de deficiências intelectuais dos indivíduos com maior escolaridade (Cummings et al., 1998).

A psicopatologia da DA é marcada por déficits cognitivos e prejuízos psicossociais em vários domínios. Deteriorações de memória de curto e longo prazo são características iniciais, que são seguidas por afasia, apraxia, agnosia; a Doença de Alzheimer normalmente tem um início insidioso e gradual (Guehne, Riedel-Heler, Angermeyer, 2005).

A manifestação clínica da doença começa a partir dos 40 anos de idade, intensificando de maneira exponencial a partir dos 60 anos. Os sintomas mais comuns da Doença de Alzheimer incluem: a) perda da memória; b) declínio das atividades diárias; c) diminuição do senso crítico; d) desorientação temporal e espacial; e) mudança de personalidade; f) dificuldades de aprendizagem; g) dificuldades de comunicação (APA, 1995).

Classicamente, o curso da DA é descrito de acordo com o nível de comprometimento funcional psicossocial. Na primeira fase os indivíduos demonstram um comprometimento funcional psicossocial leve; na segunda fase iniciam com dificuldades para realizar tarefas mais simples no ambiente doméstico. Na terceira fase apresentam dificuldade moderada para realizar as tarefas simples e da vida diária, na quarta fase apresentam grave prejuízo e requerem de assistência para alimentação, higiene; e por último na quinta fase o indivíduo torna-se dependente de cuidadores (APA, 2006).

Para avaliar a gravidade da DA, uma das escalas mais utilizadas é a escala CDR (Clinical Dementia Rating) (Hughes et al., 1982). A escala CDR, no português Escala de Avaliação Clínica de Demência, é usada como um instrumento de avaliação global das demências e quantifica o grau de demência e seus estágios, ou

seja, a gravidade do processo demencial. A proposta do instrumento é de avaliar seis importantes domínios: memória, orientação, capacidade de julgamento e de resolver problemas, a relação com o meio social, atividades domésticas, de lazer e cuidados pessoais. A pontuação varia de 0 a 3, sendo que, a pontuação zero representa os idosos considerados normais, a pontuação 0,5 seria a suspeita de demência (questionável) e a pontuação 1, 2 e 3 o diagnóstico de demência leve, moderada e grave; respectivamente, tendo uma versão validada para o Brasil (Chaves et al., 2007).

Neste contexto, os testes cognitivos embasam objetivamente a presença do prejuízo em diversos domínios cognitivos, necessária ao diagnóstico atual da DA. A comprovação de um prejuízo cognitivo é exigida para o diagnóstico de doença de Alzheimer pela maioria dos critérios diagnósticos vigentes - NINCDS-ADRDA (McKhann 1984), DSM-IV (APA, 1994) - e é feita por testes mais gerais de rastreio, bem como pode ser aprofundada por uma avaliação neuropsicológica mais abrangente (Chaves et al, 2011; Frota et al, 2011). Recentemente o Departamento de Neurologia Cognitiva da Associação Brasileira de Neurologia revisou quais são os testes validados no Brasil para este fim (Chaves et al., 2011).

Dentro da testagem cognitiva geral, o Mini-Exame do Estado Mental (MEEM) tem sido o instrumento mais utilizado para rastreio cognitivo. O MEEM foi elaborado para ser uma avaliação clínica prática de alteração no estado cognitivo em pacientes geriátricos (Folstein, Folstein, McHugh; 1975). O MEEM examina orientação temporal e espacial, memória de curto prazo (imediate ou atenção) e evocação, cálculo, praxia, e habilidades de linguagem e visuo-

espaciais. Pode ser usado como teste de rastreio para perda cognitiva ou como avaliação cognitiva de beira de leito. (Chaves et al., 2011).

Em relação à avaliação específica de memória, e, especialmente, em relação à memória episódica do tipo hipocampal (Dubois, 2004) dentre os testes validados para a língua portuguesa encontra-se o Teste de Aprendizagem Auditivo Verbal de Rey (RAVLT). Este teste consiste em cinco apresentações de 15 palavras (lista A), seguida de uma segunda lista interferente (lista B), também de 15 palavras, com posterior recordação da primeira lista (Lista A). Após, 30 minutos recorda-se novamente a primeira lista. Na versão atual, o reconhecimento é testado pedindo para o sujeito indicar dentre uma lista de 30 palavras lidas em voz alta, qual faz parte da Lista A. O RAVLT prevê medidas imediatas de memória, a eficiência de aprendizagem, os efeitos de interferências, e recordação após períodos curtos e longos (Rey, 1964). Um prejuízo especialmente na tarefa de reconhecimento aponta para um prejuízo amnésico do tipo hipocampal, que estaria intimamente associado ao acometimento precoce desta estrutura na DA (Dubois, 2004). Por isto este teste é um dos que pode ser utilizado para a avaliação da memória nesta proposta de CCL do tipo Alzheimer.

Para o diagnóstico da demência na doença de Alzheimer dentro dos sistemas classificatórios vigentes (NINCDS-ADRDA (McKhann, 1984), DSM-IV (APA, 1994) faz-se necessário que o paciente apresente uma incapacitação funcional decorrente do prejuízo cognitivo. A avaliação funcional pode ser definida como uma tentativa sistematizada de medir, de maneira objetiva, os níveis nos quais uma pessoa é capaz de desempenhar determinadas

atividades ou funções em diferentes áreas, fazendo uso de habilidades diversas para o desempenho das tarefas da vida diária, para a realização de interações sociais, em suas atividades de lazer e em outros comportamentos requeridos em seu dia-a-dia. De modo geral, representa uma maneira de medir se uma pessoa é ou não capaz de, independentemente, desempenhar as atividades necessárias para cuidar de si mesma e de seu entorno e, caso não seja, verificar se essa necessidade de ajuda é parcial (em maior ou menor grau) ou total (Wilkins, Lets; 2001). O Index de Independência nas Atividades de Vida Diária desenvolvido por Sidney Katz é, ainda hoje, um dos instrumentos mais utilizados nos estudos gerontológicos nacionais e internacionais, mesmo tendo sido publicado pela primeira vez em 1963 (Katz et al., 1963).

2.5 As neurotrofinas

As neurotrofinas (NTF) ou fatores de crescimento neural foram descobertas e descritas no início da década de 1950, quando foram observados os seus efeitos tróficos sobre neurônios sensoriais e simpáticos. Em 1982 o fator de crescimento derivado do cérebro (do inglês brain derived neurotrophic factor – BDNF), foi o segundo componente descoberto das famílias das neurotrofinas, mostrando-se capaz de promover a sobrevivência de subpopulações de gânglios dorsais, sendo então purificado. (Barde, 1994). As neurotrofinas mais importantes dos mamíferos são: NGF (neuronal growth factor), BDNF (brain-derived neurotrophic factor),

NT-3 (neurotrofina 3) e NT-4/5 (neurotrofina-4/5) (Schindowski et al, 2008).

Todos esses compostos têm perfis neurotróficos específicos e efeitos diferenciados, de acordo com as subpopulações neuronais em que agem. Estas substâncias ativam várias vias de sinalização celular através da ativação de dois tipos de receptores de membrana -Trk ('tropomyosin-related kinase' ou 'tyrosine receptor kinase': TrkA, TrkB e TrkC) e p75NTR. São sintetizadas como pró-neurotrofinas as quais se ligam ao receptor p75NTR. Na sua forma ativa clivada, cada neurotrofina ativa seletivamente um dos três receptores TRK, NGF se liga e ativa o receptor TrkA, NT- 3 ativa o receptor TrkC, enquanto o BDNF e a NT-4 ativam o receptor TrkB (Patapoutian & Reichardt 2001). O papel das pró-neurotrofinas e neurotrofinas parecem ser contraditórios, enquanto as neurotrofinas mantêm a sobrevivência e função de certas populações neuronais, pró-neurotrofinas disparam morte celular através de p75NTR (Friedman, 2000).

2.5.1 O BDNF

O gene do BDNF foi mapeado no braço curto do cromossomo 11 em humanos. Ele é composto por quatro 5' exons (exons I-IV), que são associados com *promoters* distintos, e um 3' exon (exon V) que codifica a proteína BDNF na sua forma "madura". Oito mRNA distintos são transcritos : os dos exons I-III expressos predominantemente no cérebro, e o do exon IV, no pulmão e no coração (Metsis et al., 1993; Timmusk et al., 1993; Timmusk et al.,

1994a; Timmusk et al., 1994b; Timmusk et al., 1995). No BDNF, cerca de 50% dos aminoácidos são iguais às neurotrofinas NT-3, NT-4 e NT-5. Cada neurotrofina consiste de uma estrutura homodimérica não ligada covalentemente, que contém um peptídeo de sinalização seguindo o códon de inicialização, e uma região contendo um sítio de glicosilação N-ligado. Como já foi dito anteriormente, o BDNF é inicialmente produzido como uma pró-neurotrofina (~30kDa) e depois é clivado na sua forma de neurotrofina final madura (~14 kDa) por convertases de pró-hormônios, tais como a furina (Chao & Bothwell, 2002).

A ligação do BDNF aos receptores compostos de proteínquinases relacionadas à tropomiosina (trkB) (Patapoutian & Reichardt, 2001) induz à dimerização destes receptores, resultando na ativação da quinase. A seguir, a auto-fosforilação do receptor em múltiplos resíduos de tirosina cria sítios de ligação intracelular para as proteínas-alvo, que se ligam ao receptor ativado via domínios SH2. Estas incluem a fosfolipase C, a p85 (subunidade não catalítica da PI-3 quinase) e a Shc. A ativação dessas proteínas-alvo pode levar a uma variedade de sinalizações intracelulares, tais como ativação das cascatas dependentes de Ras-MAP quinase e o CREB (Barbacid, 1994; Patapoutian & Reichardt, 2001). Estas cascatas intracelulares são fundamentais para a codificação de memória

O trkA é o receptor preferencial para o NGF, o trkB é o receptor preferencial para o BDNF e o trkC, para a NT-3 (Barbacid, 1994). Ligações cruzadas podem ocorrer entre esses receptores, porém com menor afinidade. Os receptores trk existem em diferentes formatos, podendo ocorrer em forma de tamanho inteiro

(trkB.FL) e em formas truncadas (trkB.T1 e trkB.T2). As formas truncadas não apresentam o domínio quinase. Apesar da maioria das funções atribuídas ao BDNF serem associadas à sua ligação com o trkB.FL, papéis importantes foram atribuídos também às formas truncadas do receptor trkB, incluindo crescimento, desenvolvimento e uma modulação negativa da expressão e função dos receptores trkB (Eide et al., 1993; Eide et al., 1996).

O mRNA do BDNF e do seu receptor, o trkB, tem ampla distribuição no sistema nervoso central. Assim como o mRNA, a expressão constitutiva da proteína BDNF é particularmente alta no hipocampo, onde axônios das fibras musgosas das células denteadas da camada granular mostram intensa imunorreatividade ao BDNF, o que tem motivado diversos estudos sobre o papel desta neurotrofina na constituição e função do hipocampo (Conner, 1997, 2001).

Diferentemente do modelo clássico de fatores tróficos alvo-dirigidos, no qual neurotrofinas tais como NGF, são transportadas retrogradamente, existem abundantes evidências de que o BDNF também é transportado anterogradamente no cérebro (Conner, 1998). Além disso, evidências recentes sugerem que as neurotrofinas são liberadas agudamente após despolarização neural, participando da transmissão rápida (Goggi et al., 2003). Finalmente, a liberação do BDNF parece ocorrer na forma de pré-BDNF, sugerindo a possibilidade de pós-processamento proteolítico por proteases associadas à membrana, ou mesmo por proteases extracelulares.

O BDNF é uma neurotrofina existente em quantidades abundantes nos circuitos neurais hipocampais. Proteína

fundamental na formação das estruturas do lobo temporal e na neurotransmissão, sendo crucial para a formação dos dendritos dos neurônios, das sinapses e de outros processos plásticos que ocorrem nessas estruturas. Alterações fisiológicas desses mecanismos podem provocar diversas anormalidades neurológicas e neuropsiquiátricas.

A sequência gênica do BDNF já é conhecida, e já foram descritos alelos variantes frequentes para esse gene em diversas populações. A expressão do BDNF é alta no hipocampo e no córtex cerebral que são áreas envolvidas na regulação da memória e atenção. BDNF tem um papel central no mecanismo de potenciação de longo prazo, um dos modelos mais bem aceitos sobre memória e aprendizado. A administração de BDNF exógeno a ratos geneticamente modificados deficientes em BDNF ou seu receptor TrkB reverteu o prejuízo no mecanismo de potenciação de longo prazo (Patterson et al., 2001). Ratos transgênicos em que falta BDNF ou TrkB demonstraram pobre performance em tarefas de aprendizado espacial, comparados com ratos não transgênicos (Minichiello et al., 1999).

O BDNF regula a plasticidade sináptica e desempenha um papel fundamental na formação e armazenamento da memória (Hellweg & Jockers-Scherubl 1994), tornando-se alvo de investigações na demência. Em modelos animais, o BDNF parece regular a plasticidade hipocampal e os processos de aprendizagem dependentes desta região (Gottschalk et al., 1998; Lu e Gottschalk, 2000).

2.6 Neurotrofinas, Comprometimento Cognitivo Leve e a Doença de Alzheimer.

Há evidência de que as neurotrofinas têm efeito neuroprotetor em condições patológicas e isto poderia ser de especial interesse nas doenças neurodegenerativas como a DA. Como os níveis de neurotrofinas parecem ser alterados na maior parte das doenças psiquiátricas, a questão principal que permanece para esclarecimento é se estas alterações são primárias – causais, ou secundárias – reativas (Lang et al, 2004).

Como já mencionado, as NTF são reguladores do desenvolvimento, manutenção, sobrevivência, cognição, formação e armazenamento da memória. Na DA, elas se encontram em desequilíbrio e, devido ao transporte axonal comprometido, estão também desigualmente distribuídas. Com a idade ocorre a hiperfosforilação da proteína Tau formando emaranhados neurofibrilares no córtex entorrinal. As proteínas Tau, a proteína precursora beta-amilóide (APP) e a ApoE4 tem um papel chave no transporte axonal, e por isso ocorre problemas no processo de transporte já nas fases precoces da doença. A progressão da patologia neurofibrilar com a idade e na DA é idêntica às vias de transporte retrógrado do BDNF nas suas regiões neuroanatômicas (Schindowski et al., 2008).

Em condições normais o BDNF é produzido no córtex entorrinal e transportado ao hipocampo e amígdala, que são os próximos locais de degeneração neurofibrilar nos cérebros com DA. Transporte comprometido ou *down-regulation* do BDNF nos

neurônios no cérebro de indivíduos idosos leva à diminuição dos níveis de BDNF com possível prejuízo subclínico na memória e cognição. Adicionalmente a degeneração colinérgica leva à diminuição das fibras de inervação colinérgica que se projetam ao hipocampo e neocortex, com conseqüente declínio dos níveis basais de expressão do BDNF (Schindowski et al., 2008).

Como já mencionado, O BDNF regula a plasticidade sináptica e desempenha um papel fundamental na formação e armazenamento da memória (Hellweg & Jockers-Scherubl, 1994), tornando-se alvo de investigações na demência.

Em modelos animais, o BDNF parece regular a plasticidade hipocampal e os processos de aprendizagem dependentes desta região (Gottschalk et al., 1998; Lu e Gottschalk, 2000).

O BDNF é uma neurotrofina existente em quantidades abundantes nos circuitos neurais hipocampais. Proteína fundamental na formação das estruturas do lobo temporal e na neurotransmissão, sendo crucial para a formação dos dendritos dos neurônios, das sinapses e de outros processos plásticos que ocorrem nessas estruturas. Alterações fisiológicas desses mecanismos podem provocar diversas anormalidades neurológicas e neuropsiquiátricas.

Na DA, os níveis do RNA mensageiro e do próprio BDNF estão diminuídos no hipocampo e neocortex de cérebros acometidos pela doença (Connor et al., 1997; Garzon et al., 2002; Holsinger et al., 2000; Phillips et al., 1991) (Ferrer et al., 1999; Hock et al., 2000; Michalski & Fahnstock, 2003; Peng et al., 2005, Murer et al., 1999; Siegel & Chauhan, 2000). O receptor TrkB também

está reduzido no hipocampo e no cortex frontal de pacientes com DA (Allen et al., 1999; Ferrer et al., 1999, Ginsberg et al., 2006; Salehi et al., 1996). Poucos estudos não demonstraram redução de BDNF ou TRK B na DA (Boissiere et al., 1997, Durany et al., 2000; Hock et al., 1998; Savaskan et al., 2000).

Estudos que avaliam a relação do BDNF com a DA e o CCL levaram a resultados mistos. No caso de pacientes com DA comparados ao grupo controle com idosos saudáveis alguns estudos mostram um aumento dos níveis séricos de BDNF (Angelucci et al 2010), enquanto outros encontraram uma diminuição (Laske et al, 2006; Lee et al, 2009; Forlenza, 2010; Leyhe et al, 2008) ou sem alteração dos níveis séricos entre os grupos (Forlenza, 2010; Leyhe et al, 2008). Da mesma forma, pacientes com CCL quando comparados a idosos saudáveis obtiveram resultados diferentes, um com aumento dos níveis (Angelucci et al, 2010) e outro com diminuição (Lee et al, 2009).

3. Objetivo geral

Avaliar os níveis séricos de BDNF no Comprometimento Cognitivo Leve e na Doença de Alzheimer, comparando-os com idosos saudáveis.

3.1 Objetivos específicos

Comparar os níveis séricos de BDNF de idosos saudáveis, indivíduos com CCL e pacientes com DA leve e moderada.

Correlacionar os níveis séricos de BDNF com idade, escolaridade e com os escores no MEEM;

Correlacionar os níveis séricos de BDNF com a gravidade da Doença de Alzheimer.

4. Referências

Albert MS, DeKosky ST, Dickson D et al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2011; 7:270–79.

Allen SJ, Wilcock GK, Dawbarn D. Profound and selective loss of catalytic TrkB immunoreactivity in Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;264: 648–651.

American Psychiatric Association – APA - (1994). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV*, 4th edn. Washington, DC: American Psychiatric Association.

American Psychiatric Association. *Practice Guidelines for the Treatment of Psychiatric Disorders*. 2006; Compendium.

Angelucci FG, Spalletta G, di Iulio F, et al. AD and MCI patients are characterized by increased BDNF serum levels. *Curr Alzheimer Res* 2010; 7:15-20.

Associação Psiquiátrica Americana APA. Manual diagnóstico e estatísticos de transtornos mentais. 4 ed. Porto Alegre : Artes Médicas, 1995.

Barbacid M. The Trk family of neurotrophin receptors. *J Neurobiol* 1994; 25(11):1386- 403.

Bennett DA, Schneider JA, Bienias JL, Evans DA, Wilson RS. Mild cognitive impairment is related to Alzheimer disease pathology and cerebral infarctions. *Neurology*. 2005 Mar 8;64(5):834-41.

Bennett DA, Wilson RS, Scheneider MD, Evans DA, Beckett LA, Aggarial NT, Barnes LL, Fox JH, Bach J. Natural history of mild cognitive impairment in older persons. *Neurology* 2002; 59: 198-205.

Boissiere F, Hunot S, Faucheux B, Hersh LB, Agid Y, Hirsch EC. (1997) Trk neurotrophin receptors in cholinergic neurons of patients with Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 1997;8: 1–8.

Breteler MM, Ott A, Hofman A: The new epidemic: frequency of dementia in the Rotterdam Study. *Haemostasis* 1998; 28(3-4): 117-23. Chao MV, Bothwell M. Neurotrophins: to cleave or not to cleave. *Neuron* 2002; 33(1):9-12.

Chaves ML, Camozzato A, Godinho C, et al. Validity of the Clinical Dementia Rating Scale for the detection and staging of dementia in Brazilian patients. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 2007; 21:210-217.

Chaves MLF, Godinho CC, Porto CS, Mansur L, Carthery-Goulart MT, Yassuda MS, Beato R. Cognitive, functional and behavioral assessment: Alzheimer's disease. *Dement Neuropsychol* 2011 June;5(Suppl 1):21-33

Chodosh J, Petitti DB, Elliott M, RD Hays, Crooks VC, Reuben DV, Buckwalter JG and Wenger N. Physician Recognition of Cognitive Impairment: Evaluating the Need for Improvement. *J Am Geriatr Soc*. 2004;52:1051-1959.

Conner JM, Lauterborn JC, Gall CM. Anterograde transport of neurotrophin proteins in the CNS--a reassessment of the neurotrophic hypothesis. *Rev Neurosci* 1998; 9(2):91-103.

Conner JM, Lauterborn JC, Yan Q, Gall CM, Varon S. Distribution of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein and mRNA in the normal adult rat CNS: evidence for anterograde axonal transport. *J Neurosci* 1997; 17(7):2295-2313.

Conner JM. Localization of neurotrophin proteins within the central nervous system by immunohistochemistry. *Methods Mol Biol* 2001; 169:3-19.

Connor B, Young D, Yan Q, Faull RL, Synek B, Dragunow M. Brain-derived neurotrophic factor is reduced in Alzheimer's disease. *Brain Res Mol Brain Res* 1997;49:71– 81.

Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci* 2002;25(6):295-301.

Cummings JL. Alzheimer's Disease. *New England J Medicine*. 2004;351:56-67.

Cummings JL, Vinters HV, Cole GM, et al. Alzheimer's disease: etiologies, pathophysiology, cognitive reserve, and treatment opportunities. *Neurology*, 1998;51(Suppl1):S2-S67.

Dubois B, Albert ML. Amnestic MCI or prodromal Alzheimer's disease? *Lancet Neurol* 2004; 3:246–48.

Durany N, Michel T, Kurt J, Cruz-Sanchez FF, Cervas-Navarro J, Riederer P. Brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 levels in Alzheimer's disease brains. *Int J Dev Neurosci* 2000;18: 807–813.

Eide FF, Lowenstein DH, Reichardt LF. Neurotrophins and their receptors--current concepts and implications for neurologic disease. *Exp Neurol* 1993; 121(2):200-214.

Eide FF, Vining ER, Eide BL, Zang K, Wang XY, Reichardt LF. Naturally occurring truncated trkB receptors have dominant inhibitory effects on brain-derived neurotrophic factor signaling. *J Neurosci* 1996; 16(10):3123-3129.

Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, et al. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA*, 1997;278:1349-1356.

Ferrer I, Marin C, Rey MJ, Ribalta T, Goutan E, Blanco R, Tolosa E, Marti E. BDNF and full-length and truncated TrkB expression in Alzheimer disease. Implications in therapeutic strategies. *J Neuropathol Exp Neurol* 1999;58: 729–739.

Fichter MM, Bruce ML, Schropel H, Miller I, Merikangas K. Cognitive impairment and depression in the oldest old in a German and US communities. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*.1995;245:319-325.

Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res.* 1975; 12:189-198.

Forlenza OV, Diniz BS, Teixeira AL, et al. Effect of brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and serum levels on the progression of mild cognitive impairment. *World J Biol Psychiatry* 2010; 11:774-780.

Friedman WJ. Neurotrophins induce death of hippocampal neurons via the p75 receptor. *J Neurosci* 2000;20: 6340–6346.

Frisoni GB, Fratiglioni L, Fastbom J, Winblad B. Mild cognitive impairment in the population and physical health: data on 1,435 individuals aged 75 to 95. *Journal of Gerontology* 2000;55, 322-328.

Frota NAF, Nitrini R, Damasceno BP, Forlenza OV, Dias-Tosta E, Da Silva AB, Junior EH, Magald RM. Criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: Recommendations of the Scientific Department of Cognitive Neurology and Aging of the Brazilian Academy of Neurology. *Dement Neuropsychol* 2011 September;5(3):146-152.

Ganguli, M., Dodge, H.H., Shen, C., DeKosky, S.T. Mild cognitive impairment, amnesic type: an epidemiologic study. *Neurology* 2004; 63, 115–121.

Garzon D, Yu G, Fahnstock M. A new brain-derived neurotrophic factor transcript and decrease in brain-derived neurotrophic factor transcripts 1, 2 and 3 in Alzheimer's disease parietal cortex. *J Neurochem* 2002;82:1058–1064.

Ginsberg SD, Che S, Wu J, Counts SE, Mufson EJ. Down regulation of trk but not p75NTR gene expression in single cholinergic basal forebrain neurons mark the progression of Alzheimer's disease. *J Neurochem* 2006;97: 475–487.

Goggi J, Pullar IA, Carney SL, Bradford HF. Signalling pathways involved in the short-term potentiation of dopamine release by BDNF. *Brain Res* 2003; 968(1):156-161.

Gottschalk W, Pozzo-Miller LD, Figurov A, Lu B. Presynaptic modulation of synaptic transmission and plasticity by brain-derived neurotrophic factor in the developing hippocampus. *J Neurosci* 1998;18:6830–6839.

Guehne U, Riedel-Heler S, Angermeyer MC. Mortality in dementia. *Neuroepidemiology* 2005;25(3):153–62.

Gussekloo J., Westendorp RGJ., Remarque EJ., Lagaay AM., Heeren TJ., Knook DL. Impact of mild cognitive impairment on survival in very elderly people: cohort study. *BMJ*. 1997;315:1053–1054.

Hebert LE, Scherr PA, Beckett LA, Albert MS, Pilgrim DM, Chown MJ, Funkenstein HH, Evans DA. Age-specific incidence of Alzheimer's disease in a community population *JAMA* 1995; 1995;273:1354–9.

Hellweg R, Jockers-Scherubl M. Neurotrophic factors in memory disorders. *Life Sci* 1994;55: 2165–2169.

Hock C, Heese K, Hulette C, Rosenberg C, Otten U. Region-specific neurotrophin imbalances in Alzheimer disease: decreased levels of brain-derived neurotrophic factor and increased levels of nerve growth factor in hippocampus and cortical areas. *Arch Neurol* 2000;57: 846–851.

Hock C, Heese K, Muller-Spahn F, Hulette C, Rosenberg C, Otten U. Decreased trkA neurotrophin receptor expression in the parietal cortex of patients with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 1998;241: 151–154.

Holsinger RM, Schnarr J, Henry P, Castelo VT, Fahnstock M. Quantitation of BDNF mRNA in human parietal cortex by competitive reverse transcription-polymerase chain reaction: decreased levels in Alzheimer's disease. *Brain Res Mol Brain Res* 2000 ;76 :347–354.

Hughes CP, Berg L, Danziger WL, Coben LA, Martin RL. A new clinical scale for the staging of dementia. *British Journal of Psychiatry*. 1982;140:566–572.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas (IBGE). Diretora de pesquisa, Censos Demográficos. Brasília 2011. <http://www.ibge.gov.br>

Jain KK. Neurologic disorders of aging. November 2006. <http://www.medlink.com/medlinkcontent.asp>

Lang UE, Jockers-Schreubl MC, Helweg R. State of the art of the neurotrophin hypothesis in psychiatric disorders: implications and limitations. *J Neural Transm*. 2004;111(3):387-411.

Laske, C. et al. Stage-dependent BDNF serum concentrations in AD. *J Neural Transm* 2006: 113:1217-24.

Launer LJ, Andersen K, Dewey ME, Letenneur L, Ott A, Amaducci LA, Brayne C, Copeland JR, Dartigues JF, Kragh-Sorensen

P, Lobo A, Martinez-Lage JM, Stijnen T, Hofman A: Rates and risk factors for dementia and Alzheimer's Disease: result from EURODEM pooled analyses. EURODEM Incidence Research Group and Work Groups. European Studies of Dementia. *Neurology* 1999; 52: 78-84.

Lee, Jung Goo et al. (2009) Decreased Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor Levels in Elderly Korean with Dementia. *Psychiatry Invest* 2009;6:299-305.

Leyhe T, Stransky E, Eschweiler GW et al. Increase of BDNF serum concentration during donepezil treatment of patients with early Alzheimer's disease. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2008; 258:124–28.

Lopez OL; Jagust WJ; DeKosky ST; Becker JT; Fitzpatrick, A; Dulberg C; Breitner J; Lyketsos C; Jones B; Kawas C; Carlson M; Kuller LH. Prevalence and Classification of Mild Cognitive Impairment in the Cardiovascular Health Study Cognition Study. *Arch Neurol.* 2003;60:1385-1389.

Lu B, Gottschalk W. Modulation of hippocampal synaptic transmission and plasticity by neurotrophins. *Prog Brain Res* 2000;128:231–241.

Mattson MP, Duan W, Chan SL, et al. Neuroprotective and neurorestorative signal transduction mechanisms in brain aging: modification by genes, diet and behavior. *Neurobiol Aging* 2002;23(5):695.

McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 1984;34:939-944.

Metsis M, Timmusk T, Arenas E, Persson H. Differential usage of multiple brain-derived neurotrophic factor promoters in the rat brain following neuronal activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90(19):8802-8806.

Michalski B, Fahnstock M. Pro-brain-derived neurotrophic factor is decreased in parietal cortex in Alzheimer's disease. *Brain Res Mol Brain Res* 2003;111: 148–154.

Minichiello L, Korte M, Wolfer D et al. Essential role for TrkB receptors in hippocampus-mediated learning. *Neuron* 24(2), 401–414 (1999).

Murer MG, Boissiere F, Yan Q, Hunot S, Villares J, Faucheux B, Agid Y, Hirsch E, Raisman-Vozari R. An immunohistochemical study of the distribution of brain-derived neurotrophic factor in the adult human brain, with particular reference to Alzheimer's disease. *Neuroscience* 1999;88: 1015–1032.

Moraes, G.L.A.; Silva, M.J. Explorando o Universo de Cuidado de idosos dependentes pelo cuidador familiar. *Revista Rene*, v.5, n.1, p.33-40,2004.

Nee LE, Eldridge R, Sunderland T, et al. Dementia of the Alzheimer type: clinical and family study of 22 twin pairs. *Neurology*, 1987;37:359-363.

Nilsson LG, Adolfsson R, Bäckman L, et al. The influence of APOE status on episodic and semantic memory: data from a population-based study. *Neuropsychology*, 2006;20:645-657.

Patapoutian A, Reichardt LF. Trk receptors: mediators of neurotrophin action. *Curr Opin Neurobiol* 2001;11: 272–280.

Patterson SL, Pittenger C, Morozov A et al. Some forms of cAMP-mediated longlasting potentiation are associated with release of BDNF and nuclear translocation of phospho-MAP kinase. *Neuron* 32(1), 123–140 (2001).

Peng S, Wu J, Mufson EJ, Fahnstock M. Precursor form of brain-derived neurotrophic factor and mature brain-derived neurotrophic factor are decreased in the pre-clinical stages of Alzheimer's disease. *J Neurochem* 2005;93: 1412–1421.

Petersen, R.C., Doody, R., Kurz, A., Mohs, R.C., Morris, J.C., Rabins, P.V., Ritchie, K., Rossor, M., Thal, L., Winblad, B. Current concepts in mild cognitive impairment. *Arch. Neurol.* 2001; 58, 1985–1992.

Petersen, R.C. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *Journal of Internal Medicine.* 2004; 256, 183–194.

Phillips HS, Hains JM, Armanini M, Laramie GR, Johnson SA, Winslow JW. BDNF mRNA is decreased in the hippocampus of individuals with Alzheimer's disease. *Neuron* 1991;7: 695–702.

Pihlajamäki, M., Jauhiainen, A.M., Soininen, H.. Structural and functional MRI in mild cognitive impairment. *Current Alzheimer Research.* 2009; 6, 179–185.

Rey A. L'examen clinique en psychologie. Paris: Press Universitaires de France; 1964. 221p.

Ritchie K, Artero S, Touchon J. Classification criteria for mild cognitive impairment: a population-based validation study. *Neurology* 2001; 56: 37-42.

Salehi A, Verhaagen J, Dijkhuizen PA, Swaab DF. Co-localization of high-affinity neurotrophin receptors in nucleus basalis of Meynert neurons and their differential reduction in Alzheimer's disease. *Neuroscience* 1996;75: 373–387.

Savaskan E, Muller-Spahn F, Olivieri G, Bruttel S, Otten U, Rosenberg C, Hulette C, Hock C. Alterations in trk A, trk B and trk C receptor immunoreactivities in parietal cortex and cerebellum in Alzheimer's disease. *Eur Neurol* 2000;44: 172–180.

Scahill RI, Frost C, Jenkins R, Whitwell JL, Rossor MN, Fox NC. A longitudinal study of brain volume changes in normal aging using serial registered magnetic resonance imaging. *Arch Neurol* 2003;60(7):989-94.

Schindowski K, Belarbi K, Bue´e L. Neurotrophic factors in Alzheimer's disease: role of axonal transport. *Genes, Brain and Behavior* 2008;7(Suppl. 1): 43–56

Schindowski K, Belarbi K, Bue´e L. Neurotrophic factors in Alzheimer's disease: role of axonal transport. *Genes, Brain and Behavior* 2008;7(Suppl. 1): 43–56.

Siegel GJ, Chauhan NB. Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's disease brain. *Brain Res Brain Res Rev* 2000;33: 199–227.

Slooter AJ, Cruts M, Van Broeckhoven C, et al. Apolipoprotein E and longevity: the Rotterdam Study. *J Am Geriatr Soc*, 2001;49:1258-1259.

Souza DR, de Godoy MR, Hotta J, et al. Association of apolipoprotein E polymorphism in late-onset Alzheimer's disease and vascular dementia in Brazilians. *Braz J Med Biol Res*, 2003;36:919-923.

Terry RD. An honorable compromise regarding amyloid in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 2001;49:684

Timmusk T, Lendahl U, Funakoshi H, Arenas E, Persson H, Metsis M. Identification of brain-derived neurotrophic factor promoter regions mediating tissue-specific, axotomy-, and neuronal activity-induced expression in transgenic mice. *J Cell Biol* 1995; 128(1-2):185-199.

Timmusk T, Metsis M. Regulation of BDNF promoters in the rat hippocampus. *Neurochem Int* 1994b; 25(1):11-15.

Timmusk T, Palm K, Metsis M, Reintam T, Paalme V, Saarma M et al. Multiple promoters direct tissue-specific expression of the rat BDNF gene. *Neuron* 1993; 10(3):475-489.

Timmusk T, Persson H, Metsis M. Analysis of transcriptional initiation and translatability of brain-derived neurotrophic factor mRNAs in the rat brain. *Neurosci Lett* 1994; 177(1-2):27-31.

Trentini CM, Xavier FMF, Fleck MPA. Qualidade de vida em idosos. In: Parente MAMP. *Cognição e envelhecimento*. Porto Alegre: Artmed; 2006. p. 19-29.

Von Strauss E, Viitanen M, De Ronchi D, Winblad B, Fratiglioni L: Aging and occurrence of dementia. Findings from a population-based cohort with a large sample of nonagerians. *Arch Neurol* 1999; 56: 587-592.

Wilkins S, Law M, Lets L. Assessment of functional performance. In: Bonder BR, Wagner MB. *Functional performance in older adults*. Philadelphia: F. A. Davis; 2001. cap. 12, p. 236-51.

Winblad B, Palmer K, Kivipelto M, Jelic V, Fratiglioni L, Wahlund L-O, et al. Mild cognitive impairment - beyond controversies,

towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. *J Intern Med* 2004;256:240-6.

Katz S, Ford AB, Moskowitz RW, Jackson BA, Jaffe MW. Studies of illness in the aged. The index of ADL: a standardized measure of biological and psychosocial function. *JAMA*. 1963;185(12):914-9.

5. Artigo redigido em Inglês

Abstract

Background: It has been suggested that there is an association between brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and the neuropathology of Alzheimer's disease (AD). However, little is known about the role of BDNF in subjects with mild cognitive impairment (MCI). In the present study, we investigated BDNF serum levels in healthy elderly, amnesic MCI, and mild to moderate AD patients in order to identify a possible role for this neurotrophin in preclinical and early stages of AD. **Methods:** BDNF serum levels were measured by sandwich-ELISA in healthy elderly (n=20), amnesic MCI patients (n=15) and AD patients (n=25), 12 mild and 13 moderate. MMSE scores, level of education and age were analyzed for a possible correlation with BDNF levels. **Results:** BDNF serum levels were significantly different between MCI patients and healthy subjects ($p=0.003$); MCI and mild AD patients ($p=0.023$); and MCI and moderate AD patients ($p=0.050$). BDNF showed no correlation with MMSE scores, age or level of education. **Limitations:** The small sample size in the present investigation could be a limitation. However, we carried out a power calculation

that showed values higher than 80% for a confidence level of 95%.

Conclusion: The fact that BDNF serum levels differentiated amnesic MCI patients from healthy elderly and AD patients suggests a possible role for BDNF as a preclinical biomarker of AD.

Introduction

It is estimated that 24 million people have dementia today and that this amount will double every 20 years¹. Alzheimer's disease (AD) is the most prevalent cause of dementia, responsible for approximately 60% of the cases². AD is preceded by about five to six years of accelerated decline in multiple cognitive functions³ and is characterized by amyloid plaques and neurofibrillary tangles as well as loss of neuronal cells typically initiating in the medial temporal lobe structures, which are responsible for learning and memory processes⁴⁻⁵. However, exactly by which mechanisms neurodegeneration occurs remains unclear.

Research focusing on clarifying the pathogenesis of AD has involved investigation of the role neurotrophic factors might have during disease installation and progress⁶⁻¹⁰. Neurotrophic factors are proteins involved in the maintenance of survival and function of neuronal cells. In particular, brain-derived neurotrophic factor (BDNF) plays a crucial role in cognition, learning and memory formation by modulating synaptic plasticity¹¹⁻¹³. Furthermore, BDNF has been implicated in a variety of neurological and psychiatric diseases. Still, only in a few of them consensus was reached as to the way BDNF plasma concentrations should behave. In

Hungtinton's disease¹⁴ and Bipolar Disorder¹⁵ findings have consistently pointed to a reduction in BDNF plasma concentrations, suggesting a lack of neurotrophic support in the presence of such illnesses. In the specific case of AD and Mild Cognitive Impairment (MCI) patients the literature is not very extensive and there is a clear need for more research in the field.

More recently, efforts have been made to detect early manifestations of AD which lead to include MCI as an early disease stage¹⁶. MCI has been divided into two phenotypes: amnestic and nonamnestic. Furthermore each of them can be subdivided into single and multiple cognitive domains¹⁶. Regarding nomenclature it has been proposed that amnestic MCI could be termed either prodromal AD¹⁷ or MCI due to AD¹⁸.

Research investigating the relationship of BDNF with AD and MCI has led to mixed results. In the case of AD patients compared to healthy elderly control, some studies point to an increase of BDNF serum levels⁶ while others found either a decrease^{7-8, 19, 20} or no difference of such levels⁹⁻¹⁰ between groups. Similarly, MCI patients compared to healthy elderly controls were found to have either an increase⁶ or more frequently a decrease^{8, 19} in BDNF plasma concentration.

We hypothesized that BDNF plasma concentration would present a gradual decrease, with higher levels among healthy controls, intermediate among amnesic MCI patients and lower among AD patients. Therefore, the present study aimed to investigate BDNF serum levels in healthy elderly, amnesic MCI and mild to moderate AD patients.

Methods

Participants

The sample was composed of 20 healthy elderly, 15 amnesic MCI patients and 25 mild to moderate AD patients. Healthy elderly were community-dwelling individuals, functionally independent, who presented a Mini Mental State Examination (MMSE) score > 24, and had memory performance above the cutoffs for this population. Amnesic MCI were patients who met Petersen's criteria²¹. All AD patients met DSM IV²² and NINCDS-ADRDA²³ criteria for probable Alzheimer. Severity of disease was assessed with the Clinical Dementia Rating scale²⁴⁻²⁶ (CDR), classifying AD patients into 12 mild (CDR=1) and 13 moderate (CDR=2). All participants and/or a proxy gave written informed consent and all procedures were

approved by the Hospital de Clínicas de Porto Alegre Research Ethics Committee.

Blood non-fasting samples were collected in serum-separating tubes during clinical evaluations, centrifuged, aliquoted, and stored at -80°C .

BDNF measurement

BDNF levels in serum samples were determined by sandwich-ELISA using monoclonal antibodies specific for BDNF (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota). Briefly, microtiter plates were coated overnight at room temperature with the monoclonal anti-BDNF antibody at 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in PBS. Then, plates were washed three times with wash buffer and was blocked for 1 hour at room temperature with PBS containing 5% nonfat milk powder. After washing, plates were coated overnight at 4 $^{\circ}\text{C}$ with the samples diluted 1:200 in sample diluent (PBS with 1% BSA) and standard curve ranged from 7.8 to 500 pg/mL of BDNF. Plates were washed again and was added a biotinylated anti-BDNF antibody at 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in PBS, which was incubated for 2 hours at room temperature. After washing, the incubation with streptavidin-peroxidase conjugate (diluted 1:1000 in sample diluent) for 1 hour at room temperature was performed. After, plates were washed and

incubated with the substrate for 20 minutes at room temperature. Finally, the stop solution was added and the amount of BDNF was determined by absorbance at 450 nm. The standard curve demonstrated a direct relationship between optical density (OD) and BDNF concentration.

Instruments

Cognitive status of all participants was determined using the Mini Mental State Examination (MMSE) scores²⁷⁻²⁸. Katz scale was used to evaluate functional capacity²⁹. Disease severity was determined with the CDR scale²⁴⁻²⁶ using the global score. Episodic memory was evaluated through the Rey Auditory Verbal Learning Test³⁰ and memory impairment in MCI participants was established through a score of 1.5 SD below healthy subjects mean³¹. Depression was evaluated with the Structured Clinical Interview (SCID) from the DSM IV²².

Statistical analyses

Descriptive statistics (mean, SD and frequency) were calculated for demographic data and MMSE scores. Chi-square test, ANOVA One-Way and Pearson's correlation were performed, and used as significant at $p < 0.05$. The statistical analysis was

performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 18.0 for Windows).

Results

Complete demographic data and the MMSE scores for each group are presented in Table 1. Level of education was different between healthy elderly and MCI ($p=0.027$), between healthy elderly and mild AD ($p<0.001$) and between healthy elderly and moderate AD patients ($p=0.001$) on Tukey's *post-hoc* test.

BDNF serum levels were significantly different among groups ($F=5.120$, $p=0.003$; Figure 1). MCI patients (25.5 ± 20.5) showed significantly lower BDNF levels than healthy elderly (50.6 ± 20.1) ($p = 0.003$). Additionally, BDNF serum level in MCI patients were also lower than mild (48.5 ± 20 ; $p = 0.023$) and moderate (45.7 ± 20 ; $p = 0.050$) AD patients (Tukey's *post-hoc* test). No significant difference of BDNF serum levels was observed among healthy elderly and mild and moderate AD patients.

No correlation of age, education and MMSE with BDNF serum levels was observed (Pearson's correlation).

Power calculation was carried out for mean differences observed in the study and confidence level of 95%, with the

OpenEpi, Version 2, open source calculator, PowerMean (<http://www.openepi.com/OE2.3/Power/PowerMean.htm>). The power was 95.1% for the comparisons between healthy elderly and MCI patients and 83.6% for the comparisons between MCI and mild AD patients.

Discussion

The present investigation was carried out to evaluate BDNF plasma concentrations in healthy elderly, amnesic MCI (aMCI) and mild and moderate AD patients. We found that BDNF serum levels were diminished in MCI patients when compared to healthy age matched controls and patients with mild and moderate AD. On the other hand, no difference among healthy controls, mild, and moderate AD patients was observed.

In our study MCI patients were classified as amnesic, supporting the presence of more pure hippocampal dysfunction and closer relationship with BDNF expression. Assuming aMCI as prodromal AD, the reduction of BDNF serum levels in our aMCI patients may suggest an early response to neurodegenerative process similar to that observed in Huntington's disease¹⁴ or Bipolar Disorder¹⁵ despite differences in the nature of the pathological

processes. The elevation of these levels in AD patients could indicate a compensatory mechanism of BDNF in the face of hippocampal damage and initial neurodegeneration³²⁻³⁴.

The diminishment in BDNF plasma concentration in aMCI patients reinforces the idea of BDNF as a biomarker candidate to identify early AD pathology processes, which could have an important role in the treatment of prodromal AD³⁵⁻³⁶. Such decrease of BDNF serum levels in MCI patients has been already observed^{8,19}. Most findings pointed to a reduction^{8,19} and few showed an increase⁶ in BDNF plasma concentration in MCI patients. One possible explanation for such inconsistent findings could be the differences in the methodology used both to classify MCI patients and the way plasma levels were analyzed. In some studies the MCI group included amnesic^{8,37} and non-amnesic¹⁹ patients besides single and multiple domain subtypes of MCI^{6,19}, allowing unwanted pathological process heterogeneity, therefore diminishing sensitivity to BDNF function.

Regarding studies on BDNF plasma concentration comparing healthy elderly individuals and AD patients there were also mixed results^{7,9,10,19,20}. Again methodological issues might have played a role in the incongruent findings. One major difference among studies

was the way patients groups were defined not only to confirm diagnosis but also to identify disease severity. Some used a more sensitive detection/diagnostic instrument (e.g., Clinical Dementia Rating) and others used less specific or sensitive instrument (e.g., MMSE).

In a study¹⁹ investigating both MCI and AD patients, no difference was found between the two groups regarding BDNF plasma concentration. However, not only the MCI group included both single and multiple domain deficits but also no disease severity was established for AD patients.

The fact that our results point to BDNF as a biomarker sensitive to the preclinical phase of AD support the importance of more research in the field. Furthermore, other potential biomarkers for the identification of AD in its early stages have been investigated but very few have a form as simple and with low cost as measuring BDNF levels in plasma^{35,38}.

Limitations

The small sample size in the present investigation could be a limitation. However, we carried out a power calculation and showed values higher than 80% for confidence level of 95%. This assigns power for our results independent of samples' size. On the other

hand, the strengths of this study are the use of amnesic MCI criteria, instruments to evaluate disease severity among AD patients classifying them into mild and moderate, and the careful bioassay method utilized.

Conclusion

We found that BDNF serum levels were diminished in MCI patients when compared to healthy age matched controls and patients with mild and moderate AD. On the other hand, no difference among healthy controls, mild, and moderate AD patients was observed. The reduction of BDNF serum levels in our MCI patients suggests an early response to the neurodegenerative process. Conversely, the elevation of BDNF levels in AD patients could indicate a compensatory mechanism in the presence of initial neurodegeneration.

References:

1. Ferri CP, Prince M, Brayne C, et al. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet* 2005;366:2112-7.
2. Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *Lancet* 2006;368:387-403.
3. Wilson RS, Leurgans SE, Boyle PA, et al. Cognitive Decline in Prodromal Alzheimer Disease and Mild Cognitive Impairment. *Arch Neurol* 2011;68:351-56.
4. Ball MJ, Fisman M, Hachinski MV, et al. A new definition of Alzheimer's disease: a hippocampal dementia. *Lancet* 1985;1:14-16.
5. Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 1991;82:239-59.
6. Angelucci FG, Spalletta G, di Iulio F, et al. AD and MCI patients are characterized by increased BDNF serum levels. *Curr Alzheimer Res* 2010; 7:15-20.
7. Laske, C. et al. Stage-dependent BDNF serum concentrations in AD. *J Neural Transm* 2006: 113:1217-24.

8. Lee, Jung Goo et al. (2009) Decreased Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor Levels in Elderly Korean with Dementia. *Psychiatry Invest* 2009;6:299-305.
9. O'Bryant, et al. Texas Alzheimer's Research Consortium Brain-Derived Neurotrophic Factor Levels in Alzheimer's Disease *J Alzheimers Dis* 2009; 17:337–341.
10. O'Bryant Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor Levels Are Specifically Associated with Memory Performance among Alzheimer's Disease Cases. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2011;31:31–36.
11. Bekinschtein P, Cammarota M, Izquierdo LM, et al. Persistence of long-term memory storage requires a late protein synthesis- and BDNF- dependent phase in the hippocampus. *Neuron* 2007; 53:261-77.
12. Poo MM. Neurotrophins as synaptic modulators. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2:24-32.
13. Yamada K, Nabeshima T. Brain-derived neurotrophic factor/TrkB signaling in memory processes. *J Pharmacol Sci* 2003; 91:267-70.

14. Zuccato C, Cattaneo E. Brain-derived neurotrophic factor in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurol* 2009; 5:311–22.
15. Fernandes BS, Gama CS, Ceresér KM, et al. Brain-derived neurotrophic factor as a state-marker of mood episodes in bipolar disorders: A systematic review and meta-regression analysis. *J Psychiatr Res* In Press, Corrected Proof, Available online 6 May 2011,
16. Petersen, RC Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J Intern Med* 2004; 256:183–194.
17. Dubois B, Albert ML. Amnestic MCI or prodromal Alzheimer's disease? *Lancet Neurol* 2004; 3:246–48.
18. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D et al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2011; 7:270–79.
19. Forlenza OV, Diniz BS, Teixeira AL, et al. Effect of brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and

serum levels on the progression of mild cognitive impairment. *World J Biol Psychiatry* 2010; 11:774-780.

20. Leyhe T, Stransky E, Eschweiler GW et al. Increase of BDNF serum concentration during donepezil treatment of patients with early Alzheimer's disease. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2008; 258:124–28.
21. Petersen RC, Stevens JC, Ganguli M, et al. Practice parameter: Early detection of dementia: Mild cognitive impairment (an evidence-based review) Report of the quality standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2001; 56:1133-42.
22. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV 4th ed.* Washington, DC: American Psychiatric Association; 1994.
23. McKhann G, Drachman D, Folstein M, et al. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report from the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 1984; 34:939–44.

24. Chaves ML, Camozzato AL, Godinho C, et al. Validity of the Clinical Dementia Rating scale for the detection and staging of dementia in Brazilian patients. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2007;21:210-17.
25. Hughes CP, Berg L, Danziger WL, et al. A new clinical scale for the staging of dementia. *Br J Psychiatry* 1982;140:566–72.
26. Morris JC. The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. *Neurology* 1993;43:2412–14.
27. Chaves ML, Izquierdo I. Validity of the Clinical Dementia Rating scale for the detection and staging of dementia in Brazilian patients. *Acta Neurol Scand* 1992; 85:378–382.
28. Folstein MR, Folstein SE, McHugh PR. “Mini-mental State:” A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975; 12:189–198.
29. Katz S, Ford AB, Moskowitz RW, et al. Studies of illness in the aged. The index of ADL: a standardized measure of biological and psychosocial function. *JAMA* 1963; 185:914-19.

30. Rey A. L'Examen Clinique en Psychologie. Press Universitaire de France -Paris;1964.
31. Malloy-Diniz LF, Cruz M F, Torres VM, et al. O teste de aprendizagem auditivo-verbal de Rey: normas para uma população brasileira. Revista Bras Neurol, 2000; 36:79-83.
32. Luellen BA, Bianco LE, Schneider LM, et al. Reduced brain-derived neurotrophic factor is associated with a loss of serotonergic innervation in the hippocampus of aging mice. Genes Brain Behav 2007; 6:482-90.
33. Szapacs ME, Numis AL, Andrews AM. Late onset loss of hippocampal 5-HT and NE is accompanied by increases in BDNF protein expression in mice co-expressing mutant APP and PS1. Neurobiol Dis 2004;16:572-80.
34. Comelli MC, Guidolin D, Seren MS, et al. Time course, localization and pharmacological modulation of immediate early inducible genes, brain-derived neurotrophic factor and trkB messenger RNAs in the rat brain following photochemical stroke. Neuroscience 1993; 55:473-90.

35. Nagahara AH, Tuszynski MH. Potential therapeutic uses of BDNF in neurological and psychiatric disorders. *Nat Rev Drug Discov* 2011; 10:209-19.
36. Fumagalli F, Racagni G, Riva MA. The expanding role of BDNF: a therapeutic target for Alzheimer's disease? *Pharmacogenomics J* 2006; 6:8-15.
37. Yu H, Zhang Z, Shi Y, et al. Association study of the decreased serum BDNF concentrations in amnesic mild cognitive impairment and the Val66Met polymorphism in Chinese Han. *J Clin Psychiatry* 2008; 69:1104-11.
38. Shoji M. Biomarkers of the Dementia. *Int J Alzheimers Dis* 2011; doi:10.4061/2011/564321.

Table 1: Demographic data and MMSE scores among groups.

Variables	Healthy elderly (N=20)	MCI participants (N=15)	Mild Alzheimer (N=12)	Moderate Alzheimer (N=13)	p value
Sex*					
Male N (%)	3 (15)	2 (13)	3 (25)	4 (31)	
Female N (%)	17 (85)	13 (87)	9 (75)	9 (69)	0.602
Age**	73.95±6.46	76.80±8.45	77.75±4.67	79.77±5.58	0.095
Schooling**	12.25±6.41	7.13±4.30	4.17±4.54	4.77±4.45	<001
MMSE**	27.95±1.60	26.27±2.78	16.25±4.00	11.62±2.50	<001

* Chi Square Test ($\chi^2=1.859$)

** One-Way ANOVA (F=2.225 for age; F=8.424 for schooling; F=126.469 for MMSE)

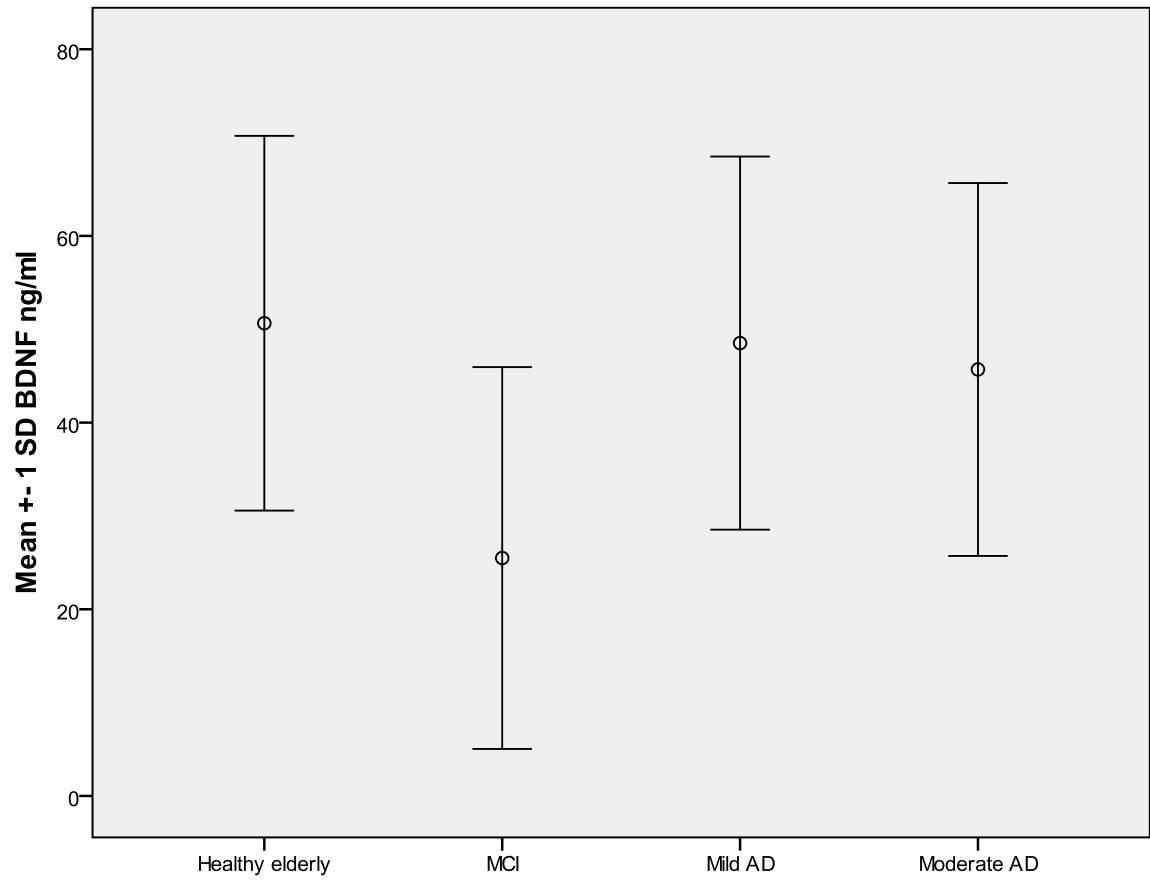


Figure 1. BDNF results (mean±sd) for each of the four studied groups.

5. Considerações Finais

Com o aumento da população idosa e com isso o aumento de das doenças neurodegenerativas, é importante a detecção do declínio cognitivo no seu início favorecendo uma melhor eficácia do tratamento. Considerando a reformulação dos critérios para CCL assumindo o fenótipo amnésico como DA prodrômica ou CCL na DA, é pressuposto que o início do processo neurodegenerativo ocorra antes mesmo da manifestação como CCL. Assim, o uso de biomarcadores, junto com as testagens neuropsicológicas, pode auxiliar na detecção precoce.

Os níveis séricos de BDNF (*brain derived neurotrophic factor*) avaliados nesse estudo estavam significativamente diminuídos nos pacientes com CCL quando comparados aos controles saudáveis e pacientes com DA leve e moderada. A redução dos níveis séricos de BDNF no grupo de paciente com CCL sugere uma resposta precoce ao processo neurodegenerativo.

7. Anexos

7.1 ESCALA ADL (Atividades da Vida Diária)

Instruções: Oferecer descrições completas da habilidade funcional fornecendo exemplos (como os apresentados em itálico abaixo). Se o paciente for capaz de realizar mas requer dicas ou orientação do cuidador, gradue 1 para leve assistência necessitada. Avaliador deve analisar o que o sujeito é funcionalmente **capaz de fazer**, não o que faz de fato.

Exceto no caso de especificação para incontinência, gradue assistência necessitada:

0 nenhuma; 1 discreta; 2 completa

ASPECTOS FUNCIONAIS	Assistência Necessitada
1. Alimentar-se (necessita que a comida seja cortada, lembrar de comer)	
2. Vestir-se ou despir-se (necessita que roupas sejam escolhidas, auxílio com botões)	
3. Pentear-se e barbear-se (necessita ser lembrado)	
4. Marcha	
5. Deitar-se na cama ou levantar-se	
6. Banho (necessita orientação ou ser lembrado, necessita assistência com parte da tarefa como lavar o cabelo)	
7. Toalete (necessita ser lembrado ou de auxílio para limpar-se)	
8. Incontinência – Escore: 0 – nunca ou < 1x/semana 1 – 1 a 2x/semana 2 - ≥ 3x/semana	
9. Necessita auxílio com compras, banho, tarefas de casa, e/ou deslocar-se na vizinhança	
ESCORE TOTAL	

7.2 ESCALA IADL – Atividades Instrumentais

Avaliador deve analisar o que o sujeito é funcionalmente **capaz de fazer**, não o que faz de fato.

Escore: 0 nenhuma; 1 discreta; 2 completa

ASPECTOS FUNCIONAIS	Assistência Necessitada
1. Usar telefone (procura números telefônicos ou responde ao mesmo)	
2. Andar de carro, ônibus, táxi	
3. Comprar comida e roupas (capaz de escolher itens apropriados)	
4. Preparar comida (necessita que os ingredientes sejam escolhidos – selecionados ou outra supervisão)	
5. Realizar tarefas da casa	
6. Tomar sua própria medicação	
7. Lidar com seu dinheiro (recebe troco correto, preenche cheque)	
ESCORE TOTAL	

7.3 MINI EXAME DO ESTADO MENTAL (MEEM)

ORIENTAÇÃO	Score Máximo
* Qual é o (ano) (estação) (dia/semana) (dia/mês) e (mês).	(5)
* Onde estamos (país) (estado) (cidade) (rua ou locala) (andar).	(5)
REGISTRO	
* Dizer três palavras: PENTE RUA AZUL. Pedir para prestar atenção pois terá que repetir mais tarde. Pergunte pelas três palavras após tê-las nomeado. Repetir até que evoque corretamente e anotar número de vezes: ____	(3)
ATENÇÃO E CÁLCULO	
* Subtrair: 100-7 (5 tentativas: 93 – 86 – 79 – 72 – 65) Alternativo1: série de 7 dígitos (5 8 2 6 9 4 1)	(5)
EVOCAÇÃO	
* Perguntar pelas 3 palavras anteriores (pente-rua-azul)	(3)
LINGUAGEM	
* Identificar lápis e relógio de pulso	(2)
* Repetir: “Nem aqui, nem alí, nem lá”.	(1)
* Seguir o comando de três estágios: “Pegue o papel com a mão direita, dobre ao meio e ponha no chão”.	(3)
* Ler ‘em voz baixa’ e executar: FECHE OS OLHOS	(1)
* Escrever uma frase (um pensamento, idéia completa)	(1)
* Copiar o desenho:	(1)
TOTAL:	(30)

^a Rua é usado para visitas domiciliares.
Local para consultas no Hospital ou outra instituição!

¹ Alternativo é usado quando o entrevistado erra **JÁ** na primeira tentativa, **OU** acerta na primeira e erra na segunda. **SEMPRE** que o alternativo for utilizado, o escore do item será aquele obtido com ele. **Não importa se a pessoa refere ou não saber fazer cálculos** – de qualquer forma se inicia o teste pedindo que faça a subtração inicial. A ordem de evocação tem que ser exatamente à da anresentarãñ!

7.4 TESTE DE APRENDIZAGEM AUDITIVO-VERBAL DE REY (RAVLT)

Lista A	A1	A2	A3	A4	A5	Lista B	B1	A6	A7	Lista A
Tambor						Mesa				Tambor
Cortina						Guarda				Cortina
Sino						Ave				Sino
Café						Sapato				Café
Escola						Forno				Escola
Pai						Montanha				Pai
Lua						Óculos				Lua
Jardim						Toalha				Jardim
Chapéu						Nuvem				Chapéu
Cantor						Barco				Cantor
Nariz						Ovelha				Nariz
Peru						Arma				Peru
Cor						Lápis				Cor
Casa						Igreja				Casa
Rio						Peixe				Rio
No Corretas						No Corretas				

LISTA PARA TESTAR O RECONHECIMENTO:

SINO (A)	LAR (SA)	<u>TOALHA</u> (B)	<u>BARCO</u> (B)	<u>ÓCULOS</u> (B)
JANELA (SA)	<u>PEIXE</u> (B)	CORTINA (A)	ESTOLA (FA)	BOTA (SB)
CHAPÉU (A)	LUA (A)	FLOR (SA)	PAI (A)	<u>SAPATO</u> (B)
MÚSICA (SA)	PINO (FA)	Cor (A)	ÁGUA (SA)	PROFESSOR (SA)
<u>GUARDA</u> (B)	RUA (FA)	<u>MESA</u> (B)	CANTOR (A)	<u>FORNO</u> (B)
NARIZ (A)	<u>AVE</u> (B)	<u>ARMA</u> (B)	BULE (SA)	NINHO (SB)
CHUVA (SB)	<u>MONTANHA</u> (B)	GIZ (SA)	<u>NUVEM</u> (B)	FILHO (SA)
ESCOLA (A)	CAFÉ (A)	<u>IGREJA</u> (B)	CASA (A)	TAMBOR (A)
PAPEL (FA)	ASA (FA)	PERU (A)	FEIXE (FB)	RAPÉ (FA)
<u>LÁPIS</u> (B)	Rio (A)	TORNO (FB)	JARDIM (A)	<u>OVELHA</u> (B)