

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**FACULDADE DE MEDICINA**

**JULIANA LIMA QUINTAS**

**AUSÊNCIA DE ASSOCIAÇÃO ENTRE GENÓTIPOS DA  
APOLIPOPROTEÍNA E (APOE) E DESEMPENHO COGNITIVO EM IDOSOS  
NÃO DEMENTES**

**BRASÍLIA – DF**

JULIANA LIMA QUINTAS

**AUSÊNCIA DE ASSOCIAÇÃO ENTRE GENÓTIPOS DA APOLIPOPROTEÍNA E  
(APOE) E DESEMPENHO COGNITIVO EM IDOSOS NÃO DEMENTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade de Brasília como requisito parcial à obtenção ao grau de Mestre em Ciências Médicas.

Orientador: Prof. Dr. Otávio de Tolêdo Nóbrega

**BRASÍLIA**

**2012**

JULIANA LIMA QUINTAS

**AUSÊNCIA DE ASSOCIAÇÃO ENTRE GENÓTIPOS DA APOLIPOPROTEÍNA E  
(APOE) E DESEMPENHO COGNITIVO EM IDOSOS NÃO DEMENTES**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de mestre no curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade de Brasília, pela Comissão formada pelos professores:

Orientador: Prof. Dr. Otávio de Tolêdo Nóbrega  
Faculdade de Medicina/UnB

Prof. Dr. Ricardo Moreno Lima  
Faculdade de Educação Física-UnB

Prof. Dr. Cláudio Olavo de Almeida Córdova  
Universidade Católica de Brasília

Prof. Dr. Marco Polo Dias Freitas  
Hospital Universitário de Brasília

Brasília, 05 de Julho de 2012.

*Para meu marido e  
filho, fontes preciosas de  
amor.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela sua eterna presença e proteção;

Aos meus pais, Quintas e Ana, pelo amor, dedicação e ensinamentos valiosos ao longo desses anos;

A minha mãe, Ana, por estender seu papel de mãe ao meu filho e dedicar a ele grande amor em momentos de minha ausência;

Aos meus irmãos, Eduardo e Fábio, por estarem sempre carinhosamente ao meu lado;

Ao meu marido, Einstein, por sempre estar ao meu lado me apoiando e transmitindo calma;

A minha grande família: Quintas, Ana, Eduardo, Fábio, Josiane, Victor, Mariana, Einstein e Bernardo, pelas horas agradáveis e nutritivas compartilhadas comigo;

Aos meus valiosos amigos, Alause, Marcus, Thaís e Mariana, pela constante presença em diversos momentos da minha vida;

Aos demais amigos e familiares não mencionados, mas jamais esquecidos, obrigada por fazerem parte da minha vida e compartilharem comigo tantos momentos especiais como este;

À equipe do Centro de Medicina do Idoso (HuB), por incentivar e viabilizar esta pesquisa; e ao Hospital da Universidade Católica (HuCB), pela parceria.

Aos colegas de equipe, Clayton, Vinícius, Einstein, Adriane e Wilcelly, pela parceria e empenho, fundamentais para a realização dessa pesquisa.

Ao orientador Prof. Dr. Otávio de Tolêdo Nóbrega pela confiança no meu potencial e seriedade, incentivo e competência demonstrados ao longo desta jornada;

À amiga Audrey, parceira de jornada, pelas conversas e orientações;

À equipe de apoio, secretárias, técnicas de enfermagem e arquivologistas que dedicaram parte do seu trabalho a este estudo e sem os quais este trabalho não teria êxito;

A todos os pacientes e seus familiares que gentilmente se disponibilizaram a participar deste estudo;

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	vii
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
INTRODUÇÃO.....	10
Envelhecimento e Cognição	11
Avaliação Neuropsicológica no Idoso	12
Apolipoproteína E e Cognição	15
OBJETIVOS.....	17
MANUSCRITO .....	18
Comprovante de Recebimento pelo periódico <i>Neuroscience Letters</i>	19
Introdução	20
Material e Métodos	21
Resultados	23
Discussão	24
Conclusão	26
Referências	27
DISCUSSÃO COMPLEMENTAR.....	32
CONCLUSÃO.....	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
ANEXOS	
Anexo A – Versão artigo inglês.....	44
Anexo B–Termo de aprovação no Comitê de Ética.....	60
Anexo C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	62
Anexo D - Roteiro de entrevista realizada nos pacientes.....	64
Anexo E - Escala de Depressão Geriátrica (versão simplificada). ....	66
Anexo F - Mini-Exame do Estado Mental (MEEM).....	68
Anexo G - Folha de respostas do teste Pares Associados I e II da Escala de Memória Wechsler .....	70
Anexo H - Teste de Dígitos da Bateria de Inteligência Wechsler (WAIS-III).....	72
Anexo I - Folha de Resposta do teste Torre de Hanói.....	74
Anexo J - Modelo da tabela de resultados gerada pelo teste tempo de reação simples e modelo de configuração utilizado TEVA).....	76
Anexo K - Cópia do desenho estímulo e não estímulo do teste TEVA.....	78

## Lista de Abreviaturas e Siglas

<b>%acerto</b>	Percentual de acertos
<b><math>\epsilon_4</math></b>	Épsilon 4
<b>AD</b>	antidepressivo
<b>ADT</b>	Antidepressivo Tricíclico
<b>ANCOV</b>	anticonvulsivantes
<b>ANCOVA</b>	Análise de Covariância
<b>ANOVA</b>	Análise de Variância
<b>ApoE</b>	Apolipoproteína E
<b>APS</b>	Antipsicótico
<b>BZP</b>	benzodiazepínicos
<b>CEP-FM</b>	Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina
<b>DA</b>	Demência de Alzheimer
<b>DDireto</b>	Teste de Dígitos ordem direta
<b>DInverso</b>	Teste de Dígitos ordem inversa
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>DTotal</b>	Teste de Dígitos Totais
<b>EDG</b>	Escala de Depressão Geriátrica
<b>HanóiE</b>	Hanói Erros
<b>HanóiM</b>	Hanói Movimentos
<b>HanóiT</b>	Hanói Tempo de execução
<b>HUB</b>	Hospital Universitário de Brasília
<b>HUCB</b>	Hospital Universitário da Católica de Brasília
<b>MCP</b>	Teste Pares Associados I
<b>MEEM</b>	Mini-Exame do Estado Mental
<b>MLP</b>	Teste Pares Associados II
<b>SNC</b>	Sistema Nervoso Central
<b>TEVA</b>	Teste de Tempo de Reação Simples
<b>TR</b>	Tempo de reação
<b>TCL</b>	Transtorno Cognitivo Leve
<b>UnB</b>	Universidade de Brasília
<b>xpFA</b>	Proporção de falsos alarmes

## Lista de Tabelas

Tabela 01.	Comparação das variáveis contínuas (média±desvio padrão) e categóricas (números absolutos (proporção) entre os três grupos de genótipos de ApoE.
Tabela 02.	Comparação entre os grupos de genótipos nos diversos testes cognitivos.
Tabela 03.	Influência da escolaridade e idade nos Testes Cognitivos.
Tabela 04.	Cálculo do Poder do Teste.



## RESUMO

O envelhecimento populacional proporciona aumento na prevalência de doenças neurodegenerativas, sobretudo demências. Entre as diferentes formas, a doença de Alzheimer (DA) consiste na mais frequente, com aumento significativo em sua prevalência em décadas recentes. Sabe-se que o alelo épsilon 4 ( $\epsilon 4$ ) do gene para apolipoproteína E (ApoE) constitui o principal fator genético de risco para DA, e participação em outras desordens neurológicas. Este trabalho investigou a associação de variantes alélicas da ApoE com o desempenho cognitivo de idosos sem comprometimento cognitivo aparente. Trabalhou-se com amostra de conveniência total de 213 pacientes provenientes de dois centros de atendimento geriátrico no Distrito Federal. Apesar de possuir poder estatístico compatível com seu propósito, este estudo não identificou desempenho diferencial em bateria de testes neuropsicológicos (Mini-Exame do Estado Mental, Escala de Memória Wechsler-Pares Associados I e II, Dígitos diretos e inversos, Torre de Hanói e TEVA) conforme genótipos de ApoE, independentemente da faixa etária e nível de escolaridade. Nossos achados corroboram a hipótese de que o alelo  $\epsilon 4$  não contribui com um declínio cognitivo detectável em um contexto de não demência.

**Palavras-Chave:** apolipoproteína, cognição, neuropsicologia, envelhecimento, idoso.

## ABSTRACT

### Abstract

Population ageing leads to an increased prevalence of neurodegenerative diseases and age-related cognitive decline. The epsilon 4 ( $\epsilon 4$ ) allele of the apolipoprotein E (ApoE) gene is known to be a key genetic risk factor for Alzheimer's disease (AD) and possibly for other neurological disorders. Some evidence in the literature indicates that allele  $\epsilon 4$  interferes with human cognition independently of chronological age. The present study investigated the correlation of allelic variants of ApoE with the cognitive performance of elderly individuals without apparent cognitive impairment. Regardless of a statistical power compatible with the purpose, the present study did not identify differential performance across ApoE genotypes when a sample of 213 cognitively preserved older adults were submitted to a sequence of neuropsychological tests encompassing several cognitive domains, including short- and long-term episodic memory, processing speed, attention and executive functions. There were no effects of age, gender, marital status, schooling, depressive symptoms and use of central nervous system depressants when the analyses were controlled for such factors. Our findings support the hypothesis that the allele  $\epsilon 4$  does not contribute to detectable cognitive decline within the context of non-dementia.

**Keywords:** apolipoprotein; cognition; neuropsychology; elderly; aging.

## 1. INTRODUÇÃO

O envelhecimento populacional ocasiona um aumento da prevalência de doenças neurodegenerativas, sobretudo demências. A prevalência média de demência, acima dos 65 anos, varia entre 2,2% na África, 5,5% na Ásia, 6,4% na América do Norte, 9,4% na Europa e 7,1% na América do Sul (Lopes e Bottino, 2002). Estudos brasileiros descrevem taxa de prevalência de demência intermediária entre os resultados dos estudos internacionais: 7,1% (Sczufca, Cerqueira *et al.*, 2002). Entre as diferentes formas, a Doença de Alzheimer (DA) consiste na mais frequente, com aumento significativo em sua prevalência em décadas recentes (Castellani, Rolston *et al.*, 2010).

Marcadores ou aspectos clínicos que permitam um diagnóstico precoce da DA tem sido objeto de estudos e nesse campo destacam-se os marcadores genéticos (Bertram, Lange *et al.*, 2008). Dentre eles, o alelo épsilon 4 ( $\epsilon 4$ ) do gene para a apolipoproteína E (ApoE) constitui o principal fator genético de risco para DA (Bookheimer e Burggren, 2009).

No contexto clínico, questiona-se quando e como esta variante genotípica manifesta-se fenotipicamente na cognição humana. Neste sentido, há evidências de que o alelo  $\epsilon 4$  interfira no desempenho cognitivo independentemente da idade cronológica (Tuminello e Han, 2011) e de sinais ou sintomas compatíveis com quadro demencial (Caselli, Reiman *et al.*, 2007). Outra vertente entende a presença do alelo como fator de risco para DA a partir do diagnóstico, em uma contribuição alelo-específica ao advento e evolução da doença, conferindo uma maior velocidade de perda cognitiva (Bunce, Anstey *et al.*, 2011).

Diante do aumento na expectativa de vida e de diferentes hipóteses existentes associadas às possíveis expressões fenotípicas vinculadas ao genótipo de ApoE, pesquisas em idosos não dementes contribuem na elucidação da relação entre este genótipo e desempenho cognitivo.

## 1.1 Envelhecimento e Cognição

O processo de envelhecimento é complexo e multifatorial, e o estudo das bases moleculares desse fenômeno geram grande número de teorias e vasta literatura. Nesse campo, destacam-se as teorias estocásticas, baseadas no acúmulo aleatório de moléculas com alterações estruturais ou funcionais (Birren, Bengtson *et al.*, 1988), e as teorias não-estocásticas relacionadas com mecanismos programados no genoma de cada organismo (Hazzard, 1999). Uma versão mais atual propõe que estas duas vertentes não são mutuamente excludentes, e que provavelmente o acúmulo de danos celulares desencadearia o programa genético que leva ao envelhecimento (Neri e Freire, 2001).

As mudanças ocasionadas em função do envelhecimento humano também se manifestam na cognição. O termo cognição corresponde à faixa de funcionamento intelectual humano, incluindo percepção, atenção, memória, raciocínio, tomada de decisões, solução de problemas e formação de estruturas complexas do conhecimento (Moraes, Moraes *et al.*, 2010). Estas mudanças podem estar relacionadas à senescência ou às comorbidades frequentes a esta faixa etária, como as doenças neurodegenerativas, incluindo as demências.

No envelhecimento normal, observa-se atrofia dos lobos frontais, com prejuízo para o desempenho de funções cognitivas vinculadas à região, como a atenção, a memória de trabalho e a velocidade de processamento (Rodriguez-Aranda e Sundet, 2006). Porém, ainda que essas mudanças existam, não implicam incapacidade nas atividades laborais, necessitando apenas de adaptações na rotina do indivíduo.

Em contrapartida, há situações em que essas alterações provocam prejuízos significativos em tarefas sociais e cotidianas, podendo configurar quadro de demência. Entre as diferentes formas de demência, a demência de Alzheimer é a mais frequente, com importante elevação em sua prevalência nas últimas décadas. DA consiste em doença crônico-degenerativa que atinge o sistema nervoso central, notadamente hipocampo, lobos parietais e fronto-temporais, manifestando-se predominantemente pela perda de memória para fatos recentes em sua fase inicial, progredindo para atingir outras funções cognitivas como a linguagem e as funções executivas, comprometendo atividades sociais e funcionais do indivíduo (Apa, 1994).

Observa-se na prática clínica, idosos com perdas cognitivas diferentes das esperadas no envelhecimento normal e que tampouco preenchem critérios para demência. Este grupo compõe uma categoria nosológica distinta, denominada

Transtorno Cognitivo Leve (TCL). Alguns estudiosos entendem o TCL como um estágio intermediário entre o envelhecimento normal e a demência (Hamdan e Bueno, 2005). Embora haja subclassificações para essa entidade, percebe-se um maior risco de desenvolver DA no perfil em que a característica principal é o comprometimento da memória episódica, sem outros déficits cognitivos e funcionais (Petersen, Stevens *et al.*, 2001).

## **1.2 Avaliação neuropsicológica no idoso**

Apesar de existirem marcadores genéticos e clínicos relacionados à DA, o estabelecimento desse diagnóstico é complexo, necessitando em muitos casos da avaliação neuropsicológica como exame complementar. Nesse contexto, essa avaliação é amplamente utilizada para diferenciar o desempenho cognitivo relacionado à senescência, ao TCL e à demência.

A avaliação neuropsicológica é composta por testes, em geral psicométricos, que induzem o examinado a perfazer tarefas que requerem uso de funções cognitivas específicas. A interpretação dos resultados pode ocorrer por intermédio de análise quantitativa e qualitativa, neste último caso, avaliando a execução nos testes (Gil e Busse, 2009). É útil para mensurar o desempenho cognitivo global, pontuar as funções que podem estar em déficit e preservadas e identificar, quando houver, um perfil coerente com determinadas desordens neurológicas.

### 1.2.1 Escalas e testes neuropsicológicos

Existem vários testes amplamente utilizados para mensuração de desempenho cognitivo. A sua escolha deve considerar a familiaridade do investigador com o instrumento de aferição, o objetivo a ser alcançado e características do indivíduo, como idade, gênero, escolaridade e possíveis déficits sensoriais (Schlindwein-Zanini., 2010).

Na população idosa, é frequente a utilização de testes que incluam as funções cognitivas comumente alteradas pelos processos neurodegenerativos inerentes à faixa etária, a exemplo da Escala Wechsler de Memória, do Teste de Dígitos da Bateria WAIS-III e da Torre de Hanói, entre outros. De igual importância, há instrumentos para rastreio de sintomas depressivos, como a Escala de Depressão Geriátrica (EDG).

Uma vez que, neste grupo, queixas e déficits cognitivos podem estar associados a alterações de humor, a EDG (Yesavage, Brink *et al.*, 1982) constitui bom instrumento para rastreio de sintomas depressivos. A versão original é composta de 30 itens. Na

população brasileira, há versão simplificada validada com 15 itens (Paradela, Lourenço *et al.*, 2005), que preserva a especificidade e a sensibilidade do teste (Leshner e Berryhill, 1994). Os escores obtidos são categorizados da seguinte forma: ausência de sintomas depressivos (< 5 pontos); depressão leve (5 a 10 pontos); e depressão grave (> 10 pontos) (Almeida e Almeida, 1999; Paradela, Lourenço *et al.*, 2005) (ANEXO E).

O Mini-Exame do Estado Mental – MEEM (*Mini-mental State Examination*) (Folstein, Folstein *et al.*, 1975) constitui instrumento de rastreio breve que tem como objetivo mensurar o desempenho cognitivo global do paciente. Avalia-se orientação de tempo e espaço, memória de curto e longo prazos, cálculo aritmético, praxia e linguagem. A escala varia de 0 a 30 pontos. No trabalho original, escores inferiores a 24 pontos foram considerados sugestivos de algum comprometimento cognitivo. Este teste é amplamente utilizado em função do curto tempo de aplicação e da satisfatória sensibilidade para detectar alterações cognitivas indicativas de demência (ANEXO F).

Conforme mencionado anteriormente, há situações em que se torna necessária uma avaliação com instrumentos que permitam mensurar o desempenho de funções cognitivas específicas. No contexto clínico, esta demanda normalmente justifica-se para se estabelecer o diagnóstico diferencial das demências, assim como para discernir o envelhecimento normal do envelhecimento patológico. Nas pesquisas, ferramentas para dimensões precisas da cognição auxiliam na mensuração dos efeitos de variáveis e intervenções sobre o desempenho cognitivo, com vistas à identificação de fatores causais de declínio e/ou estratificação de riscos associados. Em ambas situações, a escolha dos instrumentos é parte fundamental do processo avaliativo, e diante de amplo repertório, existem testes que são reconhecidos por sua adequada sensibilidade e capacidade de avaliar as funções cognitivas em contexto de diferenças individuais e sociais.

O Teste Pares Associados da Escala Wechsler de Memória (Wechsler, 1997b) é parte integrante de uma bateria de testes que avalia a memória visual e auditiva (Strauss, Sherman *et al.*, 2006). Este teste possui sensibilidade para avaliar memória auditiva imediata, capacidade de codificação, recordação de informações verbais e aprendizagem em níveis fundamentais, visto que não é necessário que o sujeito tenha a habilidade de compreensão de domínios léxicos/gramaticais preservada (Golden, Espe-Pfeifer *et al.*, 2000) (ANEXO G).

Na avaliação da capacidade de atenção sustentada e memória de trabalho por via auditivo-verbal, é frequente a utilização do Teste de Dígitos, ordem direta e inversa, da

Bateria Wechsler de Inteligência-III (Wechsler, 1997a) – validado no Brasil em indivíduos entre 16 e 89 anos (Nascimento e Figueiredo, 2002). A sensibilidade e a fácil compreensão do comando do teste por parte do examinando, independente da sua escolaridade, justificam o seu amplo uso em pesquisas e na clínica neuropsicológica (Strauss, Sherman *et al.*, 2006)(ANEXO H).

Na avaliação das funções executivas, o Teste Torre de Hanói (Sullivan, Riccio *et al.*, 2009) é vastamente utilizado em diferentes amostras (Batista, Adda *et al.*, 2007). Os comportamentos executivos são constituídos de várias subfunções, como capacidade de planejamento, resolução de problemas, tempo de reação, comportamento de auto-avaliação e memória operacional. Neste teste, é possível a avaliação de diversas subfunções dos comportamentos executivos, especialmente a capacidade de planejamento, controle inibitório e tempo de execução da tarefa, com diferentes níveis de dificuldade (Sullivan, Riccio *et al.*, 2009). Em estudo com idosos, observou-se relação entre estas variáveis e a idade (Ronnlund, Lovden *et al.*, 2001)(ANEXO I).

Conforme mencionado anteriormente, no idoso é frequente a queda na velocidade de processamento da informação em nível cerebral. O teste computadorizado de tempo de reação simples (TEVA) foi criado no intuito de avaliar, no contexto de pesquisa, a capacidade de atenção e o tempo de reação ao estímulo com precisão da medida em milissegundos (Córdova, Silva *et al.*, 2009). O experimentador pode configurar o programa segundo as seguintes variáveis: tempo total do teste (minutos), duração do estímulo ( $1 \times 10^{-3}$  segundos), tipo de alvo (letra ou figura geométrica), uso de teclado ou mouse para responder ao teste e intervalo de blocos (minutos). Durante a aplicação do teste, solicita-se ao sujeito que pressione a barra de espaço do teclado sempre que o alvo for apresentado no centro da tela e, paralelamente, iniba sua resposta para não-alvos (ANEXO K). Após a realização do teste, é possível verificar o percentual de acertos e erros, média das latências de respostas para alvos corretamente detectados e a média da proporção de falsos alarmes (Córdova, 2005) (ANEXO J). Embora computadorizado, este teste é útil para aferir tempo de reação em amostras com escolaridade heterogênea, em função de sua fácil aplicação e compreensão da tarefa pelo sujeito.

### **1.3 Apolipoproteína E e Cognição**

As habilidades cognitivas são produtos de fatores adquiridos e endógenos, neste

último caso com protagonismo dos determinantes genéticos, tendo os genes ora um papel principal, ora coadjuvante para uma expressão fenotípica (Greenwood e Parasuraman, 2003). Considerando o envelhecimento humano e as alterações cerebrais secundárias a este processo, o fator genético pode agir como determinante ou contribuinte na expressão de algumas patologias. Dentre inúmeros casos, podemos citar o gene da presenilina, presente no cromossomo 21, que está relacionado à DA pré-senil de forma autossômica dominante (Korenberg, Chen *et al.*, 1994).

No entanto, essa descoberta não abarca os casos de DA esporádicos e de início tardio que representam 85-90% dos casos. No início da década de 90, identificou-se uma associação entre a região do cromossomo 19 que determina a produção de apolipoproteína E (ApoE) e a DA (Saunders, Strittmatter *et al.*, 1993).

ApoE é uma glicoproteína presente no plasma humano, sintetizada no fígado e responsável pelo transporte de lipídeos através do plasma e outros fluidos corporais (Moraes, Lins *et al.*, 2012). É a apolipoproteína mais presente no sistema nervoso central, localizada no cromossomo 19, e das suas três isoformas principais ( $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$  e  $\epsilon 4$ ) há seis diferentes combinações genotípicas: ApoE  $\epsilon 2/\epsilon 2$ , ApoE  $\epsilon 3/\epsilon 3$ , ApoE  $\epsilon 4/\epsilon 4$ , ApoE  $\epsilon 2/\epsilon 3$ , ApoE  $\epsilon 3/\epsilon 4$ , e ApoE  $\epsilon 2/\epsilon 4$ .

Nos seres humanos, o cérebro é o segundo local em que a síntese de ApoE mais ocorre. Embora existam evidências sobre o seu papel específico na formação da placa amilóide e dos emaranhados neurofibrilares, bem como da associação destas formações histopatológicas à etiologia da DA, os mecanismos subjacentes ainda são pouco claros na literatura (Moraes, Lins *et al.*, 2012).

Atualmente, dentre os fatores de risco para DA, lista-se a idade (Raber, Huang *et al.*, 2004) e a presença do alelo  $\epsilon 4$  do gene para a ApoE como importantes fatores de risco para DA de início tardio. O alelo  $\epsilon 4$  é considerado o maior fator genético (Blom, Giedraitis *et al.*, 2009), aumentando em aproximadamente 3 vezes o risco para cada adição de alelo  $\epsilon 4$  (Corder, Saunders *et al.*, 1993). E, quando comparados a sujeitos com  $\epsilon 2/\epsilon 3$  ou  $\epsilon 3/\epsilon 3$ , sujeitos com o genótipo  $\epsilon 4/\epsilon 4$  seriam 8 vezes mais susceptíveis a desenvolver DA (Bookheimer e Burggren, 2009).

Observa-se, também, relação entre idade de início da doença e genótipo de ApoE em pacientes diagnosticados com DA: 50% dos carreadores de  $\epsilon 4$  tem em média 66 anos de idade; 50% dos  $\epsilon 3/\epsilon 4$  tem média de 73 anos de idade; e metade dos  $\epsilon 3/\epsilon 3$  tem 86 anos. Indivíduos não carreadores de  $\epsilon 4$  e carreadores de  $\epsilon 2$  tem uma idade de início de doença ainda mais tardia que os demais grupos (Raber, Huang *et al.*, 2004).



Embora estes marcadores sejam amplamente estudados, questiona-se no contexto clínico quando e como esta alteração genotípica se manifesta fenotipicamente na cognição humana. Há estudos que defendem a hipótese do antagonismo pleitrópico, ou seja, na juventude haveria melhores desempenhos na cognição de indivíduos portadores de ApoE  $\epsilon$ 4 em relação aos não carreadores, enquanto na velhice, esta dinâmica se inverteria (Tuminello e Han, 2011).

Há também outros estudos que associam a presença do ~~alelo~~ alelo um pior desempenho na cognição humana independente da idade cronológica; enquanto outra abordagem entende a presença deste alelo como fator de risco para DA e maior velocidade de perda cognitiva a partir do diagnóstico, ou seja, a expressão deste genótipo aconteceria apenas no contexto da doença (Bunce, Anstey *et al.*, 2011). A aparente contradição presente na literatura poderia ser justificada por discordâncias entre os estudos em aspectos como desenho experimental, métodos de recrutamento, procedimento para diagnóstico, co-variáveis consideradas, entre outros.

Marcadores biológicos ou aspectos clínicos que permitam um diagnóstico precoce da DA tem sido objeto de estudos (Bertram, Lange *et al.*, 2008). Os marcadores genéticos encontram-se nesse campo como um possível caminho para compreensão do envelhecimento cerebral e de síndromes complexas associadas a esta etapa da vida, como DA.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 – Principal**

Investigar a associação de variantes alélicas do gene da ApoE com o perfil cognitivo de idosos sem comprometimento cognitivo aparente.

### **2.2 – Secundário**

Identificar fatores que interferem no desempenho dos testes cognitivos em idosos sem comprometimento cognitivo aparente.

### **3. MANUSCRITO**

## **AUSÊNCIA DE ASSOCIAÇÃO ENTRE GENÓTIPO DE APOE E DESEMPENHO COGNITIVO EM IDOSOS NÃO-DEMENTES**

**Artigo submetido ao periódico *Neuroscience Letters***  
(Artigo original em inglês consta dos ANEXOS)

**Comprovante de Recebimento pelo periódico *Neuroscience Letters***

Manuscript number assigned

Page 1 of 1

Data: 07-06-2012 [09:48:57]  
De: Neuroscience Letters <nsl@elsevier.com>  
Para: einstein@unb.br  
Assunto: Manuscript number assigned

Dear Dr. Camargos,

Your submission entitled "A lack of correlation between ApoE genotypes and cognitive performance in the non-demented elderly" has been assigned the following manuscript number: NSL-12-1038.

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to the Elsevier Editorial System as an author:

<http://ees.elsevier.com/nsl/>

Your username is: Einstein

If you need to retrieve password details, please go to:

[http://ees.elsevier.com/nsl/automail\\_query.asp](http://ees.elsevier.com/nsl/automail_query.asp).

For guidelines on how to track your manuscript in EES please go the following address:

[http://support.elsevier.com/app/answers/detail/a\\_id/89](http://support.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/89)

Thank you for submitting your work to Neuroscience Letters.

Kind regards,

D. Jones  
Administrative Support Agent [30-Mar-11]  
Neuroscience Letters

## 1. Introdução

O envelhecimento populacional proporciona um aumento na prevalência de doenças neurodegenerativas, sobretudo demências. Entre as diferentes formas, a Doença de Alzheimer (DA) consiste na mais frequente, com aumento significativo em sua prevalência em décadas recentes. DA consiste em um comprometimento cognitivo e comportamental com intensidade suficiente para interferir nas atividades de vida diária e qualidade de vida, caracterizada pelo déficit da memória associado ao déficit em ao menos outra função cognitiva, tais como funções executivas, linguagem e atenção, excluídas outras etiologias demenciais [3].

Marcadores ou aspectos que permitam um diagnóstico precoce da DA tem sido objeto de estudos e nesse campo destacam-se os marcadores genéticos [4]. Sabe-se que o alelo épsilon 4 ( $\epsilon 4$ ) do gene para a apolipoproteína E (ApoE) constitui o principal fator genético de risco para DA [5] e tem possível participação também em outras desordens neurológicas[28].

ApoE consiste na apolipoproteína presente em maior quantidade no sistema nervoso central (SNC), sendo o cérebro o segundo local em que sua síntese mais ocorre no organismo humano. Suas variantes alélicas no cromossomo 19 apresentam-se em três isoformas principais ( $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$  e  $\epsilon 4$ ) e seis combinações genotípicas diferentes: três homozigóticas ( $\epsilon 2/\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 3$ ,  $\epsilon 4/\epsilon 4$ ) e três heterozigóticas ( $\epsilon 2/\epsilon 3$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 4$ ,  $\epsilon 2/\epsilon 4$ ).

Embora existam evidências sobre o papel específico da ApoE na formação da placa amilóide e dos emaranhados neurofibrilares, bem como da associação destas formações histopatológicas à etiologia da DA, os mecanismos subjacentes ainda são pouco claros na literatura [18]. No contexto clínico, questiona-se quando e como uma variante genotípica manifesta-se fenotipicamente na cognição humana. Neste sentido, há evidências de que o alelo  $\epsilon 4$  interfere no desempenho da cognição humana independentemente da idade cronológica [24] e de sinais ou sintomas compatíveis com quadro demencial [7]. Outra vertente entende a presença do alelo como fator de risco para DA e maior velocidade de perda cognitiva a partir do diagnóstico, em uma contribuição alelo-específica ao advento e evolução da doença [6].

Pesquisas em idosos não dementes buscam identificar declínio no desempenho cognitivo que possam ser associados a uma contribuição pelo genótipo existente. Neste sentido, este trabalho almeja investigar a associação de variantes alélicas do gene da

ApoE com o desempenho cognitivo de idosos sem comprometimento cognitivo aparente.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Desenho do estudo e pacientes**

Estudo analítico transversal com amostra de conveniência constituída por sujeitos idosos (idade  $\geq$  60 anos) não dementes admitidos entre Agosto de 2009 e dezembro de 2010 em dois programas de promoção à saúde em dois ambulatórios de geriatria geral, vinculados à Universidade, geograficamente próximos e constituídos de indivíduos com semelhantes características sócio-demográficas, do Distrito Federal, Brasil. Os prontuários médicos foram utilizados como fontes de informações preliminares. Indivíduos com sinais ou sintomas para transtornos psiquiátricos (esquizofrenia, desordens esquizoafetivas, transtornos delirantes ou do humor, delirium ou agitação intensa), para síndromes neurodegenerativas e demências, tais como Alzheimer, Vascular, Frontotemporal, Lewy; ou para doenças/injúrias cerebrais importantes (infartos isquêmicos, hematoma subdural, hemorragia, trauma ou outras) foram excluídos, conforme preconizado pelos critérios do DSM IV [3]. Além dos critérios acima, considerou-se como critério de inclusão está em acompanhamento clínico regular no período mínimo de 1 ano após admissão no serviço, de modo que neste período não tenha sido evidenciada perda cognitiva. Todas as avaliações clínicas foram executadas por dois clínicos geriatras com vasta experiência.

### **2.2. Análise Genética**

DNA genômico total de cada sujeito foi obtido conforme procedimentos laboratoriais de rotina. Genótipos para os alelos clássicos da ApoE ( $\epsilon$ 2,  $\epsilon$ 3,  $\epsilon$ 4) foram determinados conforme método desenvolvido por Donohoe e colaboradores [10], executado com modificações [19].

### **2.3. Procedimentos**

#### **2.3.1 Entrevistas**

Pacientes não portadores de transtornos psiquiátricos, demência ou outras injúrias foram convidados para entrevista estruturada que objetivou a obtenção da

caracterização sócio-demográfica e clínica de cada sujeito, pelo levantamento de informações como identificação, gênero, data de nascimento, escolaridade, estado civil e fármacos utilizados, entre outras. Neste momento, distúrbios como déficits sensoriais importantes (visual e/ou auditivo), distúrbio do sono não tratado e outras condições ativas que pudessem interferir no bom estado global de saúde do paciente (câncer, epilepsia, imobilidade entre outros) identificados pela equipe clínica também foram considerados critérios de exclusão. Usuários de medicações que pudessem interferir na cognição também foram controlados no estudo, considerando-se como usuários qualquer caso de utilização de fármacos depressores do SNC (antipsicóticos, antidepressivos tricíclicos, benzodiazepínicos, anticonvulsivantes e/ou indutores do sono) mediante posologia prescrita e estável por período mínimo de quatro semanas anteriores à entrevista inicial. O presente estudo obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (CEP-FM # 016/2009), e todos os pacientes assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

### **2.3.2. Testes Neuropsicológicos**

Após entrevista inicial, aplicou-se a Escala de Depressão Geriátrica (EDG) [27] e o Mini-Exame do Estado Mental (*Mini-mental State Examination* - MMSE) [11]. A bateria cognitiva administrada aos participantes compreendeu diversos domínios cognitivos incluindo memória episódica de curto e longo prazos, velocidade de processamento, atenção e funções executivas. Incluiu o *Teste Pares Associados I* (MCP) e *Teste Pares Associados II* (MLP) da Escala Wechsler de Memória [26], o *Teste de Dígitos ordem direta* (DDireto) e *inversa* (DInverso) da Escala WAIS-III [25], o *Teste de Tempo de Reação Simples* (TEVA: TR – Tempo de reação; xpFA - proporção de falsos alarmes; % Acertos) [9] e o *Torre de Hanói* [23]. Para o *Teste de Dígitos*, o somatório dos tempos de cada paciente obtidos em DDireto e DInverso também foi considerado como variável independente (DTotal). Para *Torre de Hanói*, trabalhou-se com dois discos para treino e três discos para teste [2], avaliando-se o registro do tempo total de execução da tarefa em segundos (HanoiT), número de erros (HanoiE) e de movimentos corretos (HanoiM). Todos os testes neuropsicológicos foram aplicados pelo mesmo examinador.

## 2.4- Análise Estatística

Os dados obtidos na da entrevista foram tratados por intermédio da análise de variância (ANOVA) para aquelas variáveis que apresentaram distribuição gaussiana e variância constante em cada genótipo. Caso contrário, o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis foi empregado. Para análise das variáveis qualitativas, utilizou-se o teste de qui-quadrado. Comparações dos valores médios entre os genótipos ( $\epsilon_2/\epsilon_3$ ,  $\epsilon_3/\epsilon_3$  e  $\epsilon_3/\epsilon_4 + \epsilon_4/\epsilon_4$ ) para diversos testes cognitivos foram testadas com o uso do modelo de análise de covariância (ANCOVA). Considerou-se como co-variáveis medidas sócio-demográficas (sexo, idade, escolaridade e estado civil), sintomas depressivos e uso de drogas depressoras do SNC. Para as variáveis em que a distribuição dos erros gerados pela análise de variância não apresentava distribuição gaussiana com variância constante, uma transformação logarítmica neperiana foi empregada. Ajustamento de Tukey foi empregado para se ajustar comparações múltiplas.

Utilizou-se um modelo de regressão linear múltiplo para se verificar o efeito de variáveis sócio-demográficas, grau de depressão, sintomas depressivos e uso de drogas depressoras sobre os testes cognitivos. Considerou-se um modelo com onze variáveis preditoras sobre os testes cognitivos: idade, escolaridade, gênero, estado civil, sintomas depressivos ou não, assim como uso ou não das classes de medicamentos benzodiazepínicos, antipsicóticos, antidepressivos, antidepressivos tricíclicos, anticonvulsivantes, e outros (anti-hipertensivos, hipoglicemiantes, hipolipemiantes, bisfosfonados, etc., sem interferência direta no SNC). Verificou-se que para uma amostra de 213 pacientes, um nível de significância de 5 % e um tamanho de efeito entre 0,10 e 0,64, o poder do teste mostrou-se superior a 85%. Os dados foram analisados por meio do programa SAS 9.2 para Windows.

## 3. Resultados

A partir de uma amostra de 398 casos elegíveis e cognitivamente preservados, estes pacientes foram convidados para uma entrevista clínica entre Julho e Dezembro de 2011. Destes, 05 foram excluídos em função de déficits auditivo e/ou visual importantes e 13 por doença ativa que compromettesse o bom estado geral de saúde do paciente (e.g.: câncer, epilepsia, imobilidade). Ademais, 13 faleceram antes da entrevista inicial, enquanto 147 apresentaram recusa ou impossibilidade em continuar no estudo. Houve perda dos dados coletados de um paciente. Dessa forma, a amostra final foi constituída



de 213 indivíduos. Os valores médios e proporções de variáveis sociodemográficas encontradas na amostra final não apresentam diferenças significativas entre os três grupos de genótipos analisados (Tabela 1).

Após exclusões, obtiveram-se as seguintes frequências genotípicas:  $\epsilon 2/\epsilon 2$  (n = 0; 0%),  $\epsilon 2/\epsilon 3$  (n = 15; 6,8%),  $\epsilon 2/\epsilon 4$  (n = 6; 2,7%),  $\epsilon 3/\epsilon 3$  (n = 159; 72,6%),  $\epsilon 3/\epsilon 4$  (n = 34; 15,6%), e  $\epsilon 4/\epsilon 4$  (n = 5; 2,3%). Como há evidência epidemiológica e experimental que o alelo ApoE  $\epsilon 2$  desempenha um papel na preservação da função cognitiva [8], os indivíduos com genótipo  $\epsilon 2\epsilon 4$  foram excluídos da análise por causa dos efeitos supostamente opostos desses alelos na cognição. Para as análises inferenciais, foram compostos grupos genotípicos voltados a evidenciar discrepâncias entre portadores dos diferentes alelos, a saber: portadores de  $\epsilon 2$  ( $\epsilon 2\epsilon 3$ ), homocigotos  $\epsilon 3$  ( $\epsilon 3\epsilon 3$ ), e portadores de  $\epsilon 4$  ( $\epsilon 4/\epsilon 4 + \epsilon 3/\epsilon 4$ ). O desempenho médio nos diversos testes cognitivos aplicados não diferiu estatisticamente entre os três grupos de genótipos considerados (Tabela 2). Não houve influência estatisticamente significativa das co-variáveis idade, gênero, estado civil, nível de escolaridade, sintomas depressivos ou das classes de drogas depressoras do SNC em uso sobre o modelo quando as análises foram controladas para estes aspectos.

#### 4. Discussão

Este estudo não identificou associação dos genótipos de ApoE com desempenho diferencial em bateria de testes neuropsicológicos (MMSE, MCP, MLP, Ddireto, Dinverso, DTotal, Torre de Hanói e TEVA) de sujeitos idosos clinicamente reconhecidos com funções cognitivas preservadas. A investigação do desempenho em testes cognitivos entre idosos requer procedimentos criteriosos que certifiquem a integridade cognitiva destes pacientes, de modo a excluir casos de declínio cognitivo leve e de possível fase pré-clínica de DA. Nossa amostra foi constituída mediante rigorosos critérios de seleção, com acompanhamento clínico de forma regular, assegurando a exclusão de doenças e variáveis que pudessem interferir na cognição como possíveis casos subclínicos e iniciais de DA. Não obstante os critérios de inclusão e exclusão aplicados nesta pesquisa, o rigor metodológico na aplicação dos testes, e o controle de variáveis confundidoras como escolaridade, idade, sintomas depressivos e uso de fármacos não foram observados ajustes que rendessem significância às diferenças observadas entre portadores e não portadores de determinada forma alélica

de ApoE. O modelo de regressão linear múltipla apontou que a ausência de diferenças significativas não pode ser atribuída ao poder do teste, que variou entre 0,86 e 1,00 para todas as variáveis estudadas.

Não há consenso na literatura a respeito da possível associação entre genótipos de ApoE e desempenho cognitivo em indivíduos não-dementes. Apesar da contribuição etiológica de  $\epsilon 4$  para a DA, há indivíduos que desenvolvem a doença na ausência desse genótipo, bem como existem portadores que não desenvolvem demência, o que posiciona outros elementos genômicos ou uma ampla arquitetura alélica no centro da etiologia genética do distúrbio. Ademais, uma observação não respaldada inteiramente por conceitos Mendelianos sugere que metade dos indivíduos com parentesco em primeiro grau com a doença desenvolverá a doença até a nona década de vida [21].

Do ponto de vista histopatológico, as concepções vigentes sobre o papel da ApoE no cérebro humano dão conta de um favorecimento da deposição de placas beta-amilóides [20], de maior estimulação na fosforilação da proteína Tau [14] e de reparação neuronal deficitária entre portadores de  $\epsilon 4$  quando comparado a não-portadores [17]. Não obstante estas alterações histopatológicas, cabe ainda comentar que nem sempre estas alterações implicam demência estabelecida, o que suscita discussão acerca da existência de um fenótipo absoluto associado ao alelo [12] ou da possibilidade de um evento gatilho para os processos patológicos a ele relacionados [17]. Embora haja diferenças entre esses referenciais teóricos, ambos sinalizam um aspecto teórico em comum: a marcante contribuição do alelo a partir do momento em que os mecanismos de reparação/compensação tornam-se deficitários e prejuízos à cognição humana tornam-se aparentes. Há estudos que observam a contribuição do alelo  $\epsilon 4$  para o curso clínico do transtorno cognitivo leve [1], com conversão para a DA mais frequente entre os portadores do alelo quando comparados a não portadores [16].

Nossos achados corroboram os de Bunce et al., que não atribuem ao alelo  $\epsilon 4$  possíveis diferenças na performance cognitiva em diferentes estágios da vida [6]. Achados como este reforçam a idéia de que a presença per se do alelo  $\epsilon 4$  não determina fenótipos sub-clínicos em um contexto de não-demência, podendo as alterações cognitivas leves serem entendidas como sintomas de estágios subclínicos inerentes à heterogeneidade de uma entidade complexa como a demência de Alzheimer, para quem concorre a expressão fenotípica do alelo  $\epsilon 4$ .

A respeito da sensibilidade dos testes escolhidos, trabalhou-se com instrumentos reconhecidamente utilizados para avaliação de funções cognitivas específicas, diferentemente de amplas baterias que objetivam o desempenho cognitivo global e os mecanismos de compensação em detrimento do funcionamento específico de cada função [22]. Apesar do controle das variáveis preditoras, a seleção destes instrumentos também ponderou a capacidade de compreensão e execução da tarefa independente da idade e escolaridade dos indivíduos. O perfil neuropsicológico ou predominante em indivíduos com transtorno cognitivo leve [13] e DA inicial [15] também foi considerado na escolha dos testes.

Algumas considerações relativas ao presente estudo devem ser apontadas. De início, cabe reiterar que o desenho transversal do estudo demonstra-se pouco adequado para revelar relações diretas de causalidade, e que trabalhos futuros deverão considerar um delineamento longitudinal com intenção de manter uma avaliação cognitiva sistemática em grupo de idosos não-dementes, carreadores ou não  $\epsilon 4$ . Ademais, em função da frequência naturalmente reduzida de indivíduos  $\epsilon 4/\epsilon 4$  na população mundial, não foi possível compor uma casuística exclusiva com este genótipo. Neste sentido, não foi possível testar a possibilidade de o alelo expressar um efeito dose-dependente.

## **5. Conclusão**

Em suma, nosso estudo não identificou associação entre o genótipo de ApoE e desempenho cognitivo em idosos não dementes. Nossos achados corroboram a hipótese que o alelo  $\epsilon 4$  não promove desordem cognitiva detectável em contexto de não-demência.

## **Agradecimentos**

Essa pesquisa teve apoio financeiro da FAPDF (193.000.449-2008), Finatec/UnB (5563/2009) e DPP/UnB (UnBDoc 121696/2011) para O.T. Nóbrega.

## 6. Referências Bibliográficas

- [1] N.T. Aggarwal, R.S. Wilson, T.L. Beck, J.L. Bienias, D.A. Bennett, Mild cognitive impairment in different functional domains and incident Alzheimer's disease, *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 76 (2005) 1479-1484.
- [2] J. Ahonniska, T. Ahonen, T. Aro, A. Tolvanen, H. Lyytinen, Repeated assessment of the Tower of Hanoi test: reliability and age effects, *Assessment* 7 (2000) 297-310.
- [3] APA, Diagnostic and statistical manual of mental disorders, American Psychiatric Association, Washington, DC, 1994, xxvii, 886 p. pp.
- [4] L. Bertram, C. Lange, K. Mullin, M. Parkinson, M. Hsiao, M.F. Hogan, B.M. Schjeide, B. Hooli, J. Divito, I. Ionita, H. Jiang, N. Laird, T. Moscarillo, K.L. Ohlsen, K. Elliott, X. Wang, D. Hu-Lince, M. Ryder, A. Murphy, S.L. Wagner, D. Blacker, K.D. Becker, R.E. Tanzi, Genome-wide association analysis reveals putative Alzheimer's disease susceptibility loci in addition to APOE, *Am J Hum Genet* 83 (2008) 623-632.
- [5] S. Bookheimer, A. Burggren, APOE-4 genotype and neurophysiological vulnerability to Alzheimer's and cognitive aging, *Annu Rev Clin Psychol* 5 (2009) 343-362.
- [6] D. Bunce, K.J. Anstey, R. Burns, H. Christensen, S. Easteal, Does possession of apolipoprotein E varepsilon4 benefit cognitive function in healthy young adults?, *Neuropsychologia* 49 (2011) 1693-1697.
- [7] R.J. Caselli, E.M. Reiman, D.E. Locke, M.L. Hutton, J.G. Hentz, C. Hoffman-Snyder, B.K. Woodruff, G.E. Alexander, D. Osborne, Cognitive domain decline in healthy apolipoprotein E epsilon4 homozygotes before the diagnosis of mild cognitive impairment, *Arch Neurol* 64 (2007) 1306-1311.
- [8] E.H. Corder, L. Lannfelt, N. Bogdanovic, L. Fratiglioni, H. Mori, The role of APOE polymorphisms in late-onset dementias, *Cell Mol Life Sci* 54 (1998) 928-934.
- [9] C. Córdova, Programa Computadorizado para Registro e Processamento da Atenção Visual em Investigações com Retardados Mentais Leves., *Lecturas Educación Física y Deportes* 10 (2005) 5.

- [10] G.G. Donohoe, A. Salomaki, T. Lehtimaki, K. Pulkki, V. Kairisto, Rapid identification of apolipoprotein E genotypes by multiplex amplification refractory mutation system PCR and capillary gel electrophoresis, *Clin Chem* 45 (1999) 143-146.
- [11] M.F. Folstein, S.E. Folstein, P.R. McHugh, "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician, *J Psychiatr Res* 12 (1975) 189-198.
- [12] P.M. Greenwood, R. Parasuraman, Normal genetic variation, cognition, and aging, *Behav Cogn Neurosci Rev* 2 (2003) 278-306.
- [13] A.C. Hamdan, O.F.A. Bueno, Relações entre controle executivo e memória episódica verbal no comprometimento cognitivo leve e na demência tipo Alzheimer, *Estudos de Psicologia (Natal)* 10 (2005) 63-71.
- [14] Y. Huang, K.H. Weisgraber, L. Mucke, R.W. Mahley, Apolipoprotein E: diversity of cellular origins, structural and biophysical properties, and effects in Alzheimer's disease, *J Mol Neurosci* 23 (2004) 189-204.
- [15] A.F. Jorm, K.A. Mather, P. Butterworth, K.J. Anstey, H. Christensen, S. Easteal, APOE genotype and cognitive functioning in a large age-stratified population sample, *Neuropsychology* 21 (2007) 1-8.
- [16] A. Kluger, S.H. Ferris, J. Golomb, M.S. Mittelman, B. Reisberg, Neuropsychological prediction of decline to dementia in nondemented elderly, *J Geriatr Psychiatry Neurol* 12 (1999) 168-179.
- [17] S.M. Laws, E. Hone, S. Gandy, R.N. Martins, Expanding the association between the APOE gene and the risk of Alzheimer's disease: possible roles for APOE promoter polymorphisms and alterations in APOE transcription, *Journal of Neurochemistry* 84 (2003) 1215-1236.
- [18] C.F. Moraes, T.C. Lins, E.F. Carmargos, J.O.S. Naves, R.W. Pereira, O.T. Nóbrega, Lessons from genome-wide association studies findings in Alzheimer's disease, *Psychogeriatrics* 12 (2012) 62-73.
- [19] R.S. Paula, V.C. Souza, A.L. Benedet, E.R. Souza, J.O. Toledo, C.F. Moraes, L. Gomes, C.S. Alho, C. Cordova, O.T. Nobrega, Dietary fat and apolipoprotein genotypes modulate plasma lipoprotein levels in Brazilian elderly women, *Mol Cell Biochem* 337 (2010) 307-315.
- [20] J. Raber, Y. Huang, J.W. Ashford, ApoE genotype accounts for the vast majority of AD risk and AD pathology, *Neurobiol Aging* 25 (2004) 641-650.

- [21] G.W. Small, P.V. Rabins, P.P. Barry, N.S. Buckholtz, S.T. DeKosky, S.H. Ferris, S.I. Finkel, L.P. Gwyther, Z.S. Khachaturian, B.D. Lebowitz, T.D. McRae, J.C. Morris, F. Oakley, L.S. Schneider, J.E. Streim, T. Sunderland, L.A. Teri, L.E. Tune, Diagnosis and treatment of Alzheimer disease and related disorders. Consensus statement of the American Association for Geriatric Psychiatry, the Alzheimer's Association, and the American Geriatrics Society, *JAMA* 278 (1997) 1363-1371.
- [22] E. Strauss, E.M.S. Sherman, O. Spreen, A compendium of neuropsychological tests : administration, norms, and commentary, Oxford University Press, New York, 2006, xvii, 1216 p. pp.
- [23] J.R. Sullivan, C.A. Riccio, C.L. Castillo, Concurrent validity of the tower tasks as measures of executive function in adults: a meta-analysis, *Appl Neuropsychol* 16 (2009) 62-75.
- [24] E.R. Tuminello, S.D. Han, The apolipoprotein e antagonistic pleiotropy hypothesis: review and recommendations, *Int J Alzheimers Dis* 2011 (2011) 726197.
- [25] D. Wechsler, WAIS-III Wechsler adult intelligence scale. Psychological Corporation, San Antonio, Tex., 1997, p. Manual.
- [26] D. Wechsler, WMS-III Administration and Scoring Manual, The Psychological Corporation, SanAntonio, Tex., 1997.
- [27] J.A. Yesavage, T.L. Brink, T.L. Rose, O. Lum, V. Huang, M. Adey, V.O. Leirer, Development and validation of a geriatric depression screening scale: a preliminary report, *J Psychiatr Res* 17 (1982) 37-49.
- [28] A.G. Yip, A.C. McKee, R.C. Green, J. Wells, H. Young, L.A. Cupples, L.A. Farrer, APOE, vascular pathology, and the AD brain, *Neurology* 65 (2005) 259-265.

Tabela 01: Comparação das variáveis contínuas (média±desvio padrão) e categóricas (números absolutos (proporção)) entre os três grupos de genótipos de ApoE.

Variáveis	Grupos			<i>p</i>
	$\epsilon 2/\epsilon 3$ (n=15)	$\epsilon 3/\epsilon 3$ (n=159)	$\epsilon 4/\epsilon 4 + \epsilon 3/\epsilon 4$ (n=39)	
Idade (anos)	74,5 ± 6,7	72,7 ± 6,1	73,5 ± 6,1	0,780
Escolaridade (anos)	5,0 ± 5,1	6,0 ± 4,7	5,1 ± 4,4	0,343*
Gênero (feminino)	14 (93,3)	142 (89,3)	31 (79,5)	0,194
Estado Civil				
casado	7 (46,7)	62 (39,0)	17 (43,6)	0,858
viúvo	4 (26,7)	62 (39,0)	16 (41,0)	
Sintomas depressivos (presença)	4 (26,7)	40 (25,2)	13 (33,3)	0,896
Uso de Benzodiazepínico	2 (13,3)	12 (7,5)	5 (12,8)	0,482
Uso de Antipsicótico	0 (0,0)	01 (0,6)	0 (0,0)	0,843
Uso de Antidepressivo	1 (6,7)	22 (13,8)	9 (23,1)	0,226
Uso de Antidepressivo tricíclicos	1 (6,7)	7 (4,4)	1 (2,6)	0,779
Uso de Anticonvulsivante	0 (0,0)	6 (3,8)	1 (2,6)	0,707
Uso de outras drogas	14 (93,3)	142 (89,3)	32 (82,0)	0,369

Proporções expressas dentro de cada grupo de genótipo. Valores de *p* para análises categóricas obtidos pelo teste do qui-quadrado e ANOVA para dados contínuos. \*Significância verificada com o teste de Kruskal-Wallis.

Tabela 02: Comparação entre os grupos de genótipos nos diversos testes cognitivos.

Testes	Grupos*			Comparação entre grupos†	<i>p</i>		
	$\epsilon 3/\epsilon 3$ ( <i>n</i> = 159)	$\epsilon 4/\epsilon 4 + \epsilon 3/\epsilon 4$ ( <i>n</i> = 39)	$\epsilon 2/\epsilon 3$ ( <i>n</i> = 15)		$\epsilon 3/\epsilon 3$ vs $\epsilon 4/\epsilon 4 +$ $\epsilon 3/\epsilon 4$ §	$\epsilon 3/\epsilon 3$ vs $\epsilon 2/\epsilon 3$ §	$\epsilon 4/\epsilon 4 +$ $\epsilon 3/\epsilon 4$ vs $\epsilon 2/\epsilon 3$ §
<b>MMSE</b>	25,9±2,7	25,5±3,1	24,5±2,7	0,273	0,999	0,247	0,331
<b>MCP</b>	11,6±4,1	11,3±3,6	11,1±3,0	0,866	0,948	0,917	0,855
<b>MLP</b>	4,6±1,7	4,5±1,4	4,5±1,2	0,991	0,999	0,993	0,991
<b>DDireto</b>	6,0±1,8	5,5±1,4	5,3±1,6	0,146	0,253	0,367	0,966
<b>DInverso</b>	3,7±1,8	3,4±1,6	3,1±1,6	0,736	0,981	0,716	0,834
<b>DTotal</b>	9,7±3,1	8,9±2,6	8,5±2,7	0,284	0,526	0,401	0,873
<b>HanoiT‡</b>	104,9±68,5	95,8±65,6	118,9±53,1	0,200	0,405	0,520	0,198
<b>HanoiM‡</b>	13,7±6,1	13,1±5,6	16,4±5,1	0,097	0,598	0,169	0,079
<b>HanoiE‡</b>	1,5±1,2	1,2±1,0	1,7±1,3	0,082	0,067	0,998	0,372
<b>TR</b>	482,7±85,7	470,1±56,7	460,1±65,5	0,217	0,469	0,321	0,835
<b>% Acertos</b>	93,5±12,7	96,3±8,0	91,7±11,2	0,279	0,257	0,998	0,577
<b>xpFA‡</b>	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,1	0,167	0,991	0,154	0,163

\* Média ± desvio padrão; † Teste F - *p*-valores foram calculados com o uso de ANCOVA, ajustadas por medidas sócio-demográficas, grau de depressão e uso de drogas depressoras; § *p*-valores entre grupos foram calculados com o uso de ANCOVA ajustadas por medidas sócio-demográficas, grau de depressão e uso de drogas depressoras. Múltiplas comparações foram ajustadas por Tukey; ‡ a transformação logarítmica neperiana foi empregada.



## **4. DISCUSSÃO COMPLEMENTAR**

O principal objetivo deste estudo consistiu em investigar a associação de variantes alélicas clássicas do gene para ApoE com o perfil cognitivo de idosos sem comprometimento cognitivo aparente residentes na comunidade atendidos em serviços especializados em geriatria no Distrito Federal. Este estudo, por sua vez, não identificou efeito dos genótipos de ApoE sobre a *performance* nos testes cognitivos aplicados (MEEM, Escala Wechsler-Pares Associados, Dígitos diretos e inversos, Torre de Hanói e TEVA) na amostra, apesar do rigor metodológico na aplicação dos testes, dos critérios para seleção dos pacientes e do controle de variáveis confundidoras, como escolaridade, idade, sintomas depressivos, uso de fármacos psicotrópicos e outros. Frente a essas considerações e diante dos resultados encontrados, alguns aspectos metodológicos e de resultado serão comentados a seguir.

### **4.1 Seleção da Amostra**

A amostra selecionada é formada por pacientes provenientes de dois centros médicos localizados em diferentes regiões do Distrito Federal: o Centro de Medicina do Idoso (CMI) e o Hospital da Universidade Católica de Brasília (HUCB). O CMI é um centro de atendimento geriátrico, integrante da estrutura organizativa do Hospital Universitário de Brasília (HUB/UnB), localizado região central da capital federal. O HUCB é um hospital universitário organizado em torno de determinadas especialidades clínicas, incluindo geriatria, e localiza-se na região administrativa de Taguatinga, Distrito Federal.

### **4.2 Caracterização da amostra**

A amostra foi de 213 indivíduos, com média de idade de 72,9 anos, maior frequência de mulheres (n = 187; 81,2%), maioria de casados (n = 86; 40,4%) e viúvos (n = 82; 38,5%) e média de anos de estudo de 5,7 anos.

O percentual de mulheres observado neste estudo está acima do observado na população idosa geral. Porém, é coerente com outros estudos que observam maior frequência de mulheres nos serviços de atendimento a pessoas idosas. Há autores que associam este elevado percentual a uma tendência maior das mulheres em participar de ações coletivas referentes à saúde, confirmando que a participação dos homens em grupos de idosos é consideravelmente menor que das mulheres (Trentini, Silva *et al.*,

2005). Outros estudos apontam o predomínio das mulheres em serviços de saúde e em grupos de apoio a idosos como um reflexo da predominância do sexo feminino na população idosa geral (Travassos, Viacava *et al.*, 2002).

Nossa amostra apresentou elevada frequência de uso de medicamentos, o que pode ser justificado pelo viés de seleção, uma vez que a amostra, em seu desenho por conveniência, foi constituída a partir de comparecimentos a dois serviços terciários de atenção à saúde. Ademais, elevado consumo de medicamentos é comum em estudos populacionais brasileiros nessa faixa etária (Bortolon, Medeiros *et al.*, 2008; Flores e Benvegnú, 2008).

Apesar de amostra de conveniência, a frequência de genótipos encontrada ( $\epsilon 3/\epsilon 3$ : 72,6%;  $\epsilon 3/\epsilon 4$ : 15,6%;  $\epsilon 2/\epsilon 3$ : 6,8%;  $\epsilon 2/\epsilon 2$ : 0%;  $\epsilon 2/\epsilon 4$ : 2,7% e  $\epsilon 4/\epsilon 4$ : 2,3%) coerente com a observada em estudos com diferentes grupos populacionais. O genótipo  $\epsilon 3/\epsilon 3$  constitui o mais comumente encontrado (50-70% da população), sendo o alelo  $\epsilon 3$  o mais observado na maioria das combinações desta apolipoproteína (70–80%). Os fenótipos dos alelos  $\epsilon 4$  e  $\epsilon 2$ , em diversos estudos, aparecem em proporções de 10 a 15% e de 5 a 10% da população, respectivamente (Huang, Weisgraber *et al.*, 2004). Resultados semelhantes foram observados em estudos brasileiros (Cacao, Souza *et al.*, 2007; Fuzikawa, Peixoto *et al.*, 2007). Comparando os grupos de genótipos, não houve diferenças estatisticamente significantes nas características sócio-demográficas e clínicas (Tabela 1). Isso reforça a homogeneidade da amostra.

#### **4.3 Variáveis com influência no desempenho cognitivo**

A avaliação da cognição humana é complexa e influenciada por diversos aspectos. Além dos instrumentos escolhidos para sua aferição, existem variáveis que influenciam diretamente na *performance* cognitiva, dentre as quais a idade (Damasceno, 1999), anos de estudo formal (Ardila, Ostrosky-Solis *et al.*, 2000; Brucki e Nitrini, 2008), uso de psicotrópicos (Loring, Marino *et al.*, 2011) e transtornos depressivos (Van Den Kommer, Comijs *et al.*, 2012).

A maioria dos testes não sofreu influência estatisticamente significativa quando controlados para gênero, estado civil, sintomas depressivos ou uso de drogas depressoras do SNC (benzodiazepínicos inclusive). No entanto, observou-se significativa interferência da escolaridade e idade sobre o desempenho nos testes cognitivos aplicados (Tabela 3).

A influência da escolaridade no desempenho no teste de rastreo MEEM é objeto de diversos estudos nacionais, com sugestão de mudança de ponto de corte para população brasileira (Brucki, 1996). Além deste resultado, observou-se alta correlação entre escores no MEEM e a escolaridade, com aumento de 1 ponto no valor obtido no teste para cada 4 anos de escolaridade ( $p < 0,0001$ ).

O desempenho do examinando nos testes de memória de curto prazo (MCP) e de longo prazo (MLP) também sofreu significativa influência da escolaridade (respectivamente,  $p = 0,0001$ ;  $p = 0,02$ ), no sentido de que quanto maior a escolaridade maior os valores obtidos no MCP e no MLP. Além disso, para cada aumento de 4 anos de estudo o valor do escore no teste MCP cresce em média 1 ponto. Associação semelhante foi observada em testes de dígitos (DDireto e DInverso), relacionados à atenção e flexibilidade cognitiva ( $p < 0,0001$ ). A baixa escolaridade influenciou negativamente o desempenho do examinando no teste de TEVA, aumentando significativamente o Tempo de Reação ( $p = 0,002$ ), a percentagem de erro ( $p = 0,01$ ) e as respostas incorretas (Xpfa;  $p = 0,01$ ). Estes escores estão relacionados à velocidade de processamento e a capacidades atencional e de tomada de decisão.

A associação direta entre escolaridade e desempenho nos testes cognitivos de memória e atenção também foi observada por diversos autores (Beeri, Schmeidler *et al.*, 2006). Em estudo brasileiro, Ribeiro e Yassuda observaram desempenho melhor em teste de memória de palavras e evocação tardia em grupo de idosos com maior escolaridade (Ribeiro, Oliveira *et al.*, 2010). Souza e colaboradores também observaram associação direta entre anos de estudo e desempenho em teste relacionado à tomada de decisão e velocidade de processamento; de modo que quanto menor a escolaridade, menor a velocidade de processamento e maior a dificuldade em realizar duas ou mais ações paralelamente (Souza, Ignácio *et al.*, 2001).

Nossos resultados podem reforçar a associação já apresentada em vasta literatura que entende a escolaridade como fator protetor contra o declínio cognitivo patológico (Guimarães, 2007) haja vista que atuaria como uma atividade que exercita diferentes funções cognitivas, tais como leitura, raciocínio, abstração e planejamento, acarretando uma reserva funcional de grande utilidade na velhice, possivelmente por fomentar maior conectividade entre diferentes áreas do cérebro (Abraham, 2006).

Em relação à idade, observamos associação inversa: quanto maior a idade, pior o desempenho do examinando em teste de desempenho cognitivo global, de memória de longo prazo e em teste de funções executivas. Após ajuste do modelo de regressão para

outras variáveis, observou-se correlação com o MEEM ( $p = 0,005$ ), no sentido de que quanto maior a idade, menores valores de MEEM são atingidos. Além disso, para cada aumento de uma década na idade, o valor do MEEM decai em média 1 ponto. Desempenho em MLP também sofreu influência da idade ( $p = 0,01$ ), no sentido de que quanto maior a idade menor é o valor obtido em MLP. Observou-se forte correlação também no desempenho do teste DInverso ( $p = 0,004$ ), e DTotais ( $p = 0,007$ ) no sentido de que quanto maior a idade menor é o valor obtido nesses testes.

Conforme mencionado anteriormente, no envelhecimento normal, observa-se prejuízo na *performance* da atenção, memória de trabalho e velocidade de processamento (Rodriguez-Aranda e Sundet, 2006), funções avaliadas por intermédio do teste de dígitos. A associação observada entre o desempenho no teste de memória de longo prazo e idade pode ser justificada pela perda na capacidade de aprendizagem de novas informações, também notada no envelhecimento normal.

#### **4.4 Análise Estatística**

Os dados obtidos na entrevista foram analisados por intermédio do modelo de análise de variância (ANOVA) para aquelas variáveis que apresentaram distribuição gaussiana e variância constante em cada genótipo. Caso contrário, teste não paramétrico de Kruskal-Wallis foi empregado. Para análise das variáveis qualitativas, utilizou-se o teste de qui-quadrado.

Os valores obtidos com os testes cognitivos foram tratados como variáveis quantitativas, sendo seus valores médios comparados entre os grupos de genótipos ( $\epsilon_2/\epsilon_3$ ,  $\epsilon_3/\epsilon_3$  e  $\epsilon_3/\epsilon_4 + \epsilon_4/\epsilon_4$ ) por intermédio do modelo de análise de covariância (ANCOVA). Considerou-se como variável dependente o valor das medidas nos testes cognitivos e como co-variáveis medidas sócio-demográficas (sexo, idade, escolaridade e estado civil), sintomas depressivos e uso de drogas depressoras do SNC. Para as variáveis em que a distribuição dos erros gerados pelo modelo ANCOVA não apresentava distribuição gaussiana com variância constante, uma transformação logarítmica neperiana foi empregada. Ajustamento de Tukey foi empregado para se ajustar três comparações múltiplas. Contrastes pré-especificados foram usados para testar três hipóteses: primeira, os valores médios no genótipo  $\epsilon_2/\epsilon_3$  não diferem estatisticamente dos valores médios do genótipo  $\epsilon_3/\epsilon_3$ ; segundo, os valores médios no genótipo  $\epsilon_2/\epsilon_3$  não diferem estatisticamente dos valores médios no genótipo  $\epsilon_3/\epsilon_4 +$

$\epsilon_4/\epsilon_4$  e terceiro, os valores médios no genótipo  $\epsilon_3/\epsilon_3$  não diferem estatisticamente dos valores médios no genótipo  $\epsilon_3/\epsilon_4 + \epsilon_4/\epsilon_4$ . Em análise com 2 grupos de genótipos (carreadores de  $\epsilon_4$  e não carreadores de  $\epsilon_4$ ) também não se identificou efeito dos genótipos de ApoE sobre a performance nos testes cognitivos aplicados.

Utilizou-se um modelo de regressão linear múltiplo para se verificar o efeito de variáveis sócio-demográficas, sintomas depressivos e uso de drogas depressoras sobre os testes cognitivos.

O poder do teste foi calculado *a posteriori*, a partir do tamanho total da amostra ( $n= 213$ ). Calculou-se o coeficiente de determinação e o tamanho do efeito. Esta última medida foi calculada a partir do modelo de regressão múltipla com 12 preditores (Tabela 4). O poder do nosso estudo mostrou-se superior a 85%, com um tamanho de efeito que variou entre 0,10 e 0,64.

Todos os dados foram analisados por meio do programa SAS 9.2 para Windows e considerou-se na análise um nível de significância de 5 %.

Tabela 3: Influência da escolaridade e idade nos Testes Cognitivos.

Testes	Idade		Escolaridade	
	Estimativa	<i>p</i>	Estimativa	<i>p</i>
MMSE	-0,09	0,005	0,27	<0,0001
MCP	-0,03	0,517	0,24	0,0001
MLP	-0,05	0,018	0,06	0,024
Ddireto	-0,03	0,110	0,14	<0,0001
Dinverso	-0,06	0,005	0,15	<0,0001
DTotal	-0,09	0,007	0,29	<0,0001
Hanoit*	0,02	0,073	-0,01	0,443
Hanoim*	0,00	0,384	0,01	0,251
Hanoie*	0,01	0,123	-0,01	0,289
TR	3,25	0,002	-3,88	0,002
% Acerto TEVA*	-0,61	<0,0001	0,45	0,014
Xpfa*	0,02	0,138	-0,05	0,015

Resultados obtidos a partir de modelo de regressão linear múltiplo.

\* transformação logarítmica foi empregada

Tabela 4: Cálculo do Poder do Teste

Variável Dependente	Coefficiente de Determinação (R <sup>2</sup> )*	Tamanho do Efeito¶	Poder do Teste§
MEEM	0,39	0,64	1,0000
MCP	0,19	0,23	0,9994
MLP	0,16	0,19	0,9960
Ddireito	0,27	0,37	1,0000
Dinverso	0,29	0,41	1,0000
Total	0,34	0,51	1,0000
Log Hanoit	0,10	0,11	0,9100
Log Hanoim	0,09	0,10	0,8660
Log_Hanoie	0,10	0,11	0,9100
TR	0,19	0,23	0,9995
% Acerto TEVA	0,22	0,28	0,9999
Log XPFA	0,31	0,45	1,0000

\* - R<sup>2</sup> calculado por um modelo de regressão linear múltiplo com 12 variáveis preditoras (ApoE, idade, escolaridade, EDG, BZD, APS, AD, ADT, ANCOV, Outros, Gênero e Estado Civil)

¶ - Tamanho de efeito calculado a partir do modelo de regressão múltipla com 12 preditores e tamanho da amostra igual a 213.

§ - Poder do teste calculado para um tamanho de amostra igual a 213 e nível de significância de 5 %.

## 5. CONCLUSÃO

Nosso estudo não identificou associação entre o genótipo de ApoE e desempenho cognitivo em idosos sem comprometimento cognitivo aparente. Estes achados corroboram a hipótese de que o alelo  $\epsilon 4$  não contribui com um declínio cognitivo detectável em um contexto de não demência.

Em relação ao objetivo secundário, observou-se influência da idade e escolaridade na *performance* em testes cognitivos que avaliam desempenho global, memória de curto e longo prazos, atenção, flexibilidade cognitiva e velocidade de processamento. Estes resultados também são vastamente corroborados pela literatura a respeito de envelhecimento cerebral em idosos não-dementes.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAM, W. C. Memory Maintenance: The Changing Nature of Neural Mechanisms. *Current Directions in Psychological Science* [S.I.], v. 15, n. 1, p. 5-8, 2006.

ALMEIDA, O. P.; ALMEIDA, S. A. Reliability of the Brazilian version of the abbreviated form of Geriatric Depression Scale (GDS) short form. *Arq Neuropsiquiatr* [S.I.], v. 57, n. 2B, p. 421-6, Jun 1999.

APA. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. 4th edition. ed. Washington, DC: American Psychiatric Association, 1994.

ARDILA, A. *et al.* Age-related cognitive decline during normal aging: the complex effect of education. *Arch Clin Neuropsychol* [S.I.], v. 15, n. 6, p. 495-513, Aug 2000.

BATISTA, A. X. *et al.* Torre de Londres e Torre de Hanói: contribuições distintas para avaliação do funcionamento executivo. *Jornal Brasileiro de Psiquiatria* [S.I.], v. 56, p. 134-139, 2007.

BEERI, M. S. *et al.* Age, gender, and education norms on the CERAD neuropsychological battery in the oldest old. *Neurology* [S.I.], v. 67, n. 6, p. 1006-10, Sep 26 2006.

BERTRAM, L. *et al.* Genome-wide association analysis reveals putative Alzheimer's disease susceptibility loci in addition to APOE. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 83, n. 5, p. 623-32, Nov 2008.

BIRREN, J. E. *et al.* *Emergent theories of aging*. New York: Springer Pub. Co., 1988.

BLOM, E. S. *et al.* Rapid progression from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease in subjects with elevated levels of tau in cerebrospinal fluid and the APOE epsilon4/epsilon4 genotype. *Dement Geriatr Cogn Disord* [S.I.], v. 27, n. 5, p. 458-64, 2009.

BOOKHEIMER, S.; BURGGREN, A. APOE-4 genotype and neurophysiological vulnerability to Alzheimer's and cognitive aging. *Annu Rev Clin Psychol* [S.I.], v. 5, p. 343-62, 2009.

BORTOLON, P. C. *et al.* Analysis of the self-medication pattern among Brazilian elderly women. *Cien Saude Colet* [S.I.], v. 13, n. 4, p. 1219-26, Jul-Aug 2008.

BRUCKI, S. Mini-Exame do Estado Mental: influência da escolaridade sobre os escores total e sub-itens. *Rev Neuroci* [S.I.], v. 4, 1996.

BRUCKI, S. M.; NITRINI, R. Cancellation task in very low educated people. *Arch Clin Neuropsychol* [S.I.], v. 23, n. 2, p. 139-47, Mar 2008.



BUNCE, D. *et al.* Does possession of apolipoprotein E varepsilon4 benefit cognitive function in healthy young adults? *Neuropsychologia* [S.I.], v. 49, n. 7, p. 1693-7, Jun 2011.

CACAO, J. C. *et al.* Apolipoprotein E polymorphism in first-degree relatives of patients with familial or sporadic Alzheimer's disease. *Arq Neuropsiquiatr* [S.I.], v. 65, n. 2A, p. 295-8, Jun 2007.

CASELLI, R. J. *et al.* Cognitive domain decline in healthy apolipoprotein E epsilon4 homozygotes before the diagnosis of mild cognitive impairment. *Arch Neurol* [S.I.], v. 64, n. 9, p. 1306-11, Sep 2007.

CASTELLANI, R. J. *et al.* Alzheimer disease. *Dis Mon* [S.I.], v. 56, n. 9, p. 484-546, Sep 2010.

CORDER, E. H. *et al.* Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* [S.I.], v. 261, n. 5123, p. 921-3, Aug 13 1993.

CÓRDOVA, C. Programa Computadorizado para Registro e Processamento da Atenção Visual em Investigações com Retardados Mentais Leves. *Lecturas Educación Física y Deportes* [S.I.], v. 10, n. 82, p. 5, 2005.

CÓRDOVA, C. *et al.* Acute exercise performed close to the anaerobic threshold improves cognitive performance in elderly females. *Braz J Med Biol Res* [S.I.], v. 42, n. 5, p. 458-64, May 2009.

DAMASCENO, B. P. Brain aging. The problem of differential diagnosis between normal and pathologic. *Arq Neuropsiquiatr* [S.I.], v. 57, n. 1, p. 78-83, Mar 1999.

FLORES, V. B.; BENVENÚ, L. A. Perfil de utilização de medicamentos em idosos da zona urbana de Santa Rosa, Rio Grande do Sul, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública* [S.I.], v. 24, p. 1439-1446, 2008.

FOLSTEIN, M. F. *et al.* "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* [S.I.], v. 12, n. 3, p. 189-98, Nov 1975.

FUJIKAWA, A. K. *et al.* Apolipoprotein E polymorphism distribution in an elderly Brazilian population: the Bambui Health and Aging Study. *Braz J Med Biol Res* [S.I.], v. 40, n. 11, p. 1429-34, Nov 2007.

GIL, G.; BUSSE, A. Avaliação neuropsicológica e o diagnóstico de demência, comprometimento cognitivo leve e queixa de memória relacionada à idade. *Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo* [S.I.], v. 54, n. 2, p. 44-50, 2009.

GOLDEN, C. J. *et al.* *Neuropsychological Interpretations of Objective Psychological Tests*. New York, N.Y.: Klumer Academic/Plenum Publishers, 2000.

GREENWOOD, P. M.; PARASURAMAN, R. Normal genetic variation, cognition, and aging. *Behav Cogn Neurosci Rev* [S.I.], v. 2, n. 4, p. 278-306, Dec 2003.

GUIMARÃES, R. M. Health capital, life course and ageing. *Gerontology* [S.I.], v. 53, n. 2, p. 96-101, 2007.

HAMDAN, A. C.; BUENO, O. F. A. Relações entre controle executivo e memória episódica verbal no comprometimento cognitivo leve e na demência tipo Alzheimer. *Estudos de Psicologia (Natal)* [S.I.], v. 10, p. 63-71, 2005.

HAZZARD, W. R. *Principles of geriatric medicine and gerontology*. 4th. ed. New York: McGraw-Hill, Health Professions Division, 1999.

HUANG, Y. *et al.* Apolipoprotein E: diversity of cellular origins, structural and biophysical properties, and effects in Alzheimer's disease. *J Mol Neurosci* [S.I.], v. 23, n. 3, p. 189-204, 2004.

KORENBERG, J. R. *et al.* Down syndrome phenotypes: the consequences of chromosomal imbalance. *Proc Natl Acad Sci U S A* [S.I.], v. 91, n. 11, p. 4997-5001, May 24 1994.

LESHER, E. L.; BERRYHILL, J. S. Validation of the Geriatric Depression Scale--Short Form among inpatients. *J Clin Psychol* [S.I.], v. 50, n. 2, p. 256-60, Mar 1994.

LOPES, M. A.; BOTTINO, C. M. [Prevalence of dementia in several regions of the world: analysis of epidemiologic studies from 1994 to 2000]. *Arq Neuropsiquiatr* [S.I.], v. 60, n. 1, p. 61-9, Mar 2002.

LORING, D. W. *et al.* Lorazepam effects on Word Memory Test performance: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *Clin Neuropsychol* [S.I.], v. 25, n. 5, p. 799-811, Jul 2011.

MORAES, C. F. *et al.* Lessons from genome-wide association studies findings in Alzheimer's disease. *Psychogeriatrics* [S.I.], v. 12, n. 1, p. 62-73, 2012.

MORAES, E. N. *et al.* Características biológicas e psicológicas do envelhecimento. *Rev Med Minas Gerais* [S.I.], v. 20, n. 1, p. 67-73, 2010.

NASCIMENTO, E. D.; FIGUEIREDO, V. L. M. D. WISC-III e WAIS-III: alterações nas versões originais americanas decorrentes das adaptações para uso no Brasil. *Psicologia: Reflexão e Crítica* [S.I.], v. 15, p. 603-612, 2002.

NERI, A. L.; FREIRE, S. A. *Desenvolvimento e envelhecimento: perspectivas biológicas, psicológicas e sociológicas*. 4a. ed. Campinas, SP.: Papyrus, 2001.

PARADELA, E. M. P. *et al.* Validação da escala de depressão geriátrica em um ambulatório geral. *Revista de Saúde Pública* [S.I.], v. 39, p. 918-923, 2005.

PETERSEN, R. C. *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* [S.I.], v. 56, n. 9, p. 1133-42, May 8 2001.

RABER, J. *et al.* ApoE genotype accounts for the vast majority of AD risk and AD pathology. *Neurobiol Aging* [S.I.], v. 25, n. 5, p. 641-50, May-Jun 2004.

RIBEIRO, P. C. C. *et al.* Desempenho de idosos na bateria cognitiva CERAD: relações com variáveis sócio-demográficas e saúde percebida. *Psicologia: Reflexão e Crítica* [S.I.], v. 23, p. 102-109, 2010.

RODRIGUEZ-ARANDA, C.; SUNDET, K. The frontal hypothesis of cognitive aging: factor structure and age effects on four frontal tests among healthy individuals. *J Genet Psychol* [S.I.], v. 167, n. 3, p. 269-87, Sep 2006.

RONNLUND, M. *et al.* Adult Age Differences in Tower of Hanoi Performance: Influence From Demographic and Cognitive Variables. *Aging, Neuropsychology, and Cognition* [S.I.], v. 8, n. 4, p. 269-283, 2012/02/06 2001.

SAUNDERS, A. M. *et al.* Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* [S.I.], v. 43, n. 8, p. 1467-72, Aug 1993.

SCAZUFCA, M. *et al.* Investigações epidemiológicas sobre demência nos países em desenvolvimento. *Revista de Saúde Pública* [S.I.], v. 36, p. 773-778, 2002.

SCHLINDWEIN-ZANINI, R. Demência no idoso: aspectos neuropsicológicos. *Rev Neurocienc* [S.I.], v. 18, n. 2, p. 220-226, 2010.

SOUZA, R. D. O. *et al.* Contribuições à neuropsicologia do comportamento executivo: Torre de Londres e teste de Wisconsin em indivíduos normais. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria* [S.I.], v. 59, p. 526-531, 2001.

STRAUSS, E. *et al.* *A compendium of neuropsychological tests : administration, norms, and commentary*. 3a. ed. New York: Oxford University Press, 2006.

SULLIVAN, J. R. *et al.* Concurrent validity of the tower tasks as measures of executive function in adults: a meta-analysis. *Appl Neuropsychol* [S.I.], v. 16, n. 1, p. 62-75, 2009.

TRAVASSOS, C. *et al.* Utilization of health care services in Brazil: gender, family characteristics, and social status. *Rev Panam Salud Publica* [S.I.], v. 11, n. 5-6, p. 365-73, May-Jun 2002.

TRENTINI, M. *et al.* Enfrentamento de situações adversas e favoráveis por pessoas idosas em condições crônicas de saúde. *Revista Latino-Americana de Enfermagem* [S.I.], v. 13, p. 38-45, 2005.

TUMINELLO, E. R.; HAN, S. D. The apolipoprotein e antagonistic pleiotropy hypothesis: review and recommendations. *Int J Alzheimers Dis* [S.I.], v. 2011, p. 726197, 2011.

VAN DEN KOMMER, T. N. *et al.* Depression and Cognition: How Do They Interrelate in Old Age? *Am J Geriatr Psychiatry* [S.I.], Mar 13 2012.

WECHSLER, D. *WAIS-III Wechsler adult intelligence scale*. 3rd. ed. San Antonio, Tex.: Psychological Corporation, 1997a.

\_\_\_\_\_. *WMS-III Administration and Scoring Manual*. 3rd. ed. SanAntonio, Tex.: The Psychological Corporation, 1997b.

YESAVAGE, J. A. *et al.* Development and validation of a geriatric depression screening scale: a preliminary report. *J Psychiatr Res* [S.I.], v. 17, n. 1, p. 37-49, 1982.

## **Anexo A**

**Artigo Científico versão original (em língua inglesa)**

## **A lack of correlation between ApoE genotypes and cognitive performance in the non-demented elderly**

Juliana Lima Quintas<sup>1,2</sup>, Vinícius Carolino de Souza<sup>3</sup>, Adriane Dallanora Henriques<sup>4</sup>, Wilcelly Machado-Silva<sup>4</sup>, Clayton Franco Moraes<sup>2</sup>, Einstein Francisco Camargos<sup>1,2</sup>, Cláudio Córdova<sup>5</sup>, Otávio Toledo Nóbrega<sup>2,3,\*</sup>

<sup>1</sup> Geriatric Medical Centre, Hospital of the University of Brasília, Brazil.

<sup>2</sup> Graduation Program in Medical Sciences, University of Brasilia, Brazil.

<sup>3</sup> Graduation Program in Health Sciences, University of Brasília, Brazil.

<sup>4</sup> Pharmacy School, University of Brasilia, Brazil.

<sup>5</sup> Graduation Program in Physical Education, Catholic University of Brasilia, Brazil.

Category: original article

Running head: apolipoprotein E, cognition and older adults

\*Corresponding author: Otávio T. Nóbrega

Address: Campus Universitário Darcy Ribeiro

Asa Norte, Brasília – DF, 70910-900, Brazil

Phone (+55 61) 3107 1916 — E-mail: nobrega@pq.cnpq.br; otavionobrega@unb.br

## **Abstract**

Population ageing leads to an increased prevalence of neurodegenerative diseases and age-related cognitive decline. The epsilon 4 ( $\epsilon 4$ ) allele of the apolipoprotein E (ApoE) gene is known to be a key genetic risk factor for Alzheimer's disease (AD) and possibly for other neurological disorders. Some evidence in the literature indicates that allele  $\epsilon 4$  interferes with human cognition independently of chronological age. The present study investigated the correlation of allelic variants of ApoE with the cognitive performance of elderly individuals without apparent cognitive impairment. Regardless of a statistical power compatible with the purpose, the present study did not identify differential performance across ApoE genotypes when a sample of 213 cognitively preserved older adults were submitted to a sequence of neuropsychological tests encompassing several cognitive domains, including short- and long-term episodic memory, processing speed, attention and executive functions. There were no effects of age, gender, marital status, schooling, depressive symptoms and use of central nervous system depressants when the analyses were controlled for such factors. Our findings support the hypothesis that the allele  $\epsilon 4$  does not contribute to detectable cognitive decline within the context of non-dementia.

**Keywords:** apolipoprotein; cognition; neuropsychology; elderly; aging.

## 1. Introduction

Population ageing results in an increased prevalence of neurodegenerative diseases, especially dementia. Among the different forms of dementia, Alzheimer's disease (AD) is the most common, and its prevalence has increased in recent decades [12]. AD causes a level of cognitive and behavioural impairment that interferes with everyday life activities and the quality of life. It is characterised by memory impairment associated with deficit in at least one other cognitive function, such as executive functions, language, and attention, with the exclusion of other causes of dementia [4].

The markers and other features that allow for the early diagnosis of AD, especially genetic markers, are subject of attention [5]. Allele epsilon 4 ( $\epsilon 4$ ) of the apolipoprotein E (ApoE) gene is the main genetic risk factor for AD [6], and it is possibly involved in other neurological disorders [30].

ApoE is the lipoprotein present in the greatest amount in the central nervous system (CNS), and the brain represents the second most important site for its synthesis in the entire human body. The allelic variants of ApoE in chromosome 19 exhibit three main isoforms ( $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$ , and  $\epsilon 4$ ) and six different genotypic combinations: three homozygous ( $\epsilon 2/\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 3$ , and  $\epsilon 4/\epsilon 4$ ) and three heterozygous ( $\epsilon 2/\epsilon 3$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 4$ , and  $\epsilon 2/\epsilon 4$ ).

Although there is evidence regarding the specific role that ApoE plays in the formation of amyloid plaque and neurofibrillary tangles and regarding the association of these histopathological formations with the aetiology of AD, the underlying mechanisms are still poorly explained in the literature [20]. From the clinical perspective, there are doubts about when and how a given genotypic variant manifests phenotypically in human cognition. In this regard, some evidence indicates that allele  $\epsilon 4$  interferes with human cognition independently of chronological age [26] by determining signs and symptoms compatible with cognitive decline in a context devoid of dementia [8]. Another line of research shows that the presence of this allele is a risk factor for AD and an accelerator of cognitive loss once the diagnosis is set, thus accounting to an allele-specific contribution to the appearance and progression of the disease [7].

Studies conducted with non-demented elderly seek to identify impairment in cognitive ability that might be associated with the genotype. Therefore, the aim of the present study was to investigate the association of the allelic variants of ApoE with the cognitive performance of elderly individuals without apparent cognitive impairment.



## **2. Materials and methods**

### **2.1. Study Design and Patients**

This was a cross-sectional analytical study including non-demented elderly individuals (age  $\geq 60$  years old) admitted from August 2009 to December 2010 to a health promotion program at two general geriatrics outpatient clinics located at the metropolitan area of the Federal District, Brazil, to assess determinants of cognitive disorders. Both clinics accept patients with similar sociodemographic characteristics, Medical records were used as source of preliminary information, and individuals exhibiting signs or symptoms of psychiatric disorders (schizophrenia, schizoaffective disorders, delusional or mood disorders, delirium, or intense agitation), dementia (Alzheimer's, Parkinson's, vascular, frontotemporal, Lewy body, or other dementias), or important brain diseases/injuries (ischemic stroke, subdural haematoma, haemorrhage, trauma, or others) were excluded, as recommended by the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV) criteria[4]. Besides the criteria above, a patient was rendered as cognitively preserved whenever no cognitive decline was noticed during follow up of at least one year after admission. All clinical assessments were executed by two experienced geriatricians.

### **2.2. Genetic Analysis**

The total genomic DNA of each participant was collected using routine laboratory procedures. The genotypes of ApoE common alleles ( $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$ , and  $\epsilon 4$ ) were established according to the method developed by Donohoe et al. [11], with modifications [21].

### **2.3. Procedures**

#### **2.3.1 Interviews**

Individuals without psychiatric disorders, dementia, or other neurological disorders were invited to participate in structured interviews to identify their sociodemographic and clinical characteristics by collecting data on identity, gender, birth date, level of schooling, marital status, and medications used, among others. During the interviews, disorders, such as important sensory (visual and/or auditory) impairment, untreated sleep disorders, and other active conditions, that could interfere with the participants' overall state of health (such as cancer, epilepsy, immobility, and stroke) identified by the clinical team were considered as further exclusion criteria. Users of medications that might interfere with cognition were also excluded from the study; for this purpose, a user was defined as any individual using a constant dose of

prescribed CNS depressants (antipsychotics, tricyclic antidepressants, benzodiazepines, anticonvulsants, and/or sleep inducers) for at least four weeks prior to the initial interview. The present study was approved by the Research Ethics Committee of the School of Medicine of the University of Brasilia (#016/2009), and all of the participants signed an informed consent form.

### **2.3.2. Neuropsychological Tests**

After the initial interview, the Geriatric Depression Scale (GDS) [29] and the *Mini-mental State Examination* (MMSE) [13] were applied. The cognitive tests administered to participants encompassed several cognitive domains, including short- and long-term episodic memory, processing speed, and attention and executive functions. The cognitive tests included the *Form I Paired Associate Learning Test* (STM) and *Form II Paired Associate Learning Test* (LTM) of the Wechsler Memory Scale [28], *Digit Span Forward* (DSF) and *Backward* (DSB) of Wechsler Adult Intelligence Scale (third edition, WAIS-III) [27], a *Simple Reaction Time Test* (Visual Attention Variables Tests - TEVA: RT – Reaction time; xpFA – rate of false-alarms; % hits) [10] and *Tower of Hanoi* [25]. In the *Digit Span test*, the sum of each participant's time for DSF and DSB was also considered as an independent variable (DSTotal). For the *Tower of Hanoi*, two disks were used for training and three for testing [2], and these disks were used to assess the total time in seconds to perform the task (HanoiT), the number of errors (HanoiE), and the number of correct movements (HanoiM). All neuropsychological tests were administered by the same examiner.

### **2.4-Data Analyses**

The average values of the quantitative variables collected in the cognitive tests were compared among the genotypic groups using analysis of variance (ANOVA) when the distribution of variables was normal and the variance of each genotype was constant; otherwise, the Kruskal-Wallis non-parametric test was used. The chi-squared test was used to analyse the qualitative variables. The sociodemographic variables (gender, age, schooling, and marital status), depressive symptoms, and the use of CNS depressants were considered co-variables. For variables where the distribution of errors in ANOVA did not exhibit a normal distribution and the variance was constant, neperian logarithmic transformation was used. Tukey's adjustment was used to adjust multiple comparisons.

A multiple linear regression model was used to determine the effect of the sociodemographic variables, depressive symptoms, and use of depressants on the

cognitive tests. The model included 11 predictor variables for cognitive tests: age, schooling, gender, marital status, and the presence or absence of depressive symptoms as well as the use of benzodiazepines, antipsychotics, antidepressants, tricyclic antidepressants, anticonvulsants, or other drugs (such as anti-hypertensive, hypoglycaemic, hypolipidaemic drugs, and bisphosphonates, which do not interfere with the CNS). It was established that for a sample comprising 213 individuals, a 5% significance level, and an effect size between 0.10 and 0.64, the test power exceeded 85%. The data were analysed using the software SAS 9.2 for Windows.

### 3. Results

For a sample of 398 eligible, cognitively preserved cases, invitations were made by telephone and clinical interviews were scheduled throughout July to December 2011. Thus, five subjects were excluded due to important auditory and/or visual impairment and 13 due to active disease that affected the participants' overall state of health (e.g., cancer, epilepsy, or immobility). Furthermore, 13 patients had died prior to our calling, and 147 refused or were unable to continue to be part of the study. Data from one patient were lost. Therefore, the final sample for comparison of genotypes comprised 213 individuals, which consisted of 81.2% females ( $n = 187$ ). Mean age of the final sample was 72.9 ( $\pm 6.1$ ) years, with an average schooling of 5.6 ( $\pm 4.6$ ) years. Most of the patients were married ( $n = 86$ ; 40.4%) or widowed ( $n = 82$ ; 38.5%). Average values and proportions of sociodemographic variables found in the final sample did not exhibit significant differences among the three genotype groups analysed (Table 1).

After the abovementioned exclusions, the following genotypic frequencies were obtained:  $\epsilon 2/\epsilon 2$  ( $n = 0$ ; 0%),  $\epsilon 2/\epsilon 3$  ( $n = 15$ ; 6.8%),  $\epsilon 2/\epsilon 4$  ( $n = 6$ ; 2.7%),  $\epsilon 3/\epsilon 3$  ( $n = 159$ ; 72.6%),  $\epsilon 3/\epsilon 4$  ( $n = 34$ ; 15.6%), and  $\epsilon 4/\epsilon 4$  ( $n = 5$ ; 2.3%). As there is epidemiological and experimental evidence that the ApoE allele  $\epsilon 2$  plays a role in preservation of cognitive function[9], individuals with genotype  $\epsilon 2\epsilon 4$  were excluded from the analysis because of the putative opposite effects of these alleles in cognition. For inferential analysis, the genotypes were clustered to clarify the differences between carriers of different alleles as follows: carriers of  $\epsilon 2$  ( $\epsilon 2\epsilon 3$ ), homozygous  $\epsilon 3$  ( $\epsilon 3\epsilon 3$ ), and carriers of  $\epsilon 4$  ( $\epsilon 4/\epsilon 4 + \epsilon 3/\epsilon 4$ ). The average performance in all cognitive tests applied did not exhibit significant differences among the three investigated genotype groups (Table 2). There were also no significant effects of co-variables age, gender, marital status, level of schooling,

depressive symptoms, and the different classes of CNS depressants in use on the model when the analyses were controlled for such factors.

#### **4. Discussion**

The present study did not identify a correlation between classic genotypes of ApoE and differential performances in a battery of neuropsychological tests (MMSE, STM, LTM, DSF, DSB, DSTotal, Tower of Hanoi, and SRT) in elderly individuals clinically identified as having preserved cognitive functions. The investigation of performance in cognitive tests among the elderly requires judicious procedures that are able to establish the cognitive integrity of these patients to exclude those with mild cognitive impairment and preclinical stages of AD. In this regard, our study represents a contribution to the scientific literature because it was performed with a sample enrolled in a prospective research project where clinical follow-up was performed on a regular basis, thus ensuring the exclusion of diseases and other variables that might interfere with cognition, such as subclinical and early cases of AD. Despite the rigorous exclusion criteria used, the methodological rigor in the application of tests and the control of confounding variables, such as schooling, age, comorbidities, and use of medications, no adjustment made significant the observed differences between carriers and non-carriers of a given ApoE allelic form. The multiple linear regression model indicated that the lack of significant differences could not be attributed to a limited power of the test, which varied between 0.86 and 1.00 for all of the investigated variables.

There is no consensus in the literature on the possible correlation between ApoE genotypes and cognitive performance in non-demented individuals. Notwithstanding the contribution of  $\epsilon 4$  to AD, some individuals develop the disease in the absence of this genotype, whereas some carriers do not develop dementia. This fact points to other genomic elements or a wide allelic architecture as the centre of the genetic aetiology of this disorder. In addition, one observation that is not fully supported by Mendelian concepts suggests that half of the first-degree relatives of patients with AD will develop the disease by their ninth decade of life[23].

From the histopathological point of view, the current notions on the role that ApoE plays in the human brain assert that it favours the deposition of beta-amyloid plaques [22], increases the phosphorylation of protein tau [16], and impairs neuronal repair among  $\epsilon 4$  carriers compared to non-carriers [19]. However, these histopathological changes do not necessarily imply established dementia, and there is a

discussion as to whether there is a definite phenotype associated with allele  $\epsilon 4$  [14], or rather a particular trigger event that underlies the pathological processes with which it is related [19]. Despite the differences between both theoretical points of view, they share a common feature: the significant contribution of the allele  $\epsilon 4$  once repair/compensation mechanisms become deficient and the impairment of human cognition becomes apparent. Some studies investigated the contribution of allele  $\epsilon 4$  to the clinical progression of mild cognitive disorders [1] and found that conversion to AD was more frequent among carriers compared to non-carriers [18]. Although some research groups work on the assumption of an association between ApoE genotypes and cognitive performance under the antagonistic pleiotropy hypothesis (better performance in youth and worse status in old age) [3], our findings corroborate results elsewhere in which differences in cognitive performance would rather be attributed to different stages of life than to the  $\epsilon 4$  allele [7] as the mere presence of the allele does not determine subclinical phenotypes within a non-demented context. Accordingly, mild cognitive impairment might be understood as a symptom of subclinical stages inherent to the heterogeneity of a condition as complex as Alzheimer's dementia, to which the phenotypic expression of the allele  $\epsilon 4$  contributes.

With regards to the sensitivity of the selected tests, they are widely used to assess specific cognitive functions and thus differ from wider-scoped batteries of tests that aim to assess overall cognitive performance and compensation mechanisms at the expense of the specific working of each function [24]. Notwithstanding the control of the predictive variables, the selection of these instruments also considered the ability of participants to understand and execute the tasks independently from their age and level of schooling. The neuropsychological or predominant profile of individuals with mild cognitive disorders [15] and initial AD [17] was also considered in the selection of the tests.

Further considerations with regards to the present study are worthy of notice. First, we must observe once again that the cross-sectional design used is unable to make direct causal relationships evident; therefore, future studies must consider using longitudinal designs to ensure a systematic cognitive assessment of groups of non-demented elderly individuals who are or are not carriers of  $\epsilon 4$ . Then, due to the naturally low frequency of  $\epsilon 4/\epsilon 4$  among the world population, it was not possible to

form an exclusive case series of this genotype. For this reason, it was not possible to test the possibility of allele e4 expressing a dose-dependent effect.

### **5. Conclusions**

To summarise, our study did not find a relationship between ApoE genotypes and cognitive performance in non-demented elderly individuals. Our findings corroborate the hypothesis that the allele  $\epsilon 4$  does not promote detectable cognitive disorder within the context of non-dementia.

### **Acknowledgments**

This work was supported by FAPDF (grant # 193.000.449-2008), Finatec/UnB (grant # 5563/2009) and DPP/UnB (UnBDoc 121696/2011) to O.T. Nóbrega.

## References

- [1] N.T. Aggarwal, R.S. Wilson, T.L. Beck, J.L. Bienias, D.A. Bennett, Mild cognitive impairment in different functional domains and incident Alzheimer's disease, *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 76 (2005) 1479-1484.
- [2] J. Ahonniska, T. Ahonen, T. Aro, A. Tolvanen, H. Lyytinen, Repeated assessment of the Tower of Hanoi test: reliability and age effects, *Assessment* 7 (2000) 297-310.
- [3] D.M. Alexander, L.M. Williams, J.M. Gatt, C. Dobson-Stone, S.A. Kuan, E.G. Todd, P.R. Schofield, N.J. Cooper, E. Gordon, The contribution of apolipoprotein E alleles on cognitive performance and dynamic neural activity over six decades, *Biol Psychol* 75 (2007) 229-238.
- [4] APA, Diagnostic and statistical manual of mental disorders, American Psychiatric Association, Washington, DC, 1994, xxvii, 886 p. pp.
- [5] L. Bertram, C. Lange, K. Mullin, M. Parkinson, M. Hsiao, M.F. Hogan, B.M. Schjeide, B. Hooli, J. Divito, I. Ionita, H. Jiang, N. Laird, T. Moscarillo, K.L. Ohlsen, K. Elliott, X. Wang, D. Hu-Lince, M. Ryder, A. Murphy, S.L. Wagner, D. Blacker, K.D. Becker, R.E. Tanzi, Genome-wide association analysis reveals putative Alzheimer's disease susceptibility loci in addition to APOE, *Am J Hum Genet* 83 (2008) 623-632.
- [6] S. Bookheimer, A. Burggren, APOE-4 genotype and neurophysiological vulnerability to Alzheimer's and cognitive aging, *Annu Rev Clin Psychol* 5 (2009) 343-362.
- [7] D. Bunce, K.J. Anstey, R. Burns, H. Christensen, S. Easteal, Does possession of apolipoprotein E varepsilon4 benefit cognitive function in healthy young adults?, *Neuropsychologia* 49 (2011) 1693-1697.
- [8] R.J. Caselli, E.M. Reiman, D.E. Locke, M.L. Hutton, J.G. Hentz, C. Hoffman-Snyder, B.K. Woodruff, G.E. Alexander, D. Osborne, Cognitive domain decline in healthy apolipoprotein E epsilon4 homozygotes before the diagnosis of mild cognitive impairment, *Arch Neurol* 64 (2007) 1306-1311.
- [9] E.H. Corder, L. Lannfelt, N. Bogdanovic, L. Fratiglioni, H. Mori, The role of APOE polymorphisms in late-onset dementias, *Cell Mol Life Sci* 54 (1998) 928-934.

- [10] C. Córdova, Programa Computadorizado para Registro e Processamento da Atenção Visual em Investigações com Retardados Mentais Leves., *Lecturas Educación Física y Deportes* 10 (2005) 5.
- [11] G.G. Donohoe, A. Salomaki, T. Lehtimaki, K. Pulkki, V. Kairisto, Rapid identification of apolipoprotein E genotypes by multiplex amplification refractory mutation system PCR and capillary gel electrophoresis, *Clin Chem* 45 (1999) 143-146.
- [12] C.P. Ferri, M. Prince, C. Brayne, H. Brodaty, L. Fratiglioni, M. Ganguli, K. Hall, K. Hasegawa, H. Hendrie, Y. Huang, A. Jorm, C. Mathers, P.R. Menezes, E. Rimmer, M. Scazufca, Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study, *Lancet* 366 (2005) 2112-2117.
- [13] M.F. Folstein, S.E. Folstein, P.R. McHugh, "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician, *J Psychiatr Res* 12 (1975) 189-198.
- [14] P.M. Greenwood, R. Parasuraman, Normal genetic variation, cognition, and aging, *Behav Cogn Neurosci Rev* 2 (2003) 278-306.
- [15] A.C. Hamdan, O.F.A. Bueno, Relações entre controle executivo e memória episódica verbal no comprometimento cognitivo leve e na demência tipo Alzheimer, *Estudos de Psicologia (Natal)* 10 (2005) 63-71.
- [16] Y. Huang, K.H. Weisgraber, L. Mucke, R.W. Mahley, Apolipoprotein E: diversity of cellular origins, structural and biophysical properties, and effects in Alzheimer's disease, *J Mol Neurosci* 23 (2004) 189-204.
- [17] A.F. Jorm, K.A. Mather, P. Butterworth, K.J. Anstey, H. Christensen, S. Easteal, APOE genotype and cognitive functioning in a large age-stratified population sample, *Neuropsychology* 21 (2007) 1-8.
- [18] A. Kluger, S.H. Ferris, J. Golomb, M.S. Mittelman, B. Reisberg, Neuropsychological prediction of decline to dementia in nondemented elderly, *J Geriatr Psychiatry Neurol* 12 (1999) 168-179.
- [19] S.M. Laws, E. Hone, S. Gandy, R.N. Martins, Expanding the association between the APOE gene and the risk of Alzheimer's disease: possible roles for APOE promoter polymorphisms and alterations in APOE transcription, *Journal of Neurochemistry* 84 (2003) 1215-1236.



- [20] C.F. Moraes, T.C. Lins, E.F. Carmargos, J.O.S. Naves, R.W. Pereira, O.T. Nóbrega, Lessons from genome-wide association studies findings in Alzheimer's disease, *Psychogeriatrics* 12 (2012) 62-73.
- [21] R.S. Paula, V.C. Souza, A.L. Benedet, E.R. Souza, J.O. Toledo, C.F. Moraes, L. Gomes, C.S. Alho, C. Cordova, O.T. Nobrega, Dietary fat and apolipoprotein genotypes modulate plasma lipoprotein levels in Brazilian elderly women, *Mol Cell Biochem* 337 (2010) 307-315.
- [22] J. Raber, Y. Huang, J.W. Ashford, ApoE genotype accounts for the vast majority of AD risk and AD pathology, *Neurobiol Aging* 25 (2004) 641-650.
- [23] G.W. Small, P.V. Rabins, P.P. Barry, N.S. Buckholtz, S.T. DeKosky, S.H. Ferris, S.I. Finkel, L.P. Gwyther, Z.S. Khachaturian, B.D. Lebowitz, T.D. McRae, J.C. Morris, F. Oakley, L.S. Schneider, J.E. Streim, T. Sunderland, L.A. Teri, L.E. Tune, Diagnosis and treatment of Alzheimer disease and related disorders. Consensus statement of the American Association for Geriatric Psychiatry, the Alzheimer's Association, and the American Geriatrics Society, *JAMA* 278 (1997) 1363-1371.
- [24] E. Strauss, E.M.S. Sherman, O. Spreen, A compendium of neuropsychological tests : administration, norms, and commentary, Oxford University Press, Oxford ; New York, 2006, xvii, 1216 p. pp.
- [25] J.R. Sullivan, C.A. Riccio, C.L. Castillo, Concurrent validity of the tower tasks as measures of executive function in adults: a meta-analysis, *Appl Neuropsychol* 16 (2009) 62-75.
- [26] E.R. Tuminello, S.D. Han, The apolipoprotein e antagonistic pleiotropy hypothesis: review and recommendations, *Int J Alzheimers Dis* 2011 (2011) 726197.
- [27] D. Wechsler, WAIS-III Wechsler adult intelligence scale. Psychological Corporation, San Antonio, Tex., 1997, p. Manual.
- [28] D. Wechsler, WMS-III Wechsler memory scale. Psychological Corporation, San Antonio, Tex., 1997, p. Manual.
- [29] J.A. Yesavage, T.L. Brink, T.L. Rose, O. Lum, V. Huang, M. Adey, V.O. Leirer, Development and validation of a geriatric depression screening scale: a preliminary report, *J Psychiatr Res* 17 (1982) 37-49.

- [30] A.G. Yip, A.C. McKee, R.C. Green, J. Wells, H. Young, L.A. Cupples, L.A. Farrer, APOE, vascular pathology, and the AD brain, *Neurology* 65 (2005) 259-265.

Table 1. Comparison of continuous (mean  $\pm$  standard deviation) and categorical (absolute number (proportion)) variables across the three groups of ApoE genotypes.

Variable	Groups			<i>p</i>
	$\epsilon 2/\epsilon 3$ (n=15)	$\epsilon 3/\epsilon 3$ (n=159)	$\epsilon 4/\epsilon 4 + \epsilon 3/\epsilon 4$ (n=39)	
Age (years)	74.5 $\pm$ 6.7	72.7 $\pm$ 6.1	73.5 $\pm$ 6.1	0.780
Schooling (years)	5.0 $\pm$ 5.1	6.0 $\pm$ 4.7	5.1 $\pm$ 4.4	0.343*
Sex (female)	14 (93.3)	142 (89.3)	31 (79.5)	0.194
Marital status				
married	7 (46.7)	62 (39.0)	17 (43.6)	0.858
widowed	4 (26.7)	62 (39.0)	16 (41.0)	
Depressive symptoms (presence)	4 (26.7)	40 (25.2)	13 (33.3)	0.896
Use of benzodiazepines	2 (13.3)	12 (7.5)	5 (12.8)	0.482
Use of antipsychotics	0 (0.0)	01 (0.6)	0 (0.0)	0.843
Use of antidepressants	1 (6.7)	22 (13.8)	9 (23.1)	0.226
Use of tricyclic antidepressants	1 (6.7)	7 (4.4)	1 (2.6)	0.779
Use of anticonvulsants	0 (0.0)	6 (3.8)	1 (2.6)	0.707
Use of other drugs	14 (93.3)	142 (89.3)	32 (82.0)	0.369

Proportions are expressed within genotype. *p*-values for categorical analyses were obtained using the chi-square test whereas for continuous data with ANOVA. \*Significance verified with the Kruskal-Wallis test.

Table 2. Comparison of cognitive variables across the three groups of ApoE genotypes.

Tests	Groups*			P			
	$\epsilon 3/\epsilon 3$ (n = 159)	$\epsilon 4/\epsilon 4 + \epsilon 3/\epsilon 4$ (n = 39)	$\epsilon 2/\epsilon 3$ (n = 15)	$\epsilon 3/\epsilon 3$ vs. $\epsilon 4/\epsilon 4$ $\epsilon 3/\epsilon 4$	$\epsilon 3/\epsilon 3$ vs. $\epsilon 4/\epsilon 4$ $\epsilon 3/\epsilon 4$	$\epsilon 3/\epsilon 3$ vs. $\epsilon 2/\epsilon 3$ $\epsilon 3/\epsilon 4$	$\epsilon 4/\epsilon 4$ + $\epsilon 3/\epsilon 4$ vs. $\epsilon 2/\epsilon 3$ $\epsilon 3/\epsilon 4$
MMSE	25,9 ± 2,7	25,5 ± 3,1	24,5 ± 2,7	0,273	0,999	0,247	0,331
STM	11,6 ± 4,1	11,3 ± 3,6	11,1 ± 3,0	0,866	0,948	0,917	0,855
LTM	4,6 ± 1,7	4,5 ± 1,4	4,5 ± 1,2	0,991	0,999	0,993	0,991
DSF	6,0 ± 1,8	5,5 ± 1,4	5,3 ± 1,6	0,146	0,253	0,367	0,966
DSB	3,7 ± 1,8	3,4 ± 1,6	3,1 ± 1,6	0,736	0,981	0,716	0,834
DSTotal	9,7 ± 3,1	8,9 ± 2,6	8,5 ± 2,7	0,284	0,526	0,401	0,873
HanoiT <sup>‡</sup>	104,9 ± 68,5	95,8 ± 65,6	118,9 ± 53,1	0,200	0,405	0,520	0,198
HanoiM <sup>‡</sup>	13,7 ± 6,1	13,1 ± 5,6	16,4 ± 5,1	0,097	0,598	0,169	0,079
HanoiE <sup>‡</sup>	1,5 ± 1,2	1,2 ± 1,0	1,7 ± 1,3	0,082	0,067	0,998	0,372
RT	482,7 ± 85,7	470,1 ± 56,7	460,1 ± 65,5	0,217	0,469	0,321	0,835
% Hits	93,5 ± 12,7	96,3 ± 8,0	91,7 ± 11,2	0,279	0,257	0,998	0,577
xpFA <sup>‡</sup>	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,1	0,167	0,991	0,154	0,163

\* Mean ± standard deviation; *p*-values were calculated using ANCOVA adjusted for sociodemographic data, depressive symptoms and use of depressant drugs. Multiple comparisons were adjusted using Tukey's test; ‡ Neperian logarithmic transformation was used. MMSE = mini-mental state exam; STM = Form I Paired Associate Learning Test; LTM = Form II Paired Associate Learning Test; DSF = Digit Span Test Forward; DSB = Digit Span Test Backward (DSB); DSTotal = sum of DSF and DSB; HanoiT = total time to perform; HanoiM = number of correct movements; HanoiE = number of errors; RT = Reaction time in TEVA; xpFA = rate of false-alarms in TEVA; % Hits = proportion of correct hit in TEVA; TEVA = Visual Attention Variables Test.

## **Anexo B**

### **Termo de aprovação no Comitê de ética**



**ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA**

**Registro de Projeto:** CEP-FM 016/2009.

**Título:** “biotecnologia e atenção à saúde aplicadas ao estudo dos determinantes genômicos dos transtornos demenciais.”

**Pesquisador Responsável:** Otávio de Toledo Nóbrega.

**Documentos analisados:** Folha de rosto, carta de encaminhamento, declaração de responsabilidade, protocolo de pesquisa, termo de consentimento livre e esclarecido, cronograma, bibliografia pertinente e currículo (s) de pesquisador (es).

**Data de entrega:** 11/03/2009.

Proposição do (a) relato (a)

**Aprovação**

**Não aprovação.**

**Data da primeira análise pelo CEP-FM/UNB:** 18/04/2009.

**Data do parecer final do projeto pelo CEP-FM/UNB:** 24/06/2009.

---

**PARECER**

Com base na Resolução CNS/MS nº 196/96 e resoluções posteriores, que regulamentam a matéria, o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília decidiu **APROVAR** “*ad referendum*”, conforme parecer do (a) relator (a) o projeto de pesquisa acima especificado, quanto aos seus aspectos éticos.

1. Modificações no protocolo devem ser submetidas ao CEP, assim como a notificação imediata de eventos adversos graves;
2. O (s) pesquisador (es) deve (m) apresentar relatórios periódicos do andamento da pesquisa ao CEP-FM.

Brasília, 25 de Junho de 2009.

  
**Prof. Elaine Maria de Oliveira Ayes**  
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa  
Faculdade de Medicina-UnB

## **Anexo C**

### **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**



**Biotecnologia e atenção à saúde aplicadas ao estudo dos determinantes genômicos dos transtornos demenciais**

O envelhecimento pode ocasionar doenças ou o agravamento de suas manifestações no organismo, diminuindo a qualidade de vida da pessoa. Por isso, nós do Centro de Medicina do Idoso do Hospital Universitário de Brasília (HUB), em conjunto com pesquisadores da Universidade de Brasília (UnB), estamos trabalhando na busca por sinais clínicos e de laboratório que permitam antever o desenvolvimento de doenças associadas ao envelhecimento, sobretudo aquelas relacionadas à perda de memória e das funções mentais.

Assim sendo, com o objetivo de encontrar características do organismo que possam contribuir para o diagnóstico precoce de doenças como a demência de Alzheimer, necessitamos do seu consentimento para a realização de uma avaliação neuropsicológica, ou seja, testes para avaliar memória e outras funções cognitivas. Os resultados destes testes serão avaliados em conjunto com a análise genotípica realizada pela coleta de sangue dos pacientes.

Esta pesquisa poderá possibilitar uma melhoria da compreensão do processo de envelhecimento do ser humano, o que por sua vez permitirá melhorar o atendimento e o aconselhamento prestados a pessoas idosas assistidas pelos programas públicos e privados de saúde.

**Termo de consentimento**

Ao aceitar participar desta pesquisa, fui informado que poderei a qualquer momento recusar-me a continuar, retirando meu consentimento sem sofrer qualquer penalização. Fui informado que o protocolo experimental consistirá basicamente em uma avaliação neuropsicológica e que tais procedimentos não comprometerão minhas atividades cotidianas. Responderei algumas perguntas sobre os medicamentos que estou usando e como faço o tratamento recomendado, mas terei plena liberdade de me recusar a responder caso eu não queira. Fui informado(a) ainda que este trabalho não oferecerá riscos expressivos à minha saúde, já que não realizarei movimentos anormais, não terei mudança da minha rotina, não entrarei em contato com quaisquer substâncias nocivas, nem terei qualquer instrumento introduzido em meu corpo. A equipe do projeto se responsabilizou por prestar esclarecimentos a mim a qualquer momento da pesquisa.

O pesquisador garantiu sigilo sobre minha identidade, pois os dados ficarão sob sua guarda, não sendo permitido acesso por pessoas não relacionadas à pesquisa, sendo ainda a melhor conduta para preservação da minha integridade física.

Assim, por meio deste documento, dou meu consentimento à exploração dos dados coletados por este projeto de pesquisa, do qual participarei voluntariamente.

Brasília, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Nome do paciente

\_\_\_\_\_  
Assinatura do paciente

\_\_\_\_\_  
Assinatura do profissional que prestou informações

***Responsáveis: Psicóloga Juliana Quintas e Prof. Otávio Nóbrega.***

*Termo de consentimento livre e esclarecido*

*Campus Universitário Darcy Ribeiro  
Av. L2 604/605 Norte, Brasília - DF*

*Fone: 0xx61 3448-5269  
e-mail: cmi@unb.br*



## **Anexo D**

### **Roteiro de entrevista realizada nos pacientes**

**Data da Entrevista:** \_\_\_\_\_

**Nome do Paciente:** \_\_\_\_\_

**Data de Nascimento:** \_\_\_\_\_

**Gênero:** ( ) masculino ( ) feminino

**Escolaridade (em anos):** \_\_\_\_\_

**Estado Civil:** \_\_\_\_\_

**Está em uso de algum remédio?** ( ) sim ( ) não

**Quais?** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Há quanto tempo?** \_\_\_\_\_

**Há déficit visual ou auditivo significativo?** ( ) sim ( ) não

**Distúrbio do sono não tratado?** ( ) sim ( ) não

**Outras condições ativas que podem interferir no bom estado global de saúde do paciente?**

( ) câncer ( ) epilepsia ( ) imobilidade ( ) acidente vascular encefálico

**Paciente preencheu algum critério de exclusão para esta pesquisa?**

( ) sim ( ) não

**Qual?** \_\_\_\_\_

## **Anexo E**

### **Escala de Depressão Geriátrica (versão simplificada)**



QUESTIONÁRIO DE ANAMNESE -  
CENTRO DE MEDICINA DO IDOSO – HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA

ESCALA DE DEPRESSÃO GERIÁTRICA  
(de Sheikh e Yesavage, 1986 - Versão curta)

Nome: ..... Data: .....

1	Você se considera globalmente satisfeito com sua vida?	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
2	Você tem abandonado muitas de suas atividades e interesses?	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
3	Você tem a sensação de que sua vida está vazia?	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
4	Você se aborrece com freqüência?	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
5	Você habitualmente está de bom humor?	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
6	Você tem medo de que algo ruim possa lhe acontecer?	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
7	Você se sente feliz na maior parte do tempo?	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
8	Você se sente freqüentemente sem ajuda, desamparado?	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
9	Você prefere ficar em casa ao invés de sair e fazer coisas novas?	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
10	Você acha que sua memória é pior do que a das outras pessoas?	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
11	Você acha maravilhoso viver nos dias de hoje?	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
12	Você atualmente se sente sem valor?	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
13	Você se sente cheio de energia?	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
14	Você se julga sem esperança em relação a sua situação atual?	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
15	Você acha que a maioria das pessoas vive melhor do que você?	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim

Contar 1 ponto para cada resposta com conotação depressiva (col. da direita), 0 para as outras

Pontuação total: \_\_\_\_ / 15

**Interpretação:**

De 0 a 5 pontos: exame normal

De 5 a 10 pontos: indícios de quadro depressivo leve

Acima de 11 pontos: provável depressão severa.

Referência: Yesavage J, Brink T, Rowe T, et al: Development and validation of a geriatric depression screening scale. J. Psychiatr Res 17:37, 1983.

## **Anexo F**

### **Mini-Exame do Estado Mental (MEEM)**

## Mini-mental (Folstein, Folstein & McHugh, 1975)

Paciente: \_\_\_\_\_

Data de avaliação: \_\_\_\_\_

### Orientação

- 1) Dia da Semana (1 ponto) ( )
- 2) Dia do Mês (1 ponto) ( )
- 3) Mês (1 ponto) ( )
- 4) Ano (1 ponto) ( )
- 5) Hora aproximada (1 ponto) ( )
- 6) Local específico (andar ou setor) (1 ponto) ( )
- 7) Instituição (residência, hospital, clínica) (1 ponto) ( )
- 8) Bairro ou rua próxima (1 ponto) ( )
- 9) Cidade (1 ponto) ( )
- 10) Estado (1 ponto) ( )

### Memória Imediata

Fale três palavras não relacionadas. Posteriormente pergunte ao paciente pelas 3 palavras. Dê 1 ponto para cada resposta correta. ( )

Depois repita as palavras e certifique-se de que o paciente as aprendeu, pois mais adiante você irá perguntá-las novamente.

### Atenção e Cálculo

(100-7) sucessivos, 5 vezes sucessivamente (93,86,79,72,65) ( )

### Evocação

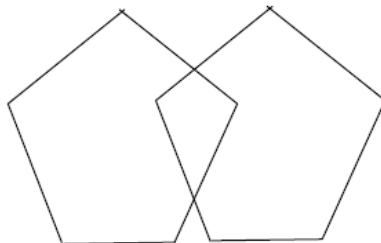
Pergunte pelas três palavras ditas anteriormente ( )

### Linguagem

- 1) Nomear um relógio e uma caneta (2 pontos) ( )
- 2) Repetir "nem aqui, nem ali, nem lá" (1 ponto) ( )
- 3) Comando: "pegue este papel com a mão direita, dobre ao meio e coloque no chão (3 pontos) ( )
- 4) Ler e obedecer: "feche os olhos" (1 ponto) ( )
- 5) Escrever uma frase (1 ponto) ( )
- 6) Copiar um desenho (1 ponto) ( )

Score: (\_\_\_ /30)

**COPIE O DESENHO**



## **Anexo G**

### **Folha de respostas do teste Pares Associados I e II da Escala de Memória Wechsler (MCP e MLP)**

Memória – Escala de Memória Weschler – **PARES ASSOCIADOS I E II**

PALAVRA	PAR	1ª TENTATIVA	TIPO	EVOCÇÃO TARDIA	TIPO
1) ROSA	FLOR		F		F
2) METAL	FERRO		F		F
3) ESCOLA	DROGARIA		D		D
4) REPOLHO	CANETA		D		D
5) BEBÊ	CHORO		F		F
6) ESPREMER	ESCURO		D		D
7) OBEDECER	CENTÍMETRO		D		D
8) FRUTA	MAÇA		F		F

PALAVRA	PAR	2ª TENTATIVA	TIPO
1) FRUTA	MAÇA		F
2) ROSA	FLOR		F
3) METAL	FERRO		F
4) REPOLHO	CANETA		D
5) OBEDECER	CENTÍMETRO		D
6) ESCOLA	DROGARIA		D
7) ESPREMER	ESCURO		D
8) BEBÊ	CHORO		F

PALAVRA	PAR	3ª TENTATIVA	TIPO
1) OBEDECER	CENTÍMETRO		D
2) REPOLHO	CANETA		D
3) ROSA	FLOR		F
4) ESCOLA	DROGARIA		D
5) ESPREMER	ESCURO		D
6) BEBÊ	CHORO		F
7) METAL	FERRO		F
8) FRUTA	MAÇA		F

Iniciais do paciente: \_\_\_\_\_  
 Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ 1ª Hora: \_\_\_\_/\_\_\_\_ 2ª Hora: \_\_\_\_/\_\_\_\_



## **Anexo H**

### **Teste de Dígitos da Bateria de Inteligência Wechsler (WAIS-III)**

**(DDireto, DInverso, DTotal)**

DATA: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Iniciais do paciente: \_\_\_\_\_

Dígitos ordem direta			Pontos tentativa 1 (0 ou 1)	Pontos Item (0,1 ou 2)
1.	1	1-7		
	2	6-3		
2.	1	5-8-2		
	2	6-9-4		
3.	1	6-4-3-9		
	2	7-2-8-6		
4.	1	4-2-7-3-1		
	2	7-5-8-3-6		
5.	1	6-1-9-4-7-3		
	2	3-9-2-4-8-7		
6.	1	5-9-1-7-4-2-8		
	2	4-1-7-9-3-8-6		
7.	1	3-8-2-9-5-1-7-4		
	2	5-8-1-9-2-6-4-7		
8.	1	2-7-5-8-6-2-5-8-4		
	2	7-1-3-9-4-2-5-6-8		
Total de pontos Ordem Direta (máximo = 16)			Total de pontos	

Dígitos ordem Inversa			Pontos na tentativa 2 (0 ou 1)	Pontos no Item (0, 1 ou 2)
1.	1	2-4		
	2	5-7		
2.	1	4-1-5		
	2	6-2-9		
3.	1	3-2-7-9		
	2	4-9-6-8		
4.	1	1-5-2-8-6		
	2	6-1-8-4-3		
5.	1	5-3-9-4-1-8		
	2	7-2-4-8-5-6		
6.	1	8-1-2-9-3-6-5		
	2	4-7-3-9-1-2-8		
7.	1	7-2-8-1-9-6-5-3		
	2	9-4-3-7-6-2-5-8		
Total de pontos Ordem Inversa (máximo = 14)			Total de pontos	

**Score total: Dígitos diretos + inverso:**

## **Anexo I**

### **Folha de Resposta do teste Torre de Hanói**

## Torre de Hanói

O movimento de tirar uma peça e colocá-la num pino (ainda que fosse o mesmo pino) é contado como um movimento. O erro é considerado o não cumprimento das regras (mexer mais de uma peça por vez ou colocar uma maior sobre uma menor). Mexer a peça no pino, sem tirá-la não foi computado.

<b>Torre de Hanói</b>	
No. Peças/treino	
No. peças	
Tempo (HanóiT em segundos)	
No. Movimentos (Hanói M)	
Erros (HanóiE)	
<b>Torre de Hanói</b>	
No. Peças/treino	
No. peças	
Tempo (HanóiT em segundos)	
No. Movimentos (HanóiM)	
Erros (HanóiE)	
<b>Torre de Hanói</b>	
No. Peças/treino	
No. peças	
Tempo (HanóiT em segundos)	
No. Movimentos (HanóiM)	
Erros (HanóiE)	

**Iniciais do paciente:** \_\_\_\_\_

**Data:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

## **Anexo J**

**Modelo da tabela de resultados gerada pelo teste tempo de reação  
simples e modelo de configuração utilizado (TEVA)**

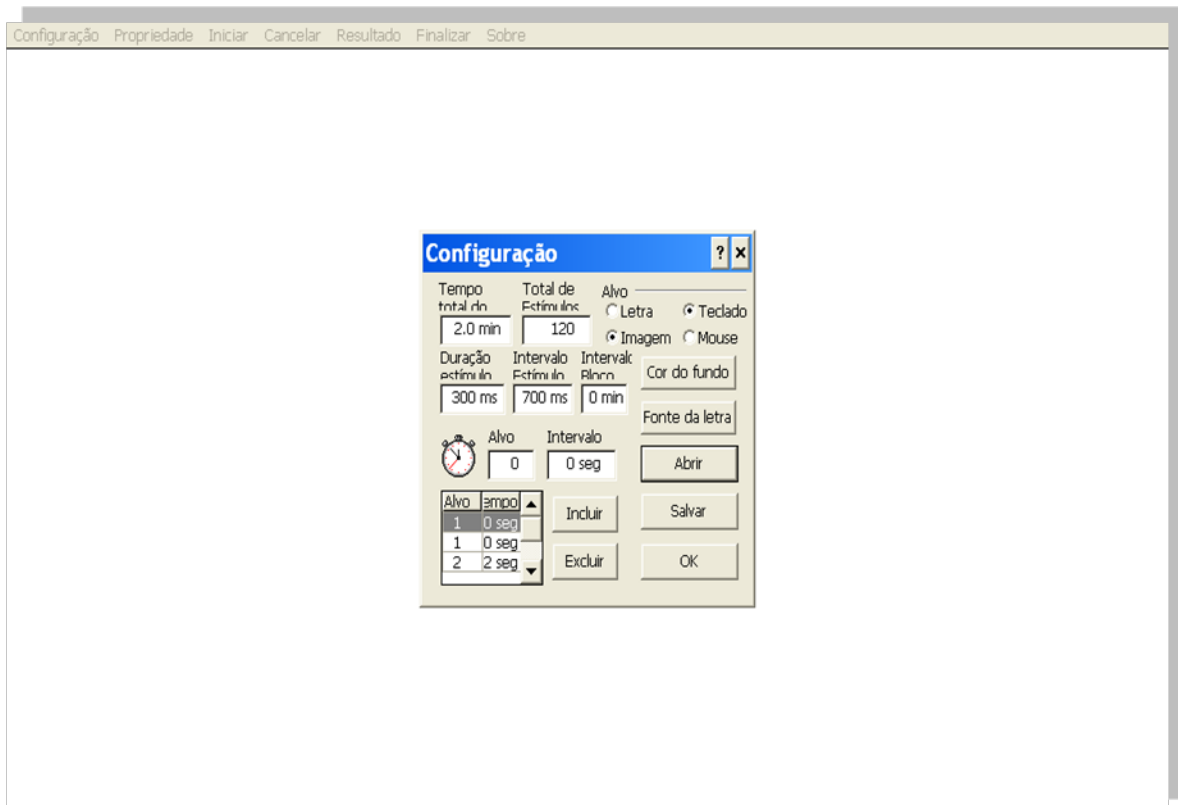
Sujeito: AB06

Experimento:

Data: 04/05/11 Horário: 15:25:08 as 15:27:14

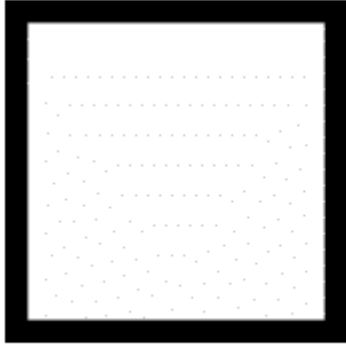
INTERV	TENT	T(seg)	ACERTO	TR(ms)	pFA
0'	1	21.078	1	485	0.000
0'	2	33.703	1	547	0.000
0'	3	75.515	1	468	0.000
0'	4	88.172	1	563	0.000
0'	5	94.422	1	532	0.000
0'	6	100.547	1	360	0.000
0'	7	0.000	0	0	0.000
0'	8	113.234	1	484	0.000

ACERTO	xTR(ms)	xpFA
88%	491	0.009

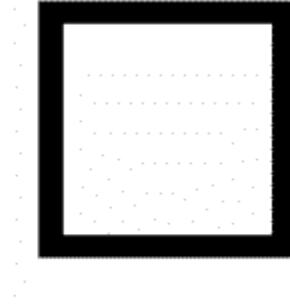


## **Anexo K**

**Cópia do desenho de estímulo e não estímulo do teste TEVA**



Alvo



Não-alvo



