

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
ESCOLA DE ENFERMAGEM E FARMÁCIA
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**NÍVEIS PLASMÁTICOS E ERITROCITÁRIOS DE SELÊNIO EM IDOSOS COM
ALZHEIMER: UM ESTUDO CASO-CONTROLE**

CARLOS QUEIROZ DO NASCIMENTO

**MACEIÓ
2019**

CARLOS QUEIROZ DO NASCIMENTO

**NÍVEIS PLASMÁTICOS E ERITROCITÁRIOS DE SELÊNIO EM IDOSOS COM
ALZHEIMER: UM ESTUDO CASO-CONTROLE**

Dissertação apresentada à Escola de Enfermagem e Farmácia da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador(a): **Profa. Dra. Sabrina Joany Felizardo Neves**
Escola de Enfermagem e Farmácia
Universidade Federal de Alagoas

Co-Orientador(a): **Prof Dr João Araújo Barros-Neto**
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas

**MACEIÓ
2019**

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico Bibliotecária
Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale – CRB4 - 661

N244n Nascimento, Carlos Queiroz do.
Níveis plasmáticos e eritrocitários de selênio em idosos com Alzheimer : um estudo caso-controle / Carlos Queiroz do Nascimento. – 2019.
62 f. : il.

Orientadora: Sabrina Joany Felizardo Neves.
Coorientador: João Araújo Barros Neto.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Alagoas. Escola de Enfermagem e Farmácia. Maceió, 2019.

Bibliografia: f. 46-52.
Apêndices: f. 53-57.
Anexos: f. 58-62.

1. Doença de Alzheimer. 2. Idosos. 3. Selênio. I. Título.

CDU: 615.3:616-053.9



Ata de Exame de Dissertação

Aos vinte e cinco dias do mês de janeiro de 2019, às dez horas, reuniu-se no Auditório Vera Rocha da ESENFAR-UFAL, a banca examinadora composta pelas docentes doutoras e pelos docentes doutores, Sabrina Joany Felizardo Neves, João Araújo Barros Neto, Alfredo Dias de Oliveira Filho e Nassib Bezerra Bueno, para o Exame de defesa da dissertação intitulada: "Níveis plasmáticos e eritrocitários de selênio em idosos com Alzheimer: Um estudo caso-controlado", elaborada pelo Mestrando Carlos Queiroz do Nascimento, regularmente matriculado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Nível Mestrado, sob a orientação da Profa. Dra. Sabrina Joany Felizardo Neves, que presidiu os trabalhos. Após apresentação por 30 minutos, o mestrando foi arguido pela banca. Em seguida, reunidos em sessão secreta às 11:42 horas, os examinadores emitiram o seguinte parecer: _____

Aprovado

Nada mais havendo a tratar, a sessão foi encerrada às _____ horas e eu, Daniel de Brito Ricarte, Secretário do PPGCF, Curso de Mestrado, lavrei a presente ata que segue assinada pela Banca Examinadora e pelo Mestrando. Maceió, 25 de janeiro de 2019

Presidente (Orientadora): Profa. Dra. Sabrina Joany Felizardo Neves

Sabrina Joany Felizardo Neves

Co-orientador: Prof. Dr. João Araújo Barros Neto

João Araújo Barros Neto

Examinador Interno: Prof. Dr. Alfredo Dias de Oliveira Filho

Alfredo Dias de Oliveira Filho

Examinador Externo: Prof. Dr. Nassib Bezerra Bueno

Nassib Bezerra Bueno

Mestrando: Carlos Queiroz do Nascimento

Carlos Queiroz do Nascimento

AGRADECIMENTOS

Agradeço, inicialmente, a Deus por me permitir concretizar mais uma realização profissional com o afinho e a determinação sempre presentes em outras jornadas. À minha família, pelo apoio e paciência dispensados durante este período da minha vida. Agradeço imensamente ao meu co-orientador Professor Dr. João Araújo Barros Neto, maior incentivador para que eu iniciasse mais uma trajetória de vida acadêmica. À minha orientadora Sabrina Joany, serei eternamente grato por me acolher como seu orientando, transmitir seus conhecimentos e ensinar-me a ser um pesquisador. Tenho certeza de que fiz a melhor escolha para traçar este árduo caminho. Destino os meus sinceros agradecimentos aos alunos de Iniciação Científica que fizeram parte desta pesquisa, em especial aos alunos do curso de nutrição, Janaína, Nathália e Thainá. Ao Hospital Universitário Alberto Antunes HUPAA/UFAL por me permitir entrar em suas dependências e utilizar de seus acervos. A Universidade Federal da Bahia - UFBA estarei sempre grato pela acolhida e análise de todo o material desta pesquisa. Por fim, à Universidade Federal de Alagoas, mais precisamente a Faculdade de Nutrição e a Escola de Enfermagem e Farmácia, por permitirem a nossa entrada como pesquisadores, contribuindo, dessa forma, para um melhor entendimento do evento estudado nesse grupo social. A todos os colegas e aos amigos que fiz durante o Mestrado. Enfim, agradeço a todos que, de alguma forma, ajudaram-me a concluir este trabalho.

NASCIMENTO, C. Q. **Níveis plasmáticos e eritrocitários de selênio em idosos com Alzheimer: Um estudo caso-controle.** Dissertação (Mestrado) – Escola de Enfermagem e Farmácia. Universidade Federal de Alagoas. Maceió-AL, 2019.

RESUMO

Introdução: Distúrbios nutricionais constituem-se importantes fatores de risco capazes de intensificar ou favorecer o aparecimento da Doença de Alzheimer (DA). **Objetivo:** Analisar as concentrações plasmáticas e eritrocitárias de selênio entre idosos com e sem o diagnóstico da doença de Alzheimer. **Metodologia:** Trata-se de um estudo tipo caso-controle, realizado com um grupo de idosos com Alzheimer e outro sem o diagnóstico da doença. Os grupos foram formados por idosos acompanhados no ambulatório de Geriatria do Hospital Universitário Prof. Alberto Antunes e ambulatório de Nutrição para os Idosos da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas. O diagnóstico de Alzheimer foi estabelecido por médico especialista, respeitando os critérios NINCDS - ADRDA. As concentrações plasmáticas e eritrocitárias de Selênio total (Se) foram realizadas por meio da espectrofotometria de absorção atômica. As análises estatísticas foram realizadas utilizando software SPSS, versão 20.0. **Resultados:** A pesquisa foi formada por 34 idosos com Alzheimer e 68 idosos sem o diagnóstico da doença, sendo a maioria mulheres em ambos os grupos. A média de idade foi de $74,41 \pm 7,1$ anos, no grupo caso e de $68,46 \pm 5,1$ anos no grupo controle ($p = 0,010$). O grupo de idosos com Alzheimer apresentou menores concentrações de selênio plasmático com média igual a $45,29 \pm 14,51 \mu\text{g/dL}$ vs. $55,14 \pm 14,01 \mu\text{g/dL}$ ($p = 0,004$) e menores concentrações de selênio intraeritrocitários com mediana igual a $56,36 \mu\text{g/L}$ (Min: $40,64 \mu\text{g/L}$; Máx: $93,99 \mu\text{g/L}$) vs. $76,96 \mu\text{g/L}$ (Min: $26,33 \mu\text{g/L}$; Máx: $141,04 \mu\text{g/L}$) ($p < 0,001$). Em modelo de regressão linear multivariada, foi observado correlação positiva entre as concentrações eritrocitárias de selênio e a capacidade cognitiva avaliada pelo MEEM. Análise de regressão logística apontou para associação entre as concentrações eritrocitárias de selênio e a DA. Identificou-se uma redução de aproximadamente 2,5% da chance do idoso ter DA (OR = 0,975; $p = 0,028$; IC 95% = 0,953 – 0,997) a cada aumento de $1 \mu\text{g/L}$ de selênio intracelular. **Conclusão:** Nas condições da presente pesquisa, os pacientes com Doença de Alzheimer apresentaram menores concentrações de selênio nos compartimentos avaliados.

Palavras-chaves: Selênio. Doença de Alzheimer. Idosos.

NASCIMENTO, C. Q. **Plasm and erythrocytes concentrations of selenium in Alzheimer Disease: A case-control study**. Dissertation (Masters) – Escola de Enfermagem e Farmácia. Universidade Federal de Alagoas. Maceió-AL, 2018.

ABSTRACT

Introduction: Nutritional disorders are important risk factors capable of enhancing or favoring the appearance of Alzheimer's Disease (AD). **Objective:** To analyze plasma and erythrocyte levels of selenium among the elderly with and without the diagnosis of Alzheimer's disease. **Methodology:** This is a case-control study, carried out with one group of elderly people with Alzheimer's disease and another without the diagnosis of the disease. The groups were formed by elderly people accompanied at the Geriatrics outpatient clinic of the University Hospital Prof. Alberto Antunes and outpatient clinic of Nutrition for the Elderly of the Faculty of Nutrition of the Federal University of Alagoas. The diagnosis of Alzheimer's was established by a specialist doctor, respecting the criteria NINCDS - ADRDA. Plasma and erythrocyte concentrations of total selenium (Se) were performed by means of atomic absorption spectrophotometry. Statistical analyzes were performed using SPSS software, version 20.0. **Results:** The study consisted of 34 elderly people with Alzheimer's disease and 68 elderly patients without the diagnosis of the disease, with the majority of women in both groups. The mean age was 74.41 ± 7.1 years in the case group and 68.46 ± 5.1 years in the control group ($p = 0.010$). The elderly Alzheimer group had lower concentrations of plasma selenium with a mean of $45.29 \pm 14.51 \mu\text{g} / \text{dL}$ vs. $55.14 \pm 14.01 \mu\text{g} / \text{dL}$ ($p = 0.004$) and lower concentrations of selerium intraeritrocitaries with median equal to $56.36 \mu\text{g} / \text{L}$ (Min: $40.64 \mu\text{g} / \text{L}$; $76.96 \mu\text{g} / \text{L}$ (Min: $26.33 \mu\text{g} / \text{L}$, Max: $141.04 \mu\text{g} / \text{L}$) ($p < 0.001$). In a multivariate linear regression model, a positive correlation was observed between erythrocyte selenium concentrations and the cognitive capacity assessed by MMSE. Logistic regression analysis indicated an association between erythrocyte selenium concentrations and AD. A reduction of approximately 3.5% of the chance of having an AD (OR = 0.975, $p = 0.028$, 95% CI = 0.953-0.997) was identified at each increase of $1 \mu\text{g} / \text{L}$ of intracellular selenium. **Conclusion:** Under the conditions of the present study, patients with Alzheimer's Disease had lower concentrations of selenium in the compartments evaluated.

Key-words: Selenium. Alzheimer's disease. Elderly.

Lista de Tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Valores referidos para o cálculo do tamanho amostral utilizando os dados de entrada e considerando-se o estudo do tipo caso-controle não pareado..... | 28 |
| Tabela 2 – Perfil socioeconômico, estilo de vida, condições de saúde e estado nutricional de idosos com e sem Doença de Alzheimer. Maceió – Alagoas, 2017..... | 37 |
| Tabela 3 – Coeficientes regressores lineares para capacidade cognitiva avaliada pelo instrumento de rastreio Mini Exame do Estado Mental (MEEM) em idosos com e sem doença de Alzheimer (DA). Maceió – Alagoas, 2017..... | 40 |

Lista de Quadro e Figuras

| | |
|--|----|
| Quadro 1 – Variáveis investigadas nesta pesquisa..... | 33 |
| Figura 1 – Concentração de selênio plasmático de idosos com e sem Alzheimer. Maceió – Alagoas, 2017..... | 38 |
| Figura 2 – Concentração de selênio eritrocitário de idosos com e sem Alzheimer. Maceió – Alagoas, 2017..... | 39 |

Lista de Abreviações

AA – Associação de Alzheimer

DA – Doença de Alzheimer

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DPd – Desvio Padrão da Diferenças

DRI – Ingestão Dietética de Referência

DSM – IV – Manual de Diagnóstico e Estatística das Perturbações Mentais

EAR – Estimated Average Requirement

ENDEF – Estudo Nacional de Despesa Familiar

GLM – Modelos Lineares Generalizados

GSH-Px – Glutationa Peroxidase

HSe – Selenido

HUPAA – Hospital Universitário Alberto Antunes

Id – Ingestão Diária

IMC – Índice de Massa Corporal

MEEM – Mini Exame do Estado Mental

NFκ-B – Fator Nuclear Kappa B

NIA – Instituto Nacional sobre Envelhecimento

NINC-ADRA – Protocolo para diagnóstico de Alzheimer

NOX – Número de Oxidação

PEPTÍDEO-Aβ - Beta amiloides

PSEN1 – presenilina

PSEN2 – proteína

RR – Risco Relativo

Se – Selênio

Se₃²⁻ – Selenito

Se₄²⁻ - Selanato

SePP – Selenoproteína-P

SeC – Selenocisteína

SeMet – Selenometionína

SPSS – Statistical Package for Social Science

TrxR – Tioredoxina Redutase

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. Introdução | 13 |
| 2. Revisão da Literatura | 16 |
| Envelhecimento Populacional e Doença de Alzheimer: Aspectos Epidemiológicos..... | 16 |
| Aspectos Fisiopatológicos e Diagnóstico da Doença de Alzheimer..... | 17 |
| Estresse Oxidativo e Doença de Alzheimer..... | 20 |
| Selênio: Importância Clínica e Nutricional para Saúde..... | 22 |
| Selênio e Doença de Alzheimer..... | 23 |
| 3. Problemas e Hipóteses | 26 |
| 4. Objetivos | 27 |
| 5. Casuística e Métodos | 28 |
| <i>História da Dissertação</i> | 28 |
| <i>Tipo de Estudo</i> | 28 |
| <i>Tamanho da Amostra</i> | 28 |
| <i>População do Estudo</i> | 29 |
| <i>Critérios de Inclusão e Exclusão</i> | 30 |
| <i>Fonte e Coleta de Dados</i> | 31 |
| <i>Protocolo da Coleta</i> | 33 |
| <i>Variáveis Investigadas</i> | 34 |
| <i>Processamento e Análise de Dados</i> | 35 |
| 6. Resultados | 37 |
| 7. Discussão | 42 |
| 8. Conclusão | 45 |
| 9. Referências | 46 |
| Anexos e Apêndices | 53 |

INTRODUÇÃO

O envelhecimento humano é um fenômeno complexo, com o acúmulo de mudanças fisiológicas ocasionadas pelo tempo que conduzem o indivíduo a uma maior vulnerabilidade às doenças crônicas não transmissíveis (PANZIEIRA et al., 2011) e traz consigo problemas que desafiam o sistema de saúde (MIRANDA et al., 2016). Dentre esses problemas, as demências, termo usado para o grupo de doenças crônicas que se relacionam com perda de memória e comprometimento cognitivo geral, têm incapacitado idosos em todo o mundo por levarem à perda da independência e quase inevitavelmente, da autonomia (BENEDETTI, 2008).

A Doença de Alzheimer (DA), forma mais comum de demência, é caracterizada por distúrbio progressivo da memória e outras funções, afetando o funcionamento ocupacional com prevalência de 48 milhões de pessoas em todo o mundo (DOBSON, 2015). A idade é o principal fator de risco, sua prevalência passa de 0,7% dos 60 a 64 anos de idade para cerca de 40% nos grupos etários de 90 a 95 anos (FORLENZA, 2005).

Muitas teorias foram sugeridas para explicar o processo de envelhecimento. Dentre as mais aceitas, está a teoria baseada no estresse oxidativo, um desequilíbrio causado quando as defesas antioxidantes estão quantitativamente ou qualitativamente impossibilitadas de neutralizar a produção e os efeitos de moléculas oxidantes. O estresse oxidativo teria influência decisiva sobre o envelhecimento humano, ocasionando danos a lipídios, proteínas e DNA, que vão se acumulando ao longo dos anos, produzindo injúrias celulares e teciduais e, assim, levando ao envelhecimento do organismo e ao desenvolvimento de doenças, entre elas, a DA (PANZIEIRA et al., 2011).

Outros fatores, além da idade, podem favorecer a ocorrência de danos ao sistema nervoso central do idoso, dentre eles o estresse oxidativo que parecem estar relacionados com a maior ocorrência de lesões em regiões cerebrais responsáveis pela cognição e pode levar à inativação enzimática, mutação, ruptura de membrana e à apoptose (CERQUEIRA, 2007).

O estresse oxidativo desempenha um papel central na iniciação e progressão da DA. O cérebro é particularmente vulnerável ao dano oxidativo devido à sua elevada taxa de utilização de oxigênio; alto conteúdo de lipídios poliinsaturados que são susceptíveis à peroxidação lipídica (CHMATALOVA et al., 2017). Além disso, o processo de envelhecimento implica mudanças morfológicas e fisiológicas no cérebro, resultando em maior produção de ERO e diminuição da capacidade antioxidante (CHMATALOVA et al., 2017; CARDOSO et al., 2014).

Atualmente as evidências disponíveis sugerem que a deficiência de vitaminas antioxidantes como vitamina A e E, além de alguns minerais como o Zn e o Se esteja associada a declínios de cognição, possivelmente por algum mecanismo oxidativo, no qual os antioxidantes provenientes da dieta atuariam como fatores de proteção contra tais doenças (REDDY et al., 2017).

As associações entre dieta, especialmente a baixa ingestão de antioxidantes, e declínio cognitivo são fortemente sugeridas em estudos epidemiológicos e ensaios de intervenção, embora seja difícil estabelecer se a dieta é um fator primário. No entanto, entre fatores de risco modificáveis, a nutrição parece ser o fator mais importante porque o estado nutricional pode alterar outros fatores de risco (BARBOSA et al., 2017; VAN DYK & SANO, 2007).

Por outro lado, as desordens cognitivas e de comportamento podem comprometer a nutrição, tais como dificuldades de mastigação e deglutição, de deslocamentos para o preparo das refeições e desordens comportamentais que tornam os idosos distraídos e lentos durante as refeições, comprometendo hábitos alimentares adequados, podendo acarretar perda de peso, déficit nutricional, menor ingestão de macro e micronutrientes e comprometimento do sistema de defesa antioxidante dependente da ingestão desses componentes exógenos (MACHADO et al., 2009).

Segundo Miranda et al. (2016), existe uma necessidade urgente de desenvolver tratamentos eficazes e estratégias de prevenção da doença ao longo de todo o curso da vida.

O selênio é um importante nutriente na DA devido às suas múltiplas funções. Como antioxidante, ele protege o dano celular mediado pelo estresse oxidativo através de uma série de selenoproteínas, principalmente glutathiona peroxidase (GSH-Px) e selenoproteína P, as quais impedem a formação de radicais livres protegendo o organismo da agressão oxidativa (REDDY et al. 2017; SOLOVYEV et al., 2018).

Apesar da existência de metanálises sobre este tema, os resultados dos estudos disponíveis sobre os níveis plasmáticos de selênio em DA são inconsistentes, pois enquanto alguns estudos mostraram que os pacientes com DA têm níveis mais baixos de selênio plasmático (CARDOSO et al., 2014; GERHARDSSON et al., 2008), outros relataram de forma contrária um aumento ou nenhuma mudança (PAGLIA et al., 2016; KOÇ et al., 2015; GONZÁLEZ-DOMÍNGUEZ et al., 2014). É importante destacar que, mesmo sem significância estatística, a maioria dos estudos apresentam menores concentrações de selênio plasmático no grupo DA quando comparados ao grupo controle, entretanto, o plano amostral dessas pesquisas tende a respeitar a proporcionalidade de 1 caso para cada controle (1:1), além de apresentar um pequeno número de sujeitos em suas amostras, podendo comprometer

a sensibilidade dos testes estatísticos em estudos caso-controle com amostras pequenas.

As avaliações das concentrações eritrocitárias ainda são insuficientes. Atualmente só foram encontrados dois artigos com análise de selênio intraeritrocitário, mas que diferem no método das análises e nos resultados encontrados.

Dessa forma, conhecer as concentrações orgânicas de selênio em idosos portadores da DA é necessário para um melhor entendimento de possíveis associações entre a atividade desse nutriente no processo de desenvolvimento e progressão da doença. Sendo assim, o objetivo desse estudo foi analisar as concentrações plasmáticas e eritrocitárias de selênio entre idosos com e sem o diagnóstico da doença de Alzheimer.

REVISÃO DA LITERATURA

Envelhecimento populacional e Doença de Alzheimer: Aspectos epidemiológicos

O envelhecimento humano é um fenômeno complexo, com o acúmulo de mudanças fisiológicas ocasionadas pelo tempo que conduzem o indivíduo a uma maior vulnerabilidade a doenças, principalmente às doenças crônicas não transmissíveis e, com isso, ao desenvolvimento de incapacidades associadas a esse processo (CAVALCANTI & ENGELHARDT, 2012; PANZIEIRA et al., 2011).

A mudança na pirâmide etária mundial faz com que o estudo do envelhecimento e da velhice seja foco de atenção, suscitando ações de agentes sociais e governamentais, além de profissionais da área da saúde. Depressão e demência têm incapacitado idosos em todo o mundo por levarem à perda da independência e quase inevitavelmente, da autonomia (BENEDETTI, 2008)

A medida em que a população idosa cresce ocorre o aumento da incidência de demências em todo o mundo. Atualmente observamos aproximadamente 48 milhões de pessoas com demência. Acredita-se que até 2050 serão mais de 135 milhões de pessoas ao redor do mundo (REDDY et al., 2017). Diversos fatores podem favorecer ao desenvolvimento da síndrome demencial, sendo a DA e a isquemia cerebrovascular as duas causas mais importantes (BIGUETI et al., 2018; INSTITUTO ALZHEIMER BRASIL, 2012).

A sua crescente incidência e a natureza incurável da Doença de Alzheimer representam um dos maiores desafios para os sistemas globais de cuidados à saúde do idoso (DODSON et al., 2015). Atualmente, 10% dos idosos com idade superior a 65 anos possuem diagnóstico para a DA, enquanto que após aos 80 anos essa prevalência está em torno dos 40% de idosos, sendo, portanto, a idade o seu maior fator de risco e estima-se que a incidência desta entidade nosológica seja de 100 mil novos casos por ano (MIRANDA et al., 2016).

A DA é clinicamente caracterizada por déficits cognitivos progressivos e irreversíveis e alterações comportamentais que afetam memória e capacidade de aprendizagem, atividades da vida diária e qualidade de vida. O principal fator de risco para o desenvolvimento de DA é o envelhecimento, embora alguns fatores de risco genéticos também sejam conhecidos (HU et al., 2013). A doença cerebrovascular, diabetes, hipertensão, tabagismo, obesidade e dislipidemias foram sugeridos como fatores de risco para a DA (SCHRIJVERS et al., 2010; ROSENDORFF et al., 2007).

No Brasil, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística estimou que em 2012 a DA já afetava em torno de 1,2 milhões de pessoas e no mesmo ano, o Instituto Alzheimer Brasil

estimou que surgia um caso novo de DA a cada cinco segundos (IBGE, 2012; INSTITUTO ALZHEIMER BRASIL, 2012).

Por outro lado, a melhor qualidade de vida e estilo de vida saudável estão associados a menores taxas de demência. Do mesmo modo, atividades mentalmente estimulantes, como maiores anos de estudo, atividades sociais e produtivas também desempenham papéis importantes na prevenção da doença (ROSENDORFF et al., 2007).

Como os tratamentos farmacológicos para DA são limitados, o investimento em terapias e tecnologias para prevenção tem apresentado interesse pelo governo e pela indústria farmacêutica (MIRANDA et al., 2016), uma vez que o contexto epidemiológico da DA tem levado, conseqüentemente, ao aumento dos custos e do cuidado aos seus portadores. Na América do Norte, por exemplo, a DA é terceira doença de maior custo, chegando a custar US\$ 36 bilhões por ano aos Estados Unidos (GUTIERREZ et al., 2014). Nos países em desenvolvimento, como o Brasil, esses custos podem sobrecarregar os serviços de saúde. Deste modo, consideramos fundamental o direcionamento de maior atenção à doença para elaboração e execução de planos de enfrentamento (INSTITUTO ALZHEIMER BRASIL, 2012).

Aspectos fisiopatológicos e diagnóstico da Doença de Alzheimer

A DA é definida como uma desordem degenerativa, progressiva e irreversível, caracterizada por uma perda gradual da função cognitiva e distúrbios comportamentais. A idade, parece ser o principal fator de risco, pois mais da metade dos casos da doença são diagnosticados em pessoas com idade igual ou superior a 65 anos (SANTOS et al., 2014). Entretanto outros fatores estão associados ao maior risco para DA, como traumatismo cranioencefálico, sexo feminino, etnia caucasiana e a aterosclerose (SCHRIJVERS et al., 2010; ROSENDORFF et al., 2007).

Internacionalmente, a progressão da DA pode ser classificada em três estágios: inicial, moderado e severo. No primeiro estágio, o paciente tem dificuldade em pensar com clareza, ocorre a perda da memória, alterações de humor e personalidade, observa-se ainda uma redução concomitante no desempenho em tarefas complexas. No estágio moderado, a afasia é evidente, observa-se dificuldade de executar atividades de rotina (como andar sozinho), ineficiência na nomeação de objetos ou para escolher a palavra certa para expressar uma idéia, necessitando de monitoramento constante e a memória fica ainda mais prejudicada. No estágio severo, há mudanças no ciclo sono-vigília, o indivíduo perde a sua capacidade motora,

apresenta alterações de comportamento (agressividade, inquietação) e sintomas psicóticos. Observa-se ainda nesta fase incontinência urinária, fecal e dificuldade para se alimentar, andar e falar. Os indivíduos tornam-se estritamente dependentes dos cuidadores (QUERFURTH & LAFERLA, 2010; HERRERA-RIVERO et al., 2010).

No Brasil, O Ministério da Saúde incluiu mais uma fase no estadiamento dessa doença, a fase terminal, na qual o portador da doença perde por completo a sua capacidade motora, memórias e lembranças, ficando restrito ao leito. A morte geralmente ocorre entre 3 e 9 anos após o início dos sintomas (BIGUETI et al., 2018).

Considerada como uma doença neurodegenerativa, a DA pode levar à morte neuronal e à perda sináptica em regiões cerebrais responsáveis pelas funções cognitivas, especialmente a memória (DODSON et al., 2015). Esta diminuição de grupamentos neuronais de áreas do córtex e subcórtex, parecem contribuir para os sintomas da demência (CUMMINGS et al., 1998). Há também formação de placas senis, resultantes do depósito amiloide nos vasos sanguíneos e acúmulo de lipofuscina, substância cuja concentração aponta para o envelhecimento e o tempo de vida dos neurônios. Assim, a diminuição na quantidade de neurônios e a formação de placas senis levam à redução das sinapses, resultando em demência progressiva e irreversível (MORAES et al., 2010).

Alterações genéticas também podem ser responsáveis por aumentar o risco para DA, mesmo que em menor incidência. A importância da genética na expressão fisiopatológica da doença de Alzheimer pode ser identificada em exemplos, além das mutações genéticas e polimorfismos. A história familiar é um fator de risco para a demência (HERRERA et al., 2002). As mutações genéticas associadas a DA estão localizadas no cromossomo 14 (prenilin1 – PSEN1), no cromossomo 1 (prenilin2 - PSEN2) e no cromossomo 21 (precursor da proteína betaamiloide - APP) (ARRUDA et al., 2014).

A formação de emaranhados neurofibrilares e de placas senis, secundários a redução das células cerebrais e ao acúmulo do peptídeo beta-amilóide (A β), torna impossível a intercomunicação no cérebro e as conexões sinápticas existentes (CAVALCANTI et al., 2012). Os emaranhados neurofibrilares são formados em sua maioria pela hiperfosforilação da proteína Tau, responsável por estabilizar os microtúbulos nos neurônios do sistema nervoso central. Quando ocorre algum tipo de defeito nesta proteína há desestabilização dos microtúbulos, afetando a morfologia dos neurônios (PAULA et al., 2009). A hiperfosforilação da proteína Tau, proteína inicialmente em concentração benéfica no cérebro, desencadeia o sequestro de outras proteínas Tau em condições normais e algumas proteínas ligadas aos

microtúbulos. Esta situação ocasiona falhas no transporte e sinalização celular feitos pelos axônios, reduz a função neural e estimula inflamação (SERENIKI et al., 2008).

As placas senis ocorrem pela agregação e acúmulo do peptídeo-A β , um fragmento peptídico neurotóxico, derivado da clivagem de uma proteína transmembrana neuronal, a proteína precursora amiloide que, por sua vez, é clivada por secretases gama e beta. O acúmulo do peptídeo-A β são capazes de bloquear rapidamente o mecanismo de formação de novas memórias, alterando a plasticidade sináptica (LACOR et al., 2004).

Estudos sugerem que o peptídeo-A β possam causar problemas cognitivos por interromperem a função sináptica na ausência de neurodegeneração significativa, além de alterar a estrutura e a função sináptica e comprometerem a transmissão pós-sináptica (MARCELO et al., 2012; SHENG et al., 2012).

O estresse oxidativo também pode estar associado à fisiopatologia da DA assim como de outras desordens neurodegenerativas e resulta de um desequilíbrio entre os níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS) e os mecanismos antioxidantes endógenos, que causa comprometimento estrutural e funcional das células neuronais pela degradação de lipídios, proteínas e ácidos nucleicos e, em última análise, resulta em morte celular (NUNOMURA, 2013 ; PADURARIU et al., 2013; REYNOLDS et al., 2007).

O diagnóstico da DA por vezes é tardio devido aos sintomas da doença estarem relacionados a alguns sintomas do envelhecimento. Com o progredir da doença a sintomatologia da DA fica cada vez mais grave e clara e o diagnóstico mais evidente (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA ALZHEIMER, 2012).

Segundo critérios do DSM-IV, um dos critérios para o diagnóstico de DA é a presença de déficits em alguma outra função cognitiva, além da memória. Deste modo, admite-se que as alterações possam ocorrer em outras funções como linguagem, funções executivas, habilidades visuais (espaciais ou perceptivas) e não necessariamente só memória (ALBERT et al., 2011; FROTA et al., 2011).

Além dos critérios do DSM-IV ou do CID-10, outros critérios propostos pelo Instituto Nacional sobre Envelhecimento (National Institute on Aging - NIA) e o da Associação do Alzheimer (Alzheimer's Association - AA) também podem ser utilizados, sendo este mais específico e por isso mais frequentemente utilizados em estudos científicos. Nestes casos, a Demência de Alzheimer pode ser diagnosticada levando em consideração a quantidade de informação sobre o paciente, podendo ser estabelecido três níveis de certeza em relação ao

diagnóstico: possível, provável e definitivo (JACK et al., 2011; MCKHANN et al., 2011).

Os critérios do diagnóstico possível para DA caracterizam-se por vários aspectos: o profissional de saúde não possui dados suficientes da história do paciente (instalação e evolução da doença) ou quando a doença cursa de forma atípica com instalação abrupta (distintamente do que é esperado para a DA) ou, ainda, quando se tem evidências de outras comorbidades importantes, ficando impreciso estabelecer a causa real. O diagnóstico provável é quando se tem uma história mais precisa em relação ao curso insidioso da doença, excluindo maiores comorbidades, bem como evidências de exame de imagens do cérebro, tanto estruturais quanto funcionais. O diagnóstico definitivo, embora possa ser realizado em vida através de uma biópsia do tecido cerebral, geralmente é feito *post-mortem*. É por intermédio de evidências histopatológicas que se atesta a certeza máxima do diagnóstico, ou seja, o diagnóstico definitivo para DA (MCKHANN et al., 2011).

Atualmente, pesquisadores defendem que a alteração da memória não é mais condição necessária para diagnóstico da DA, podendo existir apresentações não amnéticas no início da doença, como alterações de funções executivas, linguagem e habilidades visuais (FROTA et al., 2011; MCKHANN et al., 2011).

Estresse oxidativo e Doença de Alzheimer

Dentre os fatores que podem favorecer danos ao sistema nervoso central do idoso, o estresse oxidativo de biomoléculas parece estar relacionado com a maior ocorrência de lesões em regiões cerebrais responsáveis pela cognição e pode levar à inativação enzimática, mutação, ruptura de membrana e à morte celular (BATTIROLA, 2010).

O estresse oxidativo decorre da existência de um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes em favor dos primeiros. Tal processo conduz a oxidação de biomoléculas com consequente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático cuja manifestação é o dano oxidativo (BARBOSA, 2008). A oxidação é indispensável à vida aeróbica e, dessa forma, os radicais livres são produzidos naturalmente. Essas moléculas geradas *in vivo* estão envolvidas na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes. Além disso, os radicais livres reagem com DNA, RNA, proteínas e outras substâncias oxidáveis, tais reações metabólicas apresentam-se potencialmente tóxicas ao organismo humano (FREIRE, 2012).

A NADPH oxidase (NOX) é uma das principais enzimas envolvidas no processo de estresse oxidativo. A sua superexpressão é induzida pela ativação microglial no cérebro em condições agudas e crônicas (BLOCK et al., 2007; WU et al., 2003). A NOX parece desempenhar um papel na DA, especialmente pela ação da NOX2, que tem sua expressão induzida pela presença de placas de peptídeos-A β que estimulam a ativação de NOX microglial e a produção de superóxido (WILKINSON et al., 2012), que por sua vez leva à disfunção mitocondrial, clivagem de ácidos nucleicos e proteólise (NUNOMURA et al., 2013; NUNOMURA et al., 2012).

Observa-se então uma relação direta entre o comprometimento do desempenho cognitivo de pacientes com AD e o aumento da atividade de NOX (ANSARI & SCHEFF, 2012).

A glutathiona peroxidase (GSH-Px) é um importante agente antioxidante, sendo uma enzima-chave no mecanismo defensivo endógeno contra os radicais livres (CHEN & BERRY, 2003). O seu principal papel é proteger as células das espécies reativas de oxigênio (ERO's) através da inativação de peróxidos de hidrogênio e hidroperóxidos lipídicos originados durante o metabolismo oxidativo (ARTHUR, 2000). Consequentemente, a diminuição da atividade de GSH-Px leva ao dano tecidual e à morte celular devido a ação prejudicial e exacerbada dos radicais livres.

O mecanismo de ação GSH-Px baseia-se na capacidade redox de grupos tiol de glutathiona e na redução catalítica de peróxidos, inorgânicos (peróxido de hidrogênio) ou orgânicos (peróxidos lipídicos). O seu funcionamento é dependente do selênio (CEBALLOS-PICOT et al., 1996), e uma baixa ingestão dietética deste elemento altera a atividade de GSH-Px (ARTHUR, 2000).

Selênio: Importância clínica e nutricional para saúde

O Selênio (Se) é um mineral fundamental para manutenção da homeostase orgânica, presente em aproximadamente 10mg Se/60kg de peso corporal, este mineral atua sobre defesa imune, glândula tireoidea e funções cardiovasculares e prevenção de algumas doenças crônicas (THOMSON et al., 2009). Como apresentado anteriormente, o Se age como um componente antioxidante, trabalhando em combinação com o GSH-Px. Eles protegem os lipídios catalisando a redução de peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos de fosfolípidos gerados *in vivo* por ERO's (GAMBLE et al., 1997).

Pode apresentar-se naturalmente na sua forma inorgânica, metálica (Se⁰), oxianions (selenito – Se₃²⁻, ou selenato – Se₄²⁻) ou em compostos orgânicos, selenocisteína (SeC) e

selenometionina (SeMet), análogos aos aminoácidos sulfurados cisteína e metionina (SUZUKI, 2005; BURK & LEVANDER, 2003).

Em condições normais, este mineral é facilmente absorvido e armazenado em músculos, eritrócitos, pâncreas, fígado, rins, cérebro e pele. Quando na forma de selenometionina, o selênio pode ser metabolizado nos processos de síntese e degradação da metionina, independente da necessidade orgânica de selênio ou pode ser armazenado sob as formas de selenoproteínas, GSH-Px e Selenoproteína P (WEEKS, HANNA & COOPERSTEIN *et al.*, 2012; CASTRO, 2007). A primeira é estocada no fígado e, diferente da selenometionina, a deficiência na ingestão de selênio pode predispor redução em sua síntese, comprometendo a resposta imunológica antioxidante. A selenoproteína P é encontrada principalmente no plasma. Neste compartimento corporal podemos encontrar ainda 20 a 30% do selênio orgânico sob a forma de GSH-Px ou ligado a lipoproteínas de baixa densidade e de muito baixa densidade (ARTHUR, MCKENZIE, BECKETT, 2003; BURK & LEVANDER, 2003).

Quando compostos inorgânicos de selênio são reconhecidos no organismo humano, estes são transformados em selenido (HSe^-) nos eritrócitos pela glutathione, transportados para o fígado. Por outro lado, as formas orgânicas de selênio são transformadas em selenido por meio de clivagem reduzida da ligação Cisteína-Se por uma reação enzimática de liase. Uma vez formado o selenido, metabólito intermediário comum, este composto segue para a síntese de selenoproteínas ou serão excretados após serem gradualmente metilados (SUZUKI, 2005; ALMONDES *et al.*, 2010).

As funções do selênio estão comumente voltadas a sua participação em processos do sistema antioxidante, ligados a selenoproteínas, especialmente a GPx, à tioredoxina redutase (TrxR) e à selenoproteína P, atuando diretamente na proteção celular contra os danos provocados pela atividade dos radicais livres (HOFFMANN *et al.*, 2007; ALMONDES *et al.*, 2010).

Atualmente, já foram descritas oito isoenzimas glutathionas no organismo humano, destas, cinco (GPx1, GPx2, GPx3, GPx4 e GPx6) são selenoproteínas, as quais apresentam especificidades a substratos diferentes e com expressões tecido-específicas (KRYUKOV *et al.*, 2003; WEEKS, HANNA & COOPERSTEIN *et al.*, 2012).

As selenoenzimas da TrxR, semelhantes a GPx, são também capazes de reduzir peróxidos de hidrogênio e hidroperóxidos de lipídeos e tem como principal função não

somente catalisar a redução da tioredoxina, mas também reduzir outros substratos como a Vitamina C (GROMADZINSKA *et al.*, 2008). A selenoproteína P é a maior forma de selênio no plasma e atua como antioxidante reduzindo peroxinitritos e hidroperóxidos de fosfolipídeos ou formam complexos com mercúrio e cádmio (SUZUKI, 2005).

Dentre as principais funções do selênio no organismo humano, podemos citar sua importante atuação no sistema imunológico auxiliando na manutenção da integridade de membrana das células do sistema imune; proliferação de linfócitos T e síntese de imunoglobulinas; e inibição da transcrição do fator nuclear kappa B (NFκ-B) limitando assim a resposta inflamatória (CASTRO, 2007; HOFFMANN *et al.*, 2007).

Este oligoelemento tem sido relacionado com diversas doenças crônicas não transmissíveis devido a sua importante função nos diversos compartimentos corporais e na manutenção da homeostasia orgânica. Dentre as atividades deste essencial nutriente da alimentação humana podemos citar a redução do estresse oxidativo, redução da inflamação, detoxificação, melhora da resposta imune, inativação da proteína C reativa, dentre diversas outras funções (HOLBEN & SMITH, 1999; ALARCÓN-NAVARRO & MARTINEZ, 2000; THOMAS, GEIGER & GIROTTI, 1993; SCHRAUZER, 2000).

Algumas evidências sugerem que a deficiência nutricional parece contribuir para o desenvolvimento de condições neuropatológicas. Apesar de controversos, a maior parte dos estudos em humanos revelam o importante papel do selênio na participação da prevenção e tratamento de distúrbios cerebrais, isolados ou em combinação com outros elementos e descrevem uma correlação direta entre a concentração plasmática reduzida de Se e o declínio da função cognitiva em pacientes com DA quando comparados a indivíduos saudáveis (SANMARTIN *et al.*, 2011; OLDE RIKKERT *et al.*, 2014); CARDOSO *et al.*, 2010; VURAL *et al.*, 2010).

O uso de suplementos nutricionais enriquecidos com selênio pode ser uma estratégia interessante para a prevenção da doença, entretanto, consideramos importante relatar que a utilização de fontes alimentares *in natura* ou minimamente processados deve ser estimulados e priorizados ao invés de práticas alternativas de suplementação, uma vez que, além de mais acessíveis e sustentáveis, ainda apresentam maior biodisponibilidade e menor risco de toxicidade (FINLEY, 2005).

Selênio e Doença de Alzheimer

Estudos que avaliam a relação entre níveis de Se e declínio cognitivo sugerem que a

falta de Se pode aumentar o risco de demência, entretanto, os resultados de vários estudos são contraditórios. Smorgon et al. (2004), em estudo do tipo coorte, ao avaliar a associação entre alguns micronutrientes e o declínio cognitivo, dentre eles o selênio, perceberam diferenças entre os grupos. Tais pesquisadores encontraram uma correlação positiva entre a concentração plasmática de selênio e a função cognitiva e o grupo de pacientes com Alzheimer apresentou menores concentrações plasmáticas deste mineral. Entretanto, consideramos importante destacar que esse estudo contou com uma amostra muito pequena de idosos em ambos os grupos (n Alzheimer = 8; n controle = 11). Do mesmo modo, Cardoso et al. (2010) e Vural et al. (2010) também verificaram que os pacientes com AD apresentaram níveis mais baixos de Se do que idosos saudáveis.

O fornecimento de Se às células do sistema nervoso central depende de uma proteína transportadora principal, denominada selenoproteína-P (SePP) que é responsável por até 60% da concentração plasmática total de Se. O papel da SePP como transportadora está relacionado à sua capacidade de ligação a dez resíduos de selenocisteína e à sua localização extracelular. Assim, Se entra no cérebro através de uma interação entre SePP e um receptor, sendo posteriormente liberado para a síntese de selenoproteínas intracelulares (ZHANG et al., 2010; FAIRWEATHER et al., 2011).

Acredita-se que a síntese de SePP ocorre no cérebro e em seguida é secretado no líquido cefalorraquidiano, onde se associa com células neuronais ou permanece disponível para outros tecidos, atuando como um suprimento de selênio (REDDY et al., 2017).

Recente estudo identificou a presença de SePP agregada a placas de pepitídeos-A β e a emaranhados neurofibrilares, levantando duas hipóteses: SePP pode atuar de forma direta como antioxidante ou indiretamente transportando Se para a síntese de outras selenoproteínas antioxidantes, como a GSH-Px, cujo a principal função é a eliminação de peróxidos de hidrogênio e hidroperóxidos (GARCIA et al., 2009; ZHANG et al., 2010).

Alguns estudos sugerem que o declínio cognitivo esteja associado a uma diminuição da atividade da glutatona (VURAL et al, 2010; PARUDARIU et al., 2013).

Meta-análises publicadas recentemente, identificaram que os níveis plasmáticos de selênio e outros nutrientes antioxidantes estão reduzidos em pacientes com DA (DE WILDE et al., 2017; REDDY et al., 2017). Entretanto, apesar de observar menores concentrações eritrocitárias de selênio, devido ao número reduzido de estudos que realizou esta análise (apenas dois artigos) e a heterogeneidade dos dados, não foi observado diferença estatística neste compartimento orgânico (REDDY et al., 2017).

Estudos sugerem que melhor adesão a dietas saudáveis como a dieta do mediterrâneo,

rica em alimentos fontes de antioxidantes, está associada à redução do risco de desenvolvimento DA (VAN DE REST et al., 2015).

PROBLEMAS E HIPÓTESES

Pergunta norteadora da pesquisa

Existe diferença na concentração plasmática e eritrocitária de Selenio total (Se) em idosos com e sem Doença de Alzheimer?

Hipótese:

As concentrações plasmáticas e eritrocitárias de selênio diferem em pacientes com DA quando comparados a um grupo sem esse diagnóstico clínico.

OBJETIVOS

Objetivo Geral:

Analisar as concentrações plasmáticas e eritrocitárias de selênio entre idosos com e sem o diagnóstico da doença de Alzheimer.

Objetivos Específicos:

- Analisar características clínicas e sociodemográficas de idosos com e sem a Doença de Alzheimer;
- Determinar os níveis plasmáticos e eritrocitários de selênio em ambos os grupos e compará-los;
- Identificar possíveis associações entre concentrações orgânicas de selênio e capacidade cognitiva dos idosos de ambos os grupos.

MÉTODOS

Histórico da dissertação

Esta pesquisa é parte integrante de um projeto maior denominado “Avaliação da fragilidade celular, composição corporal e níveis plasmáticos de antioxidantes em idosos com doença de Alzheimer”, aprovado em edital PPSUS - MS/CNPq/FAPEAL/ SESAU-AL que contou como a participação de 4 estudantes de graduação; 1 médico geriatra, 1 Nutricionista, 1 Enfermeiro e 1 Professor do curso de Nutrição.

Aprovada em 2016, a coleta de dados foi iniciada em abril do mesmo ano. Entretanto, um projeto piloto foi realizado no período de março a abril de 2016 e teve como objetivo testar o protocolo e as etapas desta pesquisa para posterior adequação.

Neste piloto foi aplicado o protocolo da pesquisa para 10 pacientes, sendo 5 com diagnóstico de Alzheimer e 5 saudáveis. Após realização do projeto piloto, ajustes foram realizados no protocolo da pesquisa e em seguida prosseguiu-se com a coleta de dados.

Tipo de estudo

Trata-se de estudo exploratório e observacional do tipo caso-controle não pareado.

Tamanho da amostra

Como trata-se de um estudo do tipo caso-controle não pareado, foi utilizado para o cálculo do tamanho amostral o método proposto por Lwanga & Lemeshow (1991) e Schesselman (1982). A tabela 1 apresenta os dados de entrada para o referido cálculo, bem como o nível de significância e o poder do teste escolhidos.

Tabela 1 - Valores referidos para o cálculo do tamanho amostral utilizando os dados de entrada e considerando-se o estudo do tipo caso-controle não pareado.

| Proporção dos expostos¹ | OR^{2,3} | No. de controles por caso | Nível de significância | Poder do teste | Teste de hipótese |
|---|-------------------------|----------------------------------|-------------------------------|-----------------------|--------------------------|
| 20,0% | 3,5 | 02 | 5,0% | 80,0% | Bicaudal |

¹Expostos entre os controles.

² Odds ratio.

³ Valor da OR observado no projeto piloto desse estudo.

Fonte: Nascimento, 2019.

Assim, o tamanho amostral para comparação de duas proporções, ou seja, a proporção de expostos entre os doentes e a proporção de expostos entre os não doentes em relação às menores concentrações eritrocitárias de selênio foi de 102 idosos a considerar a proporção de dois controles para cada caso, 34 pacientes no grupo caso e 68 pacientes no grupo controle.

População do estudo

A amostra foi composta por idosos acompanhados no Ambulatório de Geriatria do Hospital Universitário Professor Alberto Antunes/HUPAA e Ambulatório de Nutrição para o idoso da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas /UFAL no período de 05 abril de 2016 a 30 de julho de 2017.

O **grupo I** (caso) foi formado por idosos com diagnóstico clínico de Doença de Alzheimer que satisfizeram os critérios de inclusão do estudo (n = 34). O grupo com Doença de Alzheimer foi encaminhado para esta pesquisa por médico geriatra, após avaliação e diagnóstico da DA. O diagnóstico da doença poderia ser realizado no momento da admissão nesta pesquisa ou anteriormente a esta e o tempo de diagnóstico da doença foi contabilizado a partir do primeiro dia de registro do diagnóstico em prontuário médico.

O diagnóstico de provável Doença de Alzheimer foi realizado por médico geriatra, baseado nos critérios do *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS - ADRDA)* (MCKHANN et al., 2011).

Os critérios do diagnóstico possível para DA caracterizam-se por vários aspectos: o

profissional de saúde não possui dados suficientes da história do paciente (instalação e evolução da doença) ou quando a doença cursa de forma atípica com instalação abrupta (distintamente do que é esperado para a DA) ou, ainda, quando se tem evidências de outras comorbidades importantes, ficando impreciso estabelecer a causa real. O diagnóstico provável é quando se tem uma história mais precisa em relação ao curso insidioso da doença, excluindo maiores comorbidades, bem como evidências de exame de imagens do cérebro, tanto estruturais quanto funcionais. O diagnóstico definitivo, embora possa ser realizado em vida através de uma biópsia do tecido cerebral, geralmente é feito *post-mortem*. É por intermédio de evidências histopatológicas que se atesta a certeza máxima do diagnóstico, ou seja, o diagnóstico definitivo para DA (MCKHANN et al., 2011)

O **grupo II** (controle) foi formado por indivíduos saudáveis, composto preferencialmente por familiares dos pacientes ou por pessoas residentes na mesma região geográfica, de modo a reduzir possíveis vieses de influência socioambiental, desde que não possuam critérios para a DA, avaliados pelo mesmo médico geriatra, sendo recrutado dois controles para cada caso (n = 68).

Crítérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos nos dois grupos, indivíduos de ambos os sexos, com idade maior/igual a 60 anos. Para o grupo caso os critérios de inclusão foram: ter diagnóstico de Alzheimer confirmado por médico geriatra; não fazer uso de suplementação nutricional de selênio e não possuir doenças metabólicas reconhecidas por comprometer o metabolismo de selênio como doenças tireoidianas, doenças tumorais não controladas, cardiopatias, doença gastrointestinal crônica, doença renal e/ou insuficiência hepática.

Para o grupo controle, os critérios de inclusão foram: ser idoso; não possuir diagnóstico de Alzheimer e nenhum comprometimento cognitivo, avaliado por médico geriatra, seguido da avaliação cognitiva realizada pela equipe desta pesquisa por meio do instrumento de rastreio Mini-exame do Estado Mental (MEEM) (KOCHHAM et al. 2010); não fazer uso de suplementos de selênio e não possuir doenças metabólicas* reconhecidas por comprometer o metabolismo do selênio.

Foram excluídos idosos com deficiência física e/ou com doenças crônicas descompensadas e que pudessem comprometer as concentrações de selênio. Também foram excluídos os idosos que apresentaram algum déficit cognitivo ou suspeita de outros tipos de

demência, após avaliação geriátrica.

Operacionalização da Pesquisa

A) Fonte e Coleta de dados

Como instrumento de pesquisa foi utilizado um questionário, previamente estabelecido, aplicado durante a primeira consulta contendo informações como dados antropométricos, tempo de diagnóstico e classificação da doença de Alzheimer, características étnico-raciais (auto-referida), variáveis sociodemográficas, além das concentrações plasmáticas e eritrocitárias de selênio. Todas as perguntas foram respondidas com auxílio do cuidador/a ou familiar dos idosos com diagnóstico da Doença de Alzheimer, enquanto que no grupo controle os próprios idosos responderam a todos os questionamentos da pesquisa.

Para a obtenção do peso foi utilizada uma balança digital, com capacidade para 200 kg e precisão de 50 g. O procedimento de pesagem foi realizado com balança calibrada em zero, o paciente trajando roupas leves, descalço, e com a bexiga vazia. Para a pesagem, ele permaneceu em pé sobre a plataforma da balança com o peso do corpo igualmente distribuído entre os pés. Foram realizadas duas medidas, sendo considerada a média das duas. A variação permitida entre as duas medidas foi de 0,1 kg (LOHMAN, 1993).

A estatura foi obtida por meio do estadiômetro portátil (Sanny[®] - São Paulo/SP, Brasil), graduado em décimos de centímetros, afixado a uma superfície plana. O paciente foi medido descalço, vestindo o uniforme padrão do hospital, sem chapéu, adereços ou gorro. O paciente foi posicionado verticalmente com braços estendidos ao longo do corpo, ombros relaxados com os calcanhares juntos, e a cabeça posicionada no plano de Frankfurt. Calcanhares, nádegas omoplatas e dorso da cabeça em contato com a superfície vertical do instrumento. Antes da leitura da medida, o paciente foi posicionado firmemente, enquanto a haste móvel do estadiômetro foi deslocada até a parte superior da cabeça. A medida foi registrada com aproximação de 0,5 cm. Foram realizadas duas medidas. A altura registrada na ficha de avaliação do estado nutricional correspondeu à média das duas medidas (LOHMAN, ROACHE, MARTORELL *et al.*, 1992).

O índice de massa corporal (IMC), foi calculado pela razão entre o peso e o quadrado da altura, seguiu os critérios de Lipschitz, 1994, que considera eutrofia IMC entre 22 e 27kg/m²; magreza IMC <22kg/m² e excesso de peso IMC >27kg/m².

A avaliação da capacidade cognitiva, em ambos os grupos, foi realizada por meio do MEEM que é um instrumento largamente utilizado para o rastreio de perda cognitiva ou avaliação cognitiva de beira de leito e fornece informações sobre diferentes parâmetros cognitivos. Contém 11 questões agrupadas em sete categorias, cada uma delas planejada com o objetivo de avaliar as seguintes "funções" cognitivas específicas: orientação temporal (5 pontos), orientação espacial (5 pontos), registro de três palavras (3 pontos), atenção e cálculo (5 pontos), recordação das três palavras (3 pontos), linguagem (8 pontos) e capacidade construtiva visual (1 ponto) (KOCHHAM et al., 2010).

O escore do MEEM pode variar de um mínimo de 0 ponto, o qual indica o maior grau de comprometimento cognitivo dos indivíduos, até um total máximo de 30 pontos, o qual, por sua vez, corresponde a melhor capacidade cognitiva. Entretanto, como a performance dos indivíduos no MEEM é influenciada por sua escolaridade, serão classificados com déficit cognitivo, baseado em um estudo brasileiro, os indivíduos cujas pontuações neste teste estejam abaixo de 18, para pessoas com escolaridade de até 8 anos, e abaixo de 26 para indivíduos com escolaridade superior a 8 anos (KOCHHAM et al., 2010).

Para as dosagens de selênio foram coletados 18mL de sangue no laboratório de análises clínicas do HUPAA/UFAL, com os participantes em jejum de no mínimo 8h. Utilizados tubos com anticoagulante (citrato de sódio a 30 %) para obtenção do plasma. O sangue foi separado por centrifugação a 3.000 rpm durante 15min para obtenção do plasma e transferido para tubos de polipropileno com capacidade de 1mL. Após a retirada do plasma foi obtida a massa eritrocitária que foi lavada com solução salina a 9% e centrifugada em 10.000 rpm por 10min (procedimento repetido por 3 vezes). Em seguida a massa eritrocitária foi extraída e armazenada a -80°C.

As concentrações plasmáticas de Se foram determinadas por espectrofotometria de absorção atômica em forno grafite, com correção Zeeman (marca VARIAN® - Sandiego/California, Estados Unidos). As condições de calibração do aparelho para análise selênio foram:

- Lâmpada de cátodo oco para selênio;
- Comprimento de onda (λ): 196,0nm;
- Corrente da lâmpada: 290 mA;
- Fenda: 2,0 nm;

Foi utilizado como modificador de matriz o *Paladium*. O limite de detecção do método foi de inferior a 10 mg/L, a precisão (11%) e imprecisão (1%). As amostras foram

diluídas na proporção de 1:4 com HNO₃ a 0,2% + 0,2% de TRITON. Todas as amostras foram analisadas em duplicata.

A determinação de selênio eritrocitário, consistiu inicialmente na digestão da massa de eritrócitos. Para isso, foram adicionados 2mL de HNO₃ concentrado e 500 µL de H₂O₂ às alíquotas de plasma e de eritrócitos previamente colocadas em beakers de vidro. Esses tubos foram mantidos em repouso durante a noite e, no dia seguinte, colocados em chapa de aquecimento cuja temperatura foi aumentada gradativamente de 50°C para 110°C por um período médio de duas horas. Após a volatilização completa do material orgânico, as soluções foram avolumadas para 5mL com água deionizada e submetidas à leitura diretamente no GTA 120, utilizando-se o *Paladium* (Pd) e o Mg(NO₃)₂ como modificador de matriz (200 µL de Pd e 125 µL do Mg(NO₃), diluídos em 400µL de HNO₃ a 0,2%). Os resultados foram expressos em µg/L.

As condições de trabalho e calibração do espectrofotômetro foram as mesmas utilizadas para análise de selênio no plasma.

Essas análises foram realizadas no laboratório de toxicologia da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia por meio de parceria firmada entre os pesquisadores desse estudo.

O ponto de corte utilizados para avaliação dos níveis plasmáticos de selênio foi 46 – 143µg/dL. Por ainda não existir consenso sobre o ponto de cortes para selênio eritrocitários, a análise de frequência desta variável foi realizada agrupando os valores encontrados para a concentração deste oligoelemento no compartimento intracelular, em quartis. Os resultados das concentrações eritrocitárias de selênio foram expressos em µg/L.

B) Protocolo de Coleta

O paciente foi convidado a participar desta pesquisa por médico ou enfermeiro durante a consulta com geriatra, após identificação do diagnóstico em casos de pacientes novos no ambulatório ou imediatamente após confirmação do diagnóstico, em casos de pacientes já acompanhados e com diagnóstico previamente registrado em prontuário.

Após aceite, era realizado a leitura e obtida assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). No mesmo dia, ou em dia agendado conforme disponibilidade do paciente era realizado entrevista por um entrevistador previamente capacitado para a aplicação dos formulários da pesquisa. Todas as perguntas foram respondidas com auxílio do

cuidador/a ou familiar dos idosos com diagnóstico da Doença de Alzheimer, enquanto que no grupo controle os próprios idosos responderam a todos os questionamentos da pesquisa.

Imediatamente após a identificação dos casos – grupo I, foram selecionados os controles – grupo II, formado por familiares, parentes ou indivíduos residentes nas mesmas condições socioeconômicas dos indivíduos com Alzheimer, na proporção de 2 controles para cada caso.

Após realização da primeira entrevista, era agendado, em um prazo máximo de 1 semana, a data para coleta das amostras de material biológico (sangue) para análise de selênio plasmático e eritrocitário. A coleta acontecia no Laboratório de Análises Clínicas do HUPAA, uma parte da amostra permanecia neste laboratório para análise de exames necessários para afastar doenças listadas nos critérios de exclusão, e outra parte da amostra seguia para centrifugação e separação de plasma e eritrócitos, os quais foram congelados para posterior análise.

Variáveis investigadas

Nesse estudo foram estudadas as variáveis apresentadas no quadro 1.

Quadro 1 - Variáveis investigadas nesta pesquisa.

| Variável | Pontos de corte | Referência |
|-----------------------------|---|---|
| Sexo | - | - |
| Idade | > 60 anos | Lei 10.741/2003. Estatuto do idoso. |
| Escolaridade | > 5 anos de estudo; ≤ 5 anos de estudo | Definido nesse estudo |
| Estado civil | - | - |
| Renda | 1 SM (R\$ 937,00) | Governo Federal do Brasil |
| IMC | 22 – 27 kg/m ² | LIPSCHITZ, 1994 |
| Diagnóstico de hipertensão | Registro médico conforme 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão. | Prontuário médico. Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2016. |
| Diagnóstico de dislipidemia | Registro médico conforme Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Prevenção de aterosclerose. | Prontuário médico. Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2017. |
| Doenças ósseas | Registro médico. Diretriz da Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina. Osteoporose: Diagnóstico. | Prontuário médico. Associação Médica Brasileira, 2011. |
| Capacidade cognitiva (MEEM) | < 18 pontos, para pessoas com escolaridade de até 8 anos, e < 26 pontos para indivíduos com escolaridade superior a 8 anos. | KOCHHAM et al., 2010. |

| | | |
|--------------------------|---|-----------------------|
| Selênio plasmático | 46 – 143µg/dL | THOMSON, 2004 |
| Selênio eritrocitário | ≤ 1º quartil desta amostra (25,2 µg/L) | Definido nesse estudo |
| Diagnóstico de Alzheimer | Registro médico <i>com base nos critérios do NINCDS – ADRDA</i> | MCKHANN et al., 2011. |

Fonte: Nascimento, 2019.

Processamento e Análise de Dados

Os dados coletados foram organizados em banco de dados eletrônicos, por meio de digitação em planilha do Excel e em seguida foram transferidos para o processamento dos dados no software RStudio versão 1.1.463 (2018).

As análises estatísticas foram realizadas levando-se em consideração a natureza de distribuição de probabilidades das variáveis estudadas, bem como sua classificação e delineamento experimental. Foi fixado em 5% o nível de rejeição da hipótese de nulidade.

A análise descritiva dos dados foi realizada para caracterizar e apresentar os eventos estudados. Para as variáveis discretas/contagem foram calculadas as frequências absolutas (n) e relativas (%); e, para as variáveis contínuas, as medidas de tendência central (média ou mediana) e de dispersão/posição (desvio-padrão ou intervalos inter-quartis). Antes de prosseguir com as análises, também foi verificado o comportamento das variáveis quanto à normalidade de seus resíduos, com a aplicação do teste Kolmogorov-Smirnov com correção de Lilliefors.

As frequências esperadas e as observadas foram comparadas utilizando-se o teste Qui-Quadrado de Pearson ou teste de Barnard. A magnitude da associação entre as variáveis de exposição e desfecho foi avaliada através da Razão de chances/Razão dos Odds (OR) e seu respectivo IC_{95%}. A seleção de potenciais variáveis de exposição para a verificação de uma possível associação com a ocorrência da Doença de Alzheimer foi realizada, primeiramente, por meio de análises não-lineares (logit) bivariadas utilizando-se como ponto de corte para seleção um p-valor < 0,2, permanecendo no modelo final as variáveis com plausibilidade biológica para este estudo ou com p-valor < 0,05.

Para avaliar uma possível diferença significativa (p<0,05) para as variáveis Se plasmático e eritrocitário nos dois grupos delineados no presente estudo, adotou-se a estatística-teste t-Student e Mann-Whitney, respectivamente.

Para modelar a associação da Doença de Alzheimer em função das reservas corporais de selênio (concentrações séricas e eritrocitárias) e outras possíveis variáveis de confundimento, adotou-se o método GLM (modelos lineares generalizados; família “binomial”).

Para a escolha do modelo regressivo linear múltiplo que melhor atendesse ao referido estudo, adotou-se o método dos mínimos quadrados ordinários (MQO) na opção “*Backward*”. Assim, partiu-se de um modelo composto por todas as variáveis explicativas para o desfecho DA até obter-se um modelo melhor ajustado, respeitando-se os pressupostos de normalidade dos resíduos, homocedasticidade e ausência de multicolinearidade, além da qualidade do ajustamento pelo do coeficiente de determinação ajustado (R_{adj}^2).

Aspectos éticos

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas e aprovado sob parecer nº 432.659/2013. Todos os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

RESULTADOS

Características sociodemográficas, condições de saúde e estado nutricional

A amostra desta pesquisa foi formada por 34 idosos com Alzheimer e 68 idosos sem o diagnóstico da doença. Ambos os grupos foram formados em sua maioria por mulheres (64,7 e 77,9%, respectivamente), casadas ou em união estável (70,6 e 50,8%), não tabagistas (97,1 e 98,5%) (Tabela 2).

A média da idade no grupo de idosos com Alzheimer foi de $74,41 \pm 7,1$ anos e no grupo de idosos sem o diagnóstico da doença foi de $68,46 \pm 5,1$ anos. O tempo médio de diagnóstico da doença no grupo de idosos com DA foi de aproximadamente $8,4 \pm 3,3$ meses e nenhum dos idosos desta pesquisa foi classificado com nível severo da doença, sendo 15 (44,1%) classificados como DA leve e 19 (63,9%) moderado.

O número de anos de estudo associou-se com a presença da doença de Alzheimer, uma vez que a maioria dos idosos com Alzheimer estudou menos que 5 anos, enquanto que no grupo sem Alzheimer a maioria dos idosos estudou 5 anos ou mais ($\chi^2 = 7,09$; $p = 0,008$). Desse modo, o tempo de estudo \leq a 5 anos apresentou-se como fator de risco, aumentando em aproximadamente 3,2 vezes a chance do idoso ter a DA (Tabela 2).

Com relação às condições de saúde e estado nutricional, pode-se afirmar que os grupos foram semelhantes, não havendo diferença significativa nas frequências de idosos hipertensos, diabéticos ou com comprometimento do estado nutricional. Entretanto, no grupo de idosos sem DA, observou-se maior frequência de dislipidemias ($\chi^2 = 16,59$; $p < 0,001$), enquanto que maior frequência de relato de doenças ósseas (osteopenia/osteoporose) foi observada no grupo de idosos com Alzheimer ($\chi^2 = 0,020$; $p = 0,010$) (Tabela 2).

Tabela 2 - Perfil socioeconômico, estilo de vida, condições de saúde e estado nutricional de idosos com e sem Doença de Alzheimer. Maceió – Alagoas, 2017.

| | DA (n = 34) | | GC (n = 68) | | χ^2 | p-valor | OR | OR (IC _{95%}) |
|---------------------------|----------------|------|----------------|------|----------|---------------------|------|----------------------------|
| | n | % | n | % | | | | |
| Sexo | | | | | | | | |
| Homens | 12 | 35,3 | 15 | 22,1 | 2,04 | 0,153 ^a | 0,51 | 0,290 – 0,1286 |
| Mulheres | 22 | 64,7 | 53 | 77,9 | | | | |
| Renda | | | | | | | | |
| ≥ 1 SM | 24 | 70,6 | 39 | 57,3 | 1,68 | 0,195 ^a | 0,56 | 0,232 - 1,286 |
| < 1 SM | 10 | 29,4 | 29 | 42,7 | | | | |
| Escolaridade | | | | | | | | |
| > 5 anos de estudo | 10 | 29,4 | 39 | 57,4 | 7,09 | 0,008 ^a | 3,23 | 1,338 – 7, 785 |
| ≤ 5 anos de estudo | 24 | 70,6 | 29 | 42,6 | | | | |
| Estado civil | | | | | | | | |
| Casado/União estável | 24 | 70,6 | 40 | 58,8 | 1,34 | 0,247 ^a | 0,59 | 0,246 – 1,438 |
| Solteiro/divorciado/viúvo | 10 | 29,4 | 28 | 41,2 | | | | |
| HAS | | | | | | | | |
| Sim | 20 | 58,8 | 42 | 61,8 | 0,14 | 0,706 ^a | 0,85 | 0,366 – 1,977 |
| Não | 14 | 41,2 | 25 | 36,8 | | | | |
| DM | | | | | | | | |
| Sim | 9 | 26,5 | 10 | 14,7 | 2,07 | 0,150 ^a | 2,09 | 0,756 – 5,763 |
| Não | 25 | 73,5 | 58 | 85,3 | | | | |
| Dislipidemia | | | | | | | | |
| Sim | 6 | 17,6 | 41 | 60,3 | 16,59 | <0,001 ^a | 0,14 | 0,052 – 0,386 |
| Não | 28 | 82,4 | 27 | 39,7 | | | | |
| Doenças ósseas | | | | | | | | |
| Sim | 1 | 2,9 | 16 | 23,5 | 2,63 | 0,020 ^b | 0,10 | 0,012 – 0,778 |
| Não | 33 | 97,1 | 52 | 76,5 | | | | |
| Estado Nutricional | | | | | | | | |
| Baixo peso | 3 | 8,8 | 4 | 5,9 | -0,55 | 0,625 ^b | 1,10 | 0,683 – 0,429 |
| Eutrofia/ Excesso de peso | 31 | 81,2 | 64 | 94,1 | | | | |

^a Pearson's chi-squared test. [#] ^b Barnard Unconditional test.

DA = Doença de Alzheimer; GC = Grupo controle.

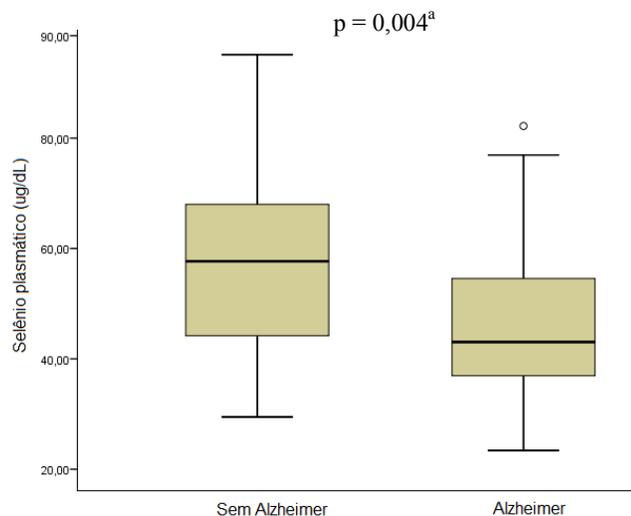
Fonte: Nascimento, 2019.

Concentrações plasmáticas e eritrocitárias de Selênio

Observou-se que o grupo de idosos com Alzheimer apresentou menores concentrações de selênio plasmático com média igual a $45,29 \pm 14,51 \mu\text{g/dL}$ vs. $55,14 \pm 14,01 \mu\text{g/dL}$ ($p = 0,004$). Em nível de eritrócitos, menores concentrações também foram observadas no grupo de idosos com o diagnóstico da doença, quando comparado ao grupo sem Alzheimer com mediana igual a $56,36 \mu\text{g/L}$ (Min: $40,64 \mu\text{g/L}$; Máx: $93,99 \mu\text{g/L}$) vs. $76,96 \mu\text{g/L}$ (Min: $26,33 \mu\text{g/L}$; Máx: $141,04 \mu\text{g/L}$) ($p < 0,001$) (**Figuras 1 e 2**).

A frequência de idosos classificados como deficientes em selênio, pelas concentrações plasmáticas, foi maior no grupo caso quando comparada a frequência do grupo controle ($60,60\%$ vs. $27,69\%$; $\chi^2 = 8,48$; $p = 0,004$). Do mesmo modo, a frequência de idosos agrupados no 1º quartil para as concentrações de selênio eritrocitário foi maior no grupo de idosos com Alzheimer ($51,51\%$ vs. $11,29\%$; $\chi^2 = 13,34$; $p < 0,001$).

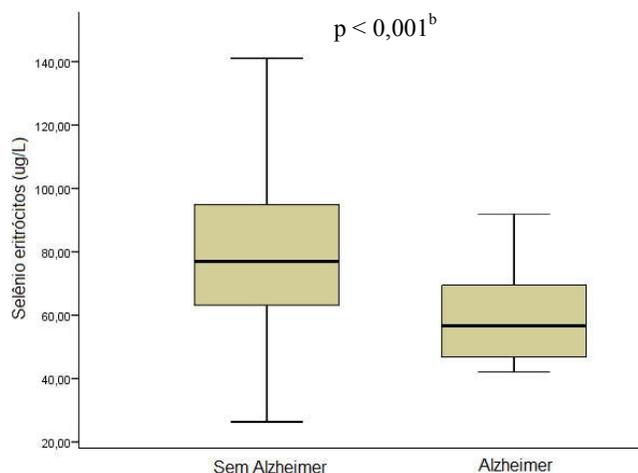
Figura 1 - Concentração de selênio plasmático nos idosos com e sem Alzheimer. Maceió – Alagoas, 2017.



^a Teste t – Student

Fonte: Nascimento, 2019.

Figura 2 - Concentração de selênio eritrocitário nos idosos com e sem Alzheimer. Maceió – Alagoas, 2017.



^b Teste de Mann-Whitney.

Fonte: Nascimento, 2019.

Associação/Correlação entre selênio, capacidade cognitiva e Doença de Alzheimer

Considerando que a pontuação obtida no MEEM, em cada grupo, apresentou-se com seus resíduos distribuídos numa curva normal de probabilidades foi realizada uma análise de regressão linear para explicar o efeito das concentrações plasmáticas e eritrocitárias de selênio na redução da capacidade cognitiva avaliada pelo MEEM, ajustada por idade, escolaridade e sexo (Tabela 3). A concentração plasmática de selênio não apresentou correlação com a capacidade cognitiva dos idosos. Entretanto, a concentração de selênio intraeritrocitária apresentou correlação positiva com a capacidade cognitiva avaliada pelo mini exame de estado mental em ambos os grupos e em todos os modelos.

O modelo de regressão logística, ajustado por idade e escolaridade foi proposto para identificar a associação dos achados desse estudo com a Doença de Alzheimer. Foram incluídos no modelo inicial as concentrações plasmáticas e eritrocitárias de selênio, diagnóstico clínico de diabetes, dislipidemias, doenças ósseas, renda e escolaridade.

Após exclusão de Se plasmático, diagnóstico clínico de dislipidemia, diabetes, doenças ósseas, renda e escolaridade, apenas a concentração de selênio intraeritrocitária, apresentou associação importante com a DA. Com 95% de confiança, observou-se que para cada 1µg/L de selênio intracelular há uma redução de aproximadamente 3,5% na chance do idoso ter DA (OR = 0,965; $p = 0,028$; IC 95% = 0,953 – 0,997).

Tabela 3 - Coeficientes regressores lineares para capacidade cognitiva avaliada pelo instrumento de rastreio Mini Exame do Estado Mental (MEEM) em idosos com e sem doença de Alzheimer (DA). Maceió – Alagoas, 2017.

| | Modelo 1 | | Modelo 2 | | Modelo 3 | |
|--------------------------------|-----------------|----------------------|-----------------|----------------------|-----------------|----------------------|
| | β^a | p-valor ^b | β^a | p-valor ^b | β^a | p-valor ^b |
| Grupo DA (n = 34) | | | | | | |
| Se plasmático | 0,146 | 0,250 | 0,068 | 0,647 | - | - |
| Se eritrócitos | 0,513 | <0,001 | 0,502 | 0,002 | 0,508 | 0,002 |
| Escolaridade | -0,087 | 0,491 | 0,002 | 0,990 | -0,007 | 0,962 |
| Idade | -0,284 | 0,033 | -0,270 | 0,084 | -0,284 | 0,060 |
| Sexo | -0,446 | 0,001 | - | - | - | - |
| R ² | 0,609 | | 0,426 | | 0,422 | |
| R ² ajustado | 0,540 | | 0,347 | | 0,364 | |
| Grupo Controle (n = 68) | | | | | | |
| Se plasmático | 0,104 | 0,414 | 0,113 | 0,370 | - | - |
| Se eritrócitos | 0,429 | <0,001 | 0,519 | <0,001 | 0,570 | <0,001 |
| Escolaridade | 0,025 | 0,825 | 0,016 | 0,887 | -0,003 | 0,976 |
| Idade | -0,086 | 0,446 | -0,072 | 0,513 | -0,048 | 0,651 |
| Sexo | -0,076 | 0,493 | - | - | - | - |
| R ² | 0,335 | | 0,330 | | 0,321 | |
| R ² ajustado | 0,281 | | 0,287 | | 0,289 | |

^a Coeficientes regressores (Beta) estimados pelo MQO/Backward option.

^b Teste t; p<0,05.

Fonte: Nascimento, 2019.

DISCUSSÃO

No presente estudo as concentrações plasmáticas e eritrocitárias de selênio aparecem como importantes fatores de risco para a Doença de Alzheimer e capacidade cognitiva. Entretanto, as concentrações eritrocitárias, quando ajustadas por idade, sexo e escolaridade, aparecem como um preditor independente para a doença. O tempo de estudo e a idade, fatores já conhecidos na literatura por aumentar o risco para desenvolvimento da DA (MACHADO, RIBEIRO, COTTA & LEAL, 2011; ARGIMON et al., 2012; TALMELLI et al., 2013; CARDOSO et al., 2017), também foi fator de risco observado nesta pesquisa. É importante destacar que apesar da tentativa de pareamento por idade, ainda foi observado diferença nesta variável entre os grupos desta pesquisa, entretanto nenhuma correlação entre a idade e as concentrações de selênio foi observada.

O grupo de idosos com Alzheimer, apresentou menor média de anos de estudo, quando comparados ao grupo sem a doença. Estudo realizado por Machado et al., 2011, identificou possível associação entre escolaridade e declínio cognitivo, onde os idosos que estudaram por apenas 1 ano (ou menos) apresentou quase 4 vezes mais chances de ter declínio cognitivo (MACHADO, RIBEIRO, COTTA & LEAL, 2011). Enquanto que Argimon et al., 2012 também observou uma correlação positiva, porém leve entre os anos de escolaridade e a função cognitiva de idosos (ARGIMON et al., 2012).

O presente estudo identificou que o grupo de idosos com DA apresentou menores concentrações de selênio plasmático e eritrocitário. Embora Ceballos-Picot et al., 1996, tenham observado associação inversa entre declínio cognitivo e concentrações de selênio, onde o grupo de idosos com DA apresentou maiores concentrações de selênio em eritrócitos e plasma, entretanto, cabe destacar que esses autores utilizaram critério diagnóstico pouco sensível para Alzheimer (porém muito sensível para outras demências) e a análise do selênio plasmático foi realizada por fluorometria, diferindo da maioria dos estudos que utilizam espectrofotometria.

Estudo do tipo caso-controle, realizado por Cardoso et al. (2014), na cidade de São Paulo – Brasil, observou que as menores concentrações de selênio plasmáticos e eritrocitários foram no grupo de idosos com DA, quando comparados ao grupo controle, corroborando com os resultados encontrados nessa pesquisa.

Recente revisão sistemática com metanálise observou que os níveis circulantes de selênio (soro, plasma ou sangue total) são realmente menores no grupo de idosos com

Alzheimer. Esse resultado também foi observado para as concentrações eritrocitárias, porém sem significância estatística, provavelmente devido a heterogeneidade dos dados entre os dois estudos envolvidos nesta metanálise ($I^2= 81\%$) (REDDY et al., 2017). Desse modo, os resultados observados nesta metanálise corroboram com os achados desta pesquisa e sugerem que novos estudos sejam realizados, especialmente com análise de selênio eritrocitário, para melhor elucidar a relação do selênio com a DA, uma vez que poucos estudos disponíveis pesquisaram este compartimento orgânico.

Considerando que o estresse oxidativo é o primeiro evento que antecede a DA e, por isso, assume importante papel na etiologia da doença, baixas concentrações desse mineral pode estar associado ao esgotamento devido à oxidação que acompanha o envelhecimento e a progressão da DA (LUCHSINGER, MAYEUX, 2004; ZHU et al., 2007; SOLOVYEV et al., 2018).

A estreita relação de causalidade entre concentrações orgânicas de selênio e o aparecimento da DA ainda precisa ser melhor estabelecida e esclarecida por meio de estudos prospectivos com idosos antes do desenvolvimento da doença. O equilíbrio entre mecanismos oxidantes e antioxidantes, protagonizado muitas vezes por este mineral, pode ser um fator que auxilie na descoberta de algumas respostas (AASETH et al., 2016). Entretanto, nesta pesquisa não foi possível avaliar o estresse oxidativo nos pacientes, de modo que não podemos estabelecer associação direta entre deficiência de Se e estresse oxidativo em pacientes com DA, sendo esta uma importante limitação desse estudo, porém uma hipótese de relação indireta parece estar estabelecida.

Outra importante limitação para o estudo pode estar relacionada a falha no pareado dos grupos quanto a idade, entretanto, esta limitação foi corrigida ajustando as análises por esta variável afim de evitar viés de interpretação dos resultados.

Por fim, ressaltamos que diante do exposto, há a necessidade de elucidação do processo fisiopatológico da DA e do papel das concentrações orgânicas de selênio neste contexto para se pensar em novas estratégias do cuidado ao idoso, seja por meio da prevenção de deficiências deste mineral com melhor controle da sua ingestão por idosos saudáveis ou seja pelo uso e elaboração de suplementação que visem a potencialização da atividade antioxidante neuronal.

Poucos estudos avaliaram as concentrações eritrocitárias em idosos com Alzheimer, de modo que sugerimos que mais estudos possam ser realizados a fim de esclarecer a real relação

entre selênio e DA. Sugerimos ainda que um maior número de pessoas com o diagnóstico da doença possa compor amostras de futuras pesquisas. Estudos prospectivos que avaliassem a ingestão e as concentrações desses nutrientes ao longo dos anos poderiam melhor auxiliar na identificação da relação causalidade entre concentrações de selênio e a Doença de Alzheimer.

CONCLUSÃO

Os resultados desta pesquisa nos mostram que a idade e o tempo de anos de estudos são, de fato, fatores independentes para aumentar as chances de desenvolvimento da Doença de Alzheimer no idoso.

Observou-se ainda que no grupo de idosos com Alzheimer, as concentrações médias de selênio no plasma e nos eritrocitócitos são menores que as concentrações de idosos sem a doença, apresentando assim importante associação com a DA, nesse estudo.

Um achado importante dessa pesquisa deve-se ao fato de que baixas concentrações eritrocitárias de selênio, caracterizando uma deficiência crônica desse mineral, aumentaram as chances do idoso apresentar diagnóstico para a DA. Entretanto, a relação de causalidade não pode ser estabelecida nesta pesquisa, devido ao seu modelo metodológico.

Consideramos importante relatar que ações de prevenção na redução das concentrações orgânicas deste mineral ou correção dessas concentrações para níveis considerados normais, especialmente as concentrações do principal depósito orgânico de selênio (os eritrócitos) pode auxiliar na redução das chances de o idoso desenvolver a doença e, por conseguinte, estabelecer melhores indicadores epidemiológicos para a DA.

REFERÊNCIAS

- AASETH J., ALEXANDER J., BJØRKLUND G. et al. Treatment strategies in Alzheimer's disease: a review with focus on selenium supplementation. **Biometals**. 2016; 29(5):827-39.
- ALARCÓN-NAVARRO M., LÓPEZ-MARTÍNEZ M.C.L. Essentiality of selenium in the human body: relationships with different disease. **Sci. Total. Environ**. 2000; 249(1-3):347-371.
- ALBERT M. S., DEKOSKY S. T., DICKSON D., DUBOIS B., FELDMAN H.H. et al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging and Alzheimer's Association Working group. **Alzheimer's and Dementia**. 2011; 7(3): 270-279.
- ALMONDES, K.G.S. LEAL G.V.S., COZZOLINO S.M.F., PHILIPPI S.T., RONDÓ P.H.C. et al. O papel das selenoproteínas no câncer. **Rev. Assoc. Med. Bras**. 2010; 56(4): 484-488, Jul./Ago. 2010.
- ANSARI M.A., SCHEFF S.W. NADPH- oxidase activation and cognition in Alzheimer disease progression. **Free Radic. Biol. Med**. 2012; 51:171-178. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2011. 03.025
- ARGIMON, I.L.L.; LOPES, R.M.F.; TERROSO, L.B.; FARINA, M.; WENDT, G.; ESTEVES, C.S. Gênero e escolaridade: estudo através do miniexame do estado mental (MEEM) em idosos. *Aletheia*. 2012; 38: 153-161.
- ARMITAGE, P.; BERRY, G. The planning of statistical investigations. In: **Statistical methods in medical research**. 2.ed. Oxford, Blackwell, 1987. p.179-85.
- ARRUDA G. et al. **Fatores genéticos envolvidos na doença de Alzheimer: uma revisão teórica**. In: Congresso Ancional de Pesquisa em Ciências Sociais Aplicadas – III CONAPE. 2014 .Francisco Beltrão/PR. Anais... Francisco Beltrão.p.150-164
- ARTHUR, J.R.; MCKENZIE, R.C.; BECKETT, G.J. Selenium in the immune system. **J. Nutr**. 2003; 133(5):1457S-1459S.
- ARTHUR, J.R. The glutathione peroxidases. **Cell. Mol. Life Sci**. 2000; 57:1825-1835. doi: 10.1007/PL00000664
- BARBOSA JF, MACHADO MAA, WANDERLEY TB, ARAÚJO LVN, NASCIMENTO CQ, WANDERLEY EM et al. Antioxidant Nutrient Intake in Elderly Patients With Alzheimer's disease: A Case-Control Study. **SMJ Food Nutri Disord**. 2017; 3(1): 1017.
- BATIROLLA M.R. Nutrição e seus efeitos na Doença de Alzheimer. **Seminário Científico de Nutrição**. 2010; 1(2):1-24.
- BENEDETTI T.R.B., BORGES L.J., PETROSKI E.L., GONÇALVES L.H.T. ET AL. Atividade física e estado de saúde mental de idosos. **Revista Saúde Pública**. 2008; 42(2):302-307.

BIGUETI B.C.P., LELLIS J.Z., DIAS J.C.R. Nutrientes essenciais na prevenção da doença de Alzheimer. **Revista Ciências Nutricionais Online**. 2018; 2(2):18-25.

BLOCK M.L., ZECCA L., HONG, J.S. Microglia mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. **Nat. Rev. Neurosci**. 2007; 8: 57–69. doi:10.1038/nrn2038

BURK R.F., LEVANDER O.A. **Selenium**. In: SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M.; ROSS, A.C. Tratado de Nutrição moderna na Saúde e na Doença. Barueri: Ed. Manole, 2003. p. 285-296.

CARDOSO B.R., ONG T.P., JACOB-FILHO W., JALUUL O., FREITAS M.I., COZZOLINO S.M. Nutritional status of selenium in Alzheimer's disease patients. **Br. J. Nutr**. 2010; 103:803-806. doi: 10.1017/S0007114509992832

CARDOSO B.R., BANDEIRA V.S., JACOB-FILHO W., COZZOLINO S.M.F. Selenium status in elderly: relation to cognitive decline. **J. Trace Elem. Med. Biol**. 2014; 28:422–426.

CARDOSO R.B.; COMINETTI C.; COZZOLINO, SMF. Importance and management of micronutrient deficiencies in patients with Alzheimer's disease. **Clinical Interventions in Aging**. 2013; 8: 531–542.

CASTRO, M.W. Selenio em los pacientes críticos com resposta inflamatória sistêmica: revisión. **Nutr. Hosp**. 2007; 22(3):295-306.

CAVALCANTI, JLS; ENGELHARDT, E. Aspectos da fisiopatologia da doença de Alzheimer esporádica. **Rev Bras Neurol**. 2012; 48 (4): 21-29.

CEBALLOS-PICOT I., MERAD-BOUDIA M., NICOLE A., et al. Peripheral antioxidant enzyme activities and selenium in elderly subjects and in dementia of Alzheimer's type – place of the extracellular glutathione peroxidase. **Free Radic Biol Med**. 1996; 20(4):579–587.

CERQUEIRA F.M., MEDEIROS M.H.G., AUGUSTO O. Antioxidantes dietéticos: Controvérsias e perspectivas. **Quím. Nova**. 2007; 30(2):441-449.

CRACK P.J., CIMDINS K., ALI U. et al. Lack of glutathione peroxidase-1 exacerbates ab-mediated neurotoxicity in cortical neurons. **J Neural Transm**. 2006;113(5):645-57.

CUMMINGS J.L., VINTERS H.V., COLE G.M., et al. Alzheimer's disease: etiologies, pathophysiology, cognitive reserve, and treatment opportunities. **Neurology**. 1998; 51(Suppl1):S2-S67.

CHMATALOVA Z., VYHNALEK M., LACZO J., HORT J., POSPISILOVA R. et al. Relation of Plasma Selenium and Lipid Peroxidation End Products in Patients With Alzheimer's Disease. **PHYSIOL RES**. 2017; 66: 1049-1056.

DE WILDE M.C., OVERK C.R., SIJBEN J.W., MASLIAH E. Meta-analysis of synaptic pathology in Alzheimer's disease reveals selective molecular vesicular machinery vulnerability. **Alzheimer's & Dementia**. 2016; 12(6):633–644.

DODSON C.M. Alzheimer's disease: addressing a twenty-first century plague. **Rend. Fis. Acc. Lincei**. 2015; 26:251–262. doi:10.1007/s12210-015-0453-y

- FINLEY J.W., SIGRID-KECK A., ROBBINS R.J., HINTZE K.J. Selenium enrichment of broccoli: interactions between selenium and secondary plant compounds. **J. Nutr.** 2005; 135: 1236–1238.
- FORLENZA O.V. Tratamento farmacológico da doença de Alzheimer. **Rev. Psiq. Clín.** 2005; 32(3): 137-148.
- FREIRE M.A.M. Pathophysiology of neurodegeneration following traumatic brain injury. **West Indian Med J.** 2012; 61:751–755. doi:10.7727/wimj. 2012.003
- FROTA N.A.F., NITRINI R., DAMASCENO B.P., FORLENZA O., DIAS-TOSTA E., et al. Critério para diagnóstico de doença de Alzheimer. **Revista Dementia & Neuropsychologia.** 2011; 6(1), 5-10.
- GAMBLE S.C., WISEMAN A., GOLDFARB P.S. Selenium-dependent glutathione peroxidase and other seleno proteins: their synthesis and biochemical roles. **J. Chem. Tech. Biotechnol.** 1997; 68:123–134.
- GERHARDSSON L., LUNDH T., MINTHON L., LONDOS E. Metal concentrations in plasma and cerebrospinal fluid in patients with Alzheimer's disease. **Dement Geriatr Cogn Disord.** 2008; 25(6):508-15. doi: 10.1159/000129365.
- GONZALEZ-DOMINGUEZ R.; GARCIA-BARRERA T.; GOMEZ-ARIZA J.L. Homeostasis of metals in the progression of Alzheimer's disease. **Biomaterials.** 2014; 27(3):539-49. doi: 10.1007/s10534-014-9728-5.
- GROMADZINSKA J., RESZKA E., BRUZELIUS K., WASOWICZ W., AKESSON B. Selenium and cancer: biomarkers of selenium status and molecular action of selenium supplements. **Eur J Nutr.** 2008; 47(2S Suppl):29-50.
- GUTIERREZ B.A., SILVA H.S., GUIMARÃES C., CAMPINO A.C. Impacto Econômico da Doença de Alzheimer no Brasil: é possível melhorar a assistência e reduzir os custos? **Ciência & Saúde Coletiva.** 2014; 19(11): 4479-4486.
- HASKELL W.L., LEE I.M., PATE R.R., POWELL K.E., BLAIR S.N., et al. A Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. **Med and sci in sports and exerc.** 2007; 39(8): 1423-1434.
- HOFFMANN P.R., HOGE S.C., LI P.A., HOFFMANN F.W., HASHIMOTO A.C., BERRY M.J. The selenoproteome exhibits widely varying, tissue-specific dependence on selenoprotein P for selenium supply. **Nucleic Acids Res.** 2007; 35: 3963–3973.
- HOLBEN D.H., SMITH A.M. The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. **J. Am. Diet. Assoc.** 1999; 99(7):836-843.
- HU N., YU J.T., TAN L., WANG Y.L., SUN L., TAN L. Nutrition and the risk of Alzheimer's disease. **Biomed Res Int.** 2013; 2013: 524820.
- INSTITUTO ALZHEIMER BRASIL. **Alzheimer deve ser prioridade mundial, diz a OMS.** (2012) Disponível em <http://www.institutoalzheimerbrasil.org.br/noticias-detalhes/Instituto_Alzheimer_Brasil/52/alzheimer_deve_ser_prioridade_mundial_diz_oms>. Acesso

em 15 outubro 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Síntese de Indicadores Sociais Uma Análise das Condições de Vida da População Brasileira**. Rio de Janeiro: IBGE, 2012. p. 1-134.

JACK C.R.J, ALBERT M.S., KNOPMAN D.S., MCKHANN G.M., SPERLING R.A., et al. Introduction to the recommendations from the National Institute on Aging and the Alzheimer's Association workgroup on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimer's and Dementia**. 2011; 7(3):257-62. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.004.

KOÇ E.R., İLHAN A., AYTÜRK Z., ACAR B., GÜRLER M., et al. A comparison of hair and serum trace elements in patients with Alzheimer disease and healthy participants. **Turk J Med Sci**. 2015; 45: 1 - 6. doi:10.3906/sag-1407-67.

KRYUKOV G.V., CASTELLANO S., NOVOSELOV S.V., LOBANOV A.V., ZEHTAB O., et al. Characterization of mammalian selenoproteomes. **Science**. 2003; 300(5624):1439 – 1443.

LACOR P.N., BUNIEL M.C., CHANG L, FERNANDEZ SJ, GONG Y, et al. Synaptic targeting by Alzheimer's related amyloid beta oligomers. **J Neurosci**. 2004; 24 (45):10191-10200.

LIPSCHITZ, D.A. Screening for nutritional status in the elderly. *Prim Care* **21**, 55-67 (1994).

LOHMAN T.J., ROACHE A.F., MARTORELL R. Anthropometric standardization reference manual. **Medicine & Science in Sports & Exercise**. 1992; 24:952.

LUCHSINGER J.A., MAYEUX R. Dietary factors and Alzheimer's disease. **Lancet Neurol**. 2004; 3: 579–587.

MACHADO J., CARAM C.L.B., FRANK A.A., SOARES E.A., LAKS J. Estado nutricional na doença de Alzheimer. **Rev. Assoc. Med. Bras**. 2009; 55(2):188-191.

MACHADO J.C., RIBEIRO R.C.L., COTTA R.M., LEAL R.M. Declínio cognitivo de idosos e sua associação com fatores epidemiológicos em Viçosa, Minas Gerais. **Rev Bras Geriatria e Gerontologia**. 2011; 14(2), 109 – 121.

MARCELLO E., EPIS R., SARACENO C., DI LUCA M. Synaptic dysfunction in Alzheimer's Disease. **Adv Exp Med Biol**. 2012; 970:573-601. doi: 10.1007/978-3-7091-0932-8_25.

MCKHANN G.M., KNOPMAN D.S., CHERTKOW H., HYMAN B.T., CLIFFORD R.J., et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from National Institute on Aging and the Alzheimer's Association workgroup. **Alzheimer's and Demetia**. 2011; 7(3),263-269.

KOCHHAM R., VARELA J.S., LISBOA C.S., CHAVES M.L.F. The mini mental state examination: review of cutoff ponits adjusted for schooling in a large southern brazilian sample. **Dementia & Neuropsychologia**. 2010; 4:35-41.

MIRANDA G.M.D., MENDES A.C.G., SILVA A.L.A. O envelhecimento populacional brasileiro: desafios e consequências sociais atuais e futuras. **Rev. bras. geriatr. gerontol**.

2016; 19(3):507-519.

MORAES E.N., MORAES F.L., LIMA S.P.P. Características biológicas e psicológicas do envelhecimento. **Rev. Med.** 2010; 20(1):67-73.

NAVARRO-ALARCON M., CABRERA-VIQUE C. Selenium in food and the human body: a review. **Sci Total Environ.** 2008; 400:115–141.

NUNOMURA A., MOREIRA P.I., CASTELLANI R.J., LEE H. G., ZHU X., SMITH M.A. et al. Oxidative damage to RNA in aging and neurodegenerative disorders. **Neurotox. Res.** 2012; 22:231–248. doi: 10.1007/s12640-012-9331-x

NUNOMURA, A. Oxidative stress hypothesis for Alzheimer's disease and its potential therapeutic implications. **Rinsho Shinkeigaku.** 2013; 53:1043–1045. doi:10.5692/clinicalneuro.53.1043

OLDE RIKKERT M.G., VERHEY F.R., SIJZEN J.W., BOUWMAN F.H., DAUTZENBERG P.L., LANSINK, M., et al. Differences in nutritional status between very mild Alzheimer's disease patients and healthy controls. **J. Alzheimers Dis.** 2014; 41:261–271. doi:10.3233/JAD-131892.

PADURARIU M., CIOBICA A., LEFTERR., SERBANI. L., STEFANESCU C., CHIRITA R. The oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. **Psychiatr. Danub.** 2013; 25:401–409.

PAGLIA G., MIEDICO O., CRISTOFANO A., VITALE M., ANGIOLILLO A., ET AL. Distinctive Pattern of Serum Elements During the Progression of Alzheimer's Disease. **Sci Rep.** 2016; 6: 22769.

PANZIERA F.B., DORNELES M.M., DURGANTE P.C., SILVA V.L. Avaliação da ingestão de minerais antioxidantes em idosos. **Rev. Bras. Geriatr. Gerontol.** 2011; 14(1):49-58.

PAULA V.J.R., GUIMARAES F.M., FORLENZA O.V. Papel da proteína Tau na fisiopatologia da demência frontotemporal. **Rev. Psiqu. Clín.** 2009; 36(5):197-202, 2009.

QUERFURTH H.W., LAFERLA F.M. Alzheimer's disease. **N.Engl.J.Med.** 2010; 362:329–344. doi: 10.1056/NEJMra0909142.

REDDY, V.S.; BUKKE, S.; DUTT, N.RANA, P.; PANDEY, A.K. A systematic review and meta-analysis of the circulatory, erythrocytic and CSF selenium levels in Alzheimer's disease: A meta-analysis (AMMA study-I). **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.** 2017; 42:68–75

REYNOLDS A., LAURIE C., MOSLEY R.L., GENDELMAN H.E. Oxidative stress and the pathogenesis of neurodegenerative disorders. **Int. Rev. Neurobiol.** 2007; 82:297–325. doi: 10.1016/S0074-7742(07)82016-2.

SANMARTIN C., PLANO D., FONT M., PALOP J.A. Selenium and clinical trials: new therapeutic evidence for multiple diseases. **Curr. Med.Chem.** 2011; 18:4635–4650. doi:10.2174/0929867 11797379249

- SANTOS J.R., GOIS A.M., MENDONÇA D.M.F., FREIRE A.M. Nutritional status, oxidative stress and dementia: the role of selenium in Alzheimer's disease. **Frontiers in Aging Neuroscience**. 2014; 6:1-4.
- SCHRAUZER, G.N. Anticarcinogenic effects of selenium. **Cell. Mol. Life Sci**. 2000; 57(13-14):1864-1873.
- SCHRIJVERS E.M., WITTEMAN J.C., SIJBRANDS E.J., HOFMAN A., KOUDSTAAL P.J., BRETELER M.M. Insulin metabolism and the risk of Alzheimer disease: the Rotterdam Study. **Neurology**. 2010; 75:1982-7.
- SERENIKI A., VITAL M.A.B.F. A Doença de Alzheimer :aspectos fisiopatológicos e farmacológicos. **Rev. Psiquiatr**. 2008; 30(1):1-17.
- SHAHAR A., PATEL K.V., SEMBA R.D., BANDINELLI S. SHAHAR D.R., FERRUCCI L., GURALNIK J.M. O selênio plasmático está positivamente relacionado ao desempenho em tarefas neurológicas que avaliam a coordenação e a velocidade do motor. **Mov Disord**. 2010; 25:1909-1915. doi: 10.1002 / mds.23218.
- SILVA S.L., VELLAS B., ELEMANS S., LUCHSINGER J., KAMPHUIS P., et al. Plasma nutrient status of patients with Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis. **Alzheimers Dement**. 2014; 10:485-502.
- SMORGON C., MARI E., ATTI A.R., DALLA NORA E., ZAMBONI P.F., CALZONI F. et al., Trace elements and cognitive impairment: an elderly cohort study. *Arch Gerontol. Geriatr*. 2004; Suppl 9: 393-402.
- SOLOVYEV N., DROBYSHEV E., BJØRKLUND G., DUBROVSKII Y., LYSIUK R., RAYMAN M.P. Selenium, selenoprotein P, and Alzheimer's disease: is there a link? **Free Radical Biology and Medicine**. 2018; 127:124-133.
- SPERLING R.A., AISEN P.S., BECKETT L.A., BENNETT D.A., CRAFT S., et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association work groups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimers Dement**. 2011; 7: 280-292.
- SUZUKI, K.T. Metabolomics of selenium: Se metabolites based on speciation studies. **J Health Sci**. 2005; 51(2):107-44.
- TALMELLI L.F.S., VALE F.A.C., GRATÃO A.C.M., KUSUMOTA L., RODRIGUES, R.A.P. Doença de Alzheimer: declínio funcional e estágio da demência. **Acta Paul Enferm**. 2013; 26(3):219-25.
- THOMAS J.P., GEIGER P.G., GIROTTI A.W. Lethal damage to endothelial cells by oxidized low density lipoprotein. **J. Lipid. Res**. 1993; 34:479 - 490.
- THOMSON C.D., CAMPBELL J.M., MILLER J., SKEAFF S.A., LIVINGSTONE V. Selenium and iodine supplementation: effect on thyroid function of older New Zealanders. **Am. J. Clin. Nutr**. 2009; 90:1038-1046. doi:10.3945/ajcn.2009.28190
- VAN DE REST O., BERENDSEN A.A., HAVEMAN-NIES A., GROOT L.C. Dietary patterns, cognitive decline, and dementia: a systematic review. **Adv Nutr**. 2015; 6:154-68.

VAN DYK K, SANO M. The impact of nutrition on cognition in the elderly. **Neurochem Res.** 2007; 32(4–5):893–904.

VIEBIG, R.F. **Consumo de frutas e hortaliças e funcionamento cognitivo em idosos.** São Paulo: CIP, 2010.

VURAL H, DEMIRIN H, KARA Y, EREN I, DELIBAS N. Alterations of plasma magnesium, copper, zinc, iron and selenium concentrations and some related erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with Alzheimer's disease. **J Trace Elem Med Biol.** 2010;24(3):169–173. doi: 10.1016/j.jtemb.2010.02.002

WEEKS B.S., HANNA M.S., COOPERSTEIN D. Dietary selenium and selenoprotein function. **Med. Sci. Monit.** 2012; 18(8):127-132.

WILKINSON B.L., CRAMER P.E., VARVEL N.H., REED-GEAGHAN E., JIANG Q., et al. Ibuprofen attenuates oxidative damage through NOX2 inhibition in Alzheimer's disease. **Neurobiol. Aging.** 2012; 33:197.e121–197.e132. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2010.06.014

WU D.C., TEISMANN P., TIEU K., VILAM., JACKSON-LEWIS V., et al. NADPH oxidase mediates oxidative stress in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine model of Parkinson's disease. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 2003; 100:6145–6150. doi:10.1073/pnas.0937239100

ZHANG S., ROCOURT C., CHENG W. Selenoproteins and the aging brain. **Mech Ageing Dev.** 2010; 131(4):253–260.

ZHU X., LEE H, PERRY G., SMITH M.A. Alzheimer disease, the two-hit hypothesis: an update. **Biochim Biophys Acta.** 2007; 1772:494–502.

APÊNDICE I

**PROTOCOLO DA PESQUISA
 AVALIAÇÃO DA FRAGILIDADE CELULAR, COMPOSIÇÃO CORPORAL E
 NÍVEIS PLASMÁTICOS E REITROCITÁRIOS DE ANTIOXIDANTES EM IDOSOS
 COM DOENÇA DE ALZHEIMER”,**

| |
|-------------------------|
| 1. IDENTIFICAÇÃO |
|-------------------------|

Data: ___/___/___ Horário: ___:___ Prontuário: _____

Nome: _____

Sexo: 1. () F 2. () M

Idade: _____ Data de Nasc.: ___/___/___

Naturalidade: _____ Procedência: _____

Estado civil: 1. () Solteiro 2. () Casado 3. () União estável 4. () Divorciado 5. () Viúvo

Endereço: _____

Telefone: _____ E-mail: _____

Escolaridade:

1. () Analfabeto 2. () 1º G incomp. 3. () 1º G comp. 4. () 2º G incomp 5. () 2º G comp 6. () 3º G incomp 7. () 3º G comp

Situação Profissional:

1. () Empregado 2. () Desempregado 3. () Trabalho informal 4. () Aposentado/pensionista 5. () Estudante

Profissão _____ Renda familiar mensal R\$ _____

Condições de moradia: 1. () Familiares 2. () Sozinho

Área de moradia: 1. () Área urbana 2. () Área rural 3. () Instituição de longa permanência

Saneamento básico (esgotamento sanitário): 1. () Sim 2. () Não

Água encanada: 1. () Sim 2. () Não **Coleta de lixo:** 1. () Sim 2. () Não

História familiar – (DM, HAS, Dislipidemia, CA, Obesidade, outros).

História pessoal e social – HPS

Estilo de Vida**Etilismo:** 1.() Sim 2.() Não 3.() abstinência há _____**Se sim:** Tipo de bebida, frequência e dose _____.**Tabagismo:** 1.() Sim 2.() Não 3.() abstinência há _____**Se sim:** Tipo de fumo, frequência e quantidade/dia: _____**Prática de atividade física:** 1.() Sim 2.() Não

Qual? _____ Frequência (vezes/semana): _____ Duração (tempo): _____

Sono e repouso:

1.() Não tem insônia 2.() Apresenta dificuldade pra dormir 3.() Acorda várias vezes à noite 4.() Dorme durante o dia

Número de horas de sono a noite _____ Durante o dia _____.

2. DADOS CLÍNICOS**2.1 – Antecedentes gastrointestinais:**

| | | Tipo de alimento |
|--------------------|-------------------|------------------|
| Alergia alimentar: | 1() Sim 2() Não | _____ |
| Intolerância: | 1() Sim 2() Não | _____ |
| Pirose: | 1() Sim 2() Não | _____ |
| Náuseas: | 1() Sim 2() Não | _____ |
| Vômito: | 1() Sim 2() Não | _____ |
| Regurgitação: | 1() Sim 2() Não | _____ |

2.2 – Ritmo Intestinal:

Ritmo intestinal: 1.() Normal 2.() lento 3.() aumentado

Consistência das fezes: 1.() Normal 2.() líquida 3.() pastosa 4.() ressecada

Freq evacuações: _____

2.3 – Trato Urinário:

Ritmo urinário: 1.() Normal 2.() Oligúria 3.() Poliúria 4.() Anúria

Aspecto 1.() Normal 2.() Claro 3.() Concentrada

2.4 – Cardiovascular e Respiratório

FC: _____ bpm PA: _____ / _____ Dispnéia: 1.() Sim 2.() Não FR: _____ ipm

3. AVALIAÇÃO FÍSICA**3.2 – AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA**Peso (kg): _____ IMC (kg/m²): _____

Altura do Joelho (cm): _____ CC (cm): _____

Altura Estimada (m): _____ _____

4. AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA

| EXAME/DATA | | | | REFERÊNCIA |
|---------------------------|--|--|--|---|
| Colesterol total (mg/dL) | | | | ATÉ 200 |
| HDL colesterol (mg/dL) | | | | >40 (homem) >50 (mulher) >60(mulher PM) |
| LDL colesterol (mg/dL) | | | | 100-129 |
| Triglicerídeos (mg/dL) | | | | ATÉ 150 |
| Glicemia de jejum (mg/dL) | | | | 70-100 |
| Vit D (ng/mL) | | | | ≥ 30 |
| Cálcio (mg/dL) | | | | 8,4 – 10,2 |

APÊNDICE II

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (T.C.L.E.)

(Em 2 vias, firmado por cada participante voluntário (a) da pesquisa e pelo responsável)

“O respeito devido à dignidade humana exige que toda pesquisa se processe após o consentimento livre e esclarecido dos sujeitos, indivíduos ou grupos que por si e/ou por seus representantes legais manifestem a sua anuência à participação na pesquisa”

Eu,....., tendo sido convidado(a) a participar como voluntário(a) do estudo “**AValiação DA FRAGILIDADE CELULAR, COMPOSIÇÃO CORPORAL E NÍVEIS PLASMÁTICOS DE ANTIOXIDANTES EM IDOSOS COM DOENÇA DE ALZHEIMER**”, que será realizada no(a): **Hospital Universitário Professor Alberto Antunes** do(a) Sr(a). Dr(a) Emília Maria Wanderley de Gusmão Barbosa, responsável por sua execução, as seguintes informações que me fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas os seguintes aspectos:

- 1) Que o estudo se destina a **Identificar possíveis associações entre a composição corporal, reservas corporais de antioxidantes e fragilidade celular por meio da avaliação do ângulo de fase em idosos com Doença de Alzheimer.**
- 2) Que a importância deste estudo é a de **identificar a influência do estado nutricional no comprometimento da integridade celular e nas concentrações séricas de antioxidantes em idosos com Doença de Alzheimer.**
- 3) Que os resultados que se desejam alcançar são os seguintes: **identificar fatores nutricionais associados a progressão da demência na população de idosos.**
- 34) Que este estudo começará em **Agosto de 2014** e terminará em **Mai de 2015.**
- 5) Que o estudo será feito da seguinte maneira: **Os idosos, ou seu cuidador responsável, com o diagnóstico de Doença de Alzheimer responderam ao protocolo da pesquisa, serão avaliados com a utilização de um aparelho chamado de bioimpedância que identificará a sua composição corporal e em seguida será coletado sangue do idoso em jejum para avaliação bioquímica.**
- 6) Que eu participarei das seguintes etapas: **Resposta as perguntas do questionário, avaliação de medidas e composição do meu corpo, coleta do meu sangue no momento da consulta**
- 7) Que os outros meios conhecidos para se obter os mesmos resultados são os seguintes: **Não existem outros meios para coleta desses dados.**
- 8) Que os incômodos que poderei sentir com a minha participação são os seguintes: **Desconforto pelo exame de medidas no meu corpo, coleta de sangue, mas que a qualquer momento desses exames eu poderei solicitar a sua finalização.**
- 9) Que os possíveis riscos à minha saúde física e mental são: **Quebra de sigilo e confidencialidade com exposição dos meus dados, porém todo o protocolo será identificado apenas com Letras e Números.**
- 10) Que poderei contar com a seguinte assistência: **acompanhamento pela equipe do projeto, que é composta de Médicos, Nutricionistas e Farmacêuticos, sendo responsável (is) por ela: Emília Maria Wanderley de Gusmão Barbosa.**
- 11) Que os benefícios ao participante, mesmo que não diretamente são: **Auxiliar a comunidade de saúde em identificar fatores nutricionais associados ao avanço da Doença de Alzheimer.**
- 12) Que a minha participação será do seguinte modo: **Responderei às perguntas do questionário, serei submetido a avaliação de medidas do meu corpo, realizarei exames de sangue.**

13) Que, sempre que desejar, ser fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo.

14) Que, a qualquer momento, eu poderei recusar a continuar participando do estudo e, também, que eu poderei retirar este meu consentimento, sem que isso me traga qualquer penalidade ou prejuízo.

15) Que as informações conseguidas através de minha participação não permitirão a identificação da minha pessoa, exceto aos responsáveis pelo estudo, e que a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto.

16) Que eu deverei ser indenizado por qualquer despesa que venha a ter com a minha participação nesse estudo e, também, por todos os danos que venha a sofrer pela mesma razão, sendo que, para estas despesas foi-me garantida a existência de recursos.

Finalmente, tendo eu compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e, estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implicam, concordo em dela participar e, para tanto eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

Endereço do (a) participante voluntário (a):

Domicílio: (rua, conjunto).....Bloco:

Nº:.....,complemento:.....Bairro:

.....

Cidade:.....CEP:.....Telefone:

.....

Ponto de referência:

.....

Contato de urgência (participante): Sr (a): João Araújo Barros Neto

Domicílio: (rua, conjunto) Conjunto Graciliano Ramos; Rua 56; Nº 25

Nº: 25, complemento: Quadra C06..... Bairro: Cidade

Universitária

Cidade: Maceió CEP.:57073-202 Telefone: 82 8727-2826

Ponto de referência: Próximo ao terminal de ônibus

Nome e Endereço do Pesquisador Responsável: (Obrigatório)

Nome: Emília Maria Wanderley de Gusmão Barbosa

Endereço: Conjunto Graciliano Ramos; Qd C6; Rua 56; Nº 25

CEP: 57073-202 – Maceió – Alagoas FONE: 3334-5487

Instituição:

Endereço Universidade Federal de Alagoas. Nº..s/nº.....

Complemento: . Av. Lourival Melo Mota Bairro: Tabuleiro dos Martins

Cidade: Maceió CEP.: 57072-900

Telefones p/ contato: .3214-1160.,

Maceió, _____ de _____ de _____

**Assinatura ou impressão datiloscópica
Estudo**

do(a) voluntário(a) ou responsável legal
folhas)

(rubricar as demais folhas)

Assinatura do responsável pelo

(rubricar as demais

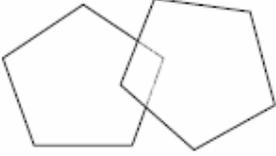
ANEXO A

MINI MENTAL

Data:

Analfabeto () Sim () Não

| AVALIAÇÃO | NOTA | VALOR |
|--|-------------|--------------|
| ORIENTAÇÃO TEMPORAL | | |
| . Que dia é hoje? | | 1 |
| . Em que mês estamos? | | 1 |
| . Em que ano estamos? | | 1 |
| . Em que dia da semana estamos? | | 1 |
| . Qual a hora aproximada? (considere a variação de mais ou menos uma hora) | | 1 |
| ORIENTAÇÃO ESPACIAL | | |
| . Em que local nós estamos? (consultório, enfermaria, andar) | | 1 |
| . Qual é o nome deste lugar? (hospital) | | 1 |
| . Em que cidade estamos? | | 1 |
| . Em que estado estamos? | | 1 |
| . Em que país estamos? | | 1 |
| MEMÓRIA IMEDIATA | | |
| Eu vou dizer três palavras e você irá repeti-las a seguir, preste atenção, pois depois você terá que repeti-las novamente. (dê 1 ponto para cada palavra) Use palavras não relacionadas. | | 3 |
| ATENÇÃO E CÁLCULO | | |
| 5 séries de subtrações de 7 (100-7, 93-7, 86-7, 79-7, 72-7, 65). (Considere 1 ponto para cada resultado correto. Se houver erro, corrija-o e prossiga. Considere correto se o examinado espontaneamente se autocorriger). Ou: Soletrar a palavra mundo ao contrário | | 5 |
| EVOCAÇÃO | | |
| Pergunte quais as três palavras que o sujeito acabara de repetir (1 ponto para cada palavra) | | 3 |
| NOMEAÇÃO | | |
| Peça para o sujeito nomear dois objetos mostrados (1 ponto para cada objeto) | | 2 |
| REPETIÇÃO | | |
| Preste atenção: vou lhe dizer uma frase e quero que você repita depois de mim: Nem aqui, nem ali, nem lá. (considere somente se a repetição for perfeita) | | 1 |
| COMANDO | | |
| Pegue este papel com a mão direita (1 ponto), dobre-o ao meio (1 ponto) e coloque-o no chão (1 ponto). | | 3 |

| | | |
|---|--|---|
| (Se o sujeito pedir ajuda no meio da tarefa não dê dicas) | | |
| LEITURA | | |
| Mostre a frase escrita: FECHÉ OS OLHOS. E peça para o indivíduo fazer o que está sendo mandado. (Não auxilie se pedir ajuda ou se só ler a frase sem realizar o comando) | | 1 |
| FRASE ESCRITA | | |
| Peça ao indivíduo para escrever uma frase. (Se não compreender o significado, ajude com: alguma frase que tenha começo, meio e fim; alguma coisa que aconteceu hoje; alguma coisa que queira dizer. Para a correção não são considerados erros gramaticais ou ortográficos) | | 1 |
| CÓPIA DO DESENHO | | |
| Mostre o modelo e peça para fazer o melhor possível. Considere apenas se houver 2 pentágonos interseccionados (10 ângulos) formando uma figura de quatro lados ou com dois ângulos. | | 1 |
|  | | |
| TOTAL | | |

Considerar apto para ingressar no programa pacientes com pontuação igual ou acima de 19, para analfabetos e pontuação igual ou acima de 24 para pessoas com escolaridade.

ANEXO B

PARECER DO CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALAGOAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA FRAGILIDADE CELULAR, COMPOSIÇÃO CORPORAL E NÍVEIS PLASMÁTICOS DE ANTIOXIDANTES EM IDOSOS COM DOENÇA DE ALZHEIMER

Pesquisador: EMILIA MARIA WANDERLEY DE GUSMÃO BARBOSA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 19199013.3.0000.5013

Instituição Proponente: Universidade Federal de Alagoas

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE ALAGOAS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 432.659

Data da Relatoria: 22/10/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo do tipo caso-controle, formado por dois grupos de idosos de ambos os sexos, sendo o grupo I constituído por indivíduos com diagnóstico clínico da Doença de Alzheimer e o grupo II formado por idosos sem diagnóstico da doença, todos acompanhados no Ambulatório de Geriatria e Gerontologia de um hospital público de Maceió. Serão coletadas variáveis sociodemográficas, história familiar de demência, Mini Exame do estado Mental, Mini Avaliação Nutricional, composição corporal e ângulo de fase por meio da bioimpedância elétrica, medidas antropométricas (peso, altura do joelho, IMC, prega cutânea subescapular) e avaliação bioquímica e concentrações plasmáticas dos antioxidantes: zinco, selênio e Vit E.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Identificar possíveis associações entre a composição corporal, reservas corporais de antioxidantes e ângulo de fase em idosos com Doença de Alzheimer.

Objetivos Secundários:

- Caracterizar os idosos em relação aos fatores de risco para desenvolvimento da Doença de Alzheimer;

Endereço: Campus A . C Simões Cidade Universitária

Bairro: Tabuleiro dos Martins

CEP: 57.072-900

UF: AL

Município: MACEIO

Telefone: (82)3214-1041

Fax: (82)3214-1700

E-mail: comitedeeticaufal@gmail.com

Continuação do Parecer: 432.659

- Avaliar o estado nutricional através da antropometria, Mini Avaliação Nutricional (MAN), marcadores biológicos e Bioimpedância Elétrica (BIA);
- Avaliar concentrações plasmáticas de Zinco, Selênio, Vit E, Vit B12 e Ácido fólico em idosos;
- Associar o estado nutricional com estágio cognitivo;
- Identificar fragilidade celular por meio da avaliação do ângulo de fase;
- Avaliar a aplicabilidade do ângulo de fase como fator preditivo para o declínio da capacidade cognitiva nesta população;
- Comparar os resultados entre grupo de idosos com e sem Doença de Alzheimer.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos referem-se ao desconforto que os participantes poderão sentir ao responder aos questionários, pois há questões pessoais, que podem constrangê-los e ao possível desconforto que as avaliações antropométricas, coleta de sangue e bioimpedância podem ocasionar a eles, caracterizando-se como riscos mínimos. Esse constrangimento será minimizado com os esclarecimentos prestados pela pesquisadora e demais membros da equipe de gerontologia. Os benefícios diretos se referem ao fato de que todos os voluntários terão sua assistência geriátrica e nutricional e/ou encaminhamentos necessários, assegurados pela pesquisadora principal deste estudo. Além disso, esses dados serão importantes por fornecerem informações para o melhor planejamento da terapia ambulatorial, visto que serão de acesso do nutricionista e do geriatra responsáveis pelo ambulatório, propiciando-lhes mais informações para a avaliação dos benefícios do método empregado e do sucesso do tratamento/cuidados prestados, assim como para ações educativas voltadas aos envolvidos nos cuidados a esses pacientes, o que representa ganhos científicos e sociais. Os benefícios indiretos da pesquisa referem-se às políticas públicas e de gestão em saúde, contribuindo para a melhoria da atenção em saúde e qualidade de vida em idosos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de investigação de importância para o grupo estudado, considerando que os resultados poderão auxiliar no planejamento das ações em saúde para idosos, um grupo que cresce numericamente a cada ano e que apresenta particularidades em seu manuseio.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos foram apresentados satisfatoriamente.

Recomendações:

Endereço: Campus A . C Simões Cidade Universitária
Bairro: Tabuleiro dos Martins **CEP:** 57.072-900
UF: AL **Município:** MACEIO
Telefone: (82)3214-1041 **Fax:** (82)3214-1700 **E-mail:** comitedeeticaufal@gmail.com

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALAGOAS



Continuação do Parecer: 432.659

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Protocolo atende as recomendações éticas da Resolução 466/12.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

MACEIO, 22 de Outubro de 2013

Assinador por:
Deise Juliana Francisco
(Coordenador)