

Dionísio Azevedo Junior

**Espectroscopia de prótons na doença de
Alzheimer e no comprometimento cognitivo
sem demência: avaliação de uma amostra da
comunidade**

Tese apresentada ao Departamento de
Psiquiatria da Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em
Ciências

São Paulo

2005

Dionísio Azevedo Junior

**Espectroscopia de prótons na doença de
Alzheimer e no comprometimento cognitivo
sem demência: avaliação de uma amostra da
comunidade**

Tese apresentada ao Departamento de
Psiquiatria da Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em
Ciências

Área de concentração: Psiquiatria
Orientador: Prof. Dr. Cássio Machado
de Campos Bottino

São Paulo

2005

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Azevedo Junior, Dionísio

Espectroscopia de prótons na doença de Alzheimer e no comprometimento cognitivo sem demência : avaliação de uma amostra da comunidade /

Dionísio Azevedo Junior. -- São Paulo, 2005.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Psiquiatria.

Área de concentração: Psiquiatria.

Orientador: Cássio Machado de Campos Bottino.

Descritores: 1.DOENÇA DE ALZHEIMER 2.ESPECTROSCOPIA
3.RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR 4.TRANSTORNOS COGNITIVOS/
diagnóstico

USP/FM/SBD-111/05

DEDICATÓRIA

À Eliane, por seu amor.

A meus pais, Dalvaní e Dionísio, por seu exemplo de vida.

À minha família, por sua presença constante.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Cássio Machado de Campos Bottino, pela oportunidade, críticas e envolvimento.

Ao Prof. Dr. Cláudio Campi de Castro, pela oportunidade e orientação.

Aos amigos do PROTER, Drs. Mariana, Sônia, Marcos, Mário e Sérgio pelo trabalho em equipe.

À Alessandra e Luciana, pelo sempre presente desejo em nos auxiliar.

Aos colaboradores anônimos, cujo esforço permitiu se chegasse aos resultados.

SUMÁRIO

Lista de Siglas.....	8
Lista de Símbolos.....	9
Lista de Figuras.....	10
Lista de Gráficos.....	11
Lista de Tabelas.....	12
Resumo.....	13
Summary.....	14
1.INTRODUÇÃO.....	15
1.1.Epidemiologia do envelhecimento.....	15
1.2.Epidemiologia da demência.....	16
1.3.Epidemiologia da demência de Alzheimer.....	17
1.4.Epidemiologia do comprometimento cognitivo sem demência.....	19
1.5.Os instrumentos de pesquisa cognitiva.....	21
1.6.Neuroimagem em demência de Alzheimer.....	22
1.7.Espectroscopia por ressonância magnética.....	24
2.OBJETIVOS.....	37
3.MÉTODOS.....	38
3.1.Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	38
3.2.Fases.....	38
3.2.1.Fase de rastreamento de demência na comunidade.....	38
3.2.1.1.Escolha da amostra.....	38
3.2.1.2.Tipo de amostra.....	40
3.2.1.3.Coleta de dados no campo.....	41
3.2.1.4.O instrumento de rastreio.....	41
3.2.2.Fase de entrevista neuropsicológica no HC FMUSP.....	44
3.2.2.1.Local das entrevistas.....	44
3.2.2.2.Amostra selecionada.....	45

3.2.2.3.Métodos de avaliação.....	45
3.2.2.4.CAMDEX.....	46
3.2.3.Fase dos exames de neuroimagem com RM.....	47
3.2.3.1.Técnica de aquisição da espectroscopia de prótons.....	47
3.3.Estatística.....	51
4.RESULTADOS.....	53
5.DISSCUSSÃO.....	79
5.1.Dados demográficos.....	79
5.2.Testes cognitivos.....	81
5.3.Espectroscopia por ressonância magnética.....	82
5.3.1. ¹ H-ERM.....	83
5.3.2.N-acetilaspártato.....	91
5.3.3.Creatina.....	93
5.3.4.Colina.....	93
5.3.5.Mio-inositol.....	95
5.4.Dificuldades técnicas.....	97
5.5.Instrumento diagnóstico.....	98
5.6.Espectroscopia de fósforo.....	99
5.7.Associação da ¹ H-ERM com outros métodos de pesquisa.....	101
5.8.Comprometimento cognitivo sem demência	102
6.CONCLUSÕES.....	103
7.REFERÊNCIAS.....	105

LISTA DE SIGLAS

Cho	colina
Cr	creatina
Glx	complexo glutamato e glutamina
ml	mio-inositol
NAA	N-acetilaspártato
PCr	fosfocreatina
PDE	fosfodiésteres
PME	fosfomonoésteres
ABIPEME	Associação Brasileira dos Institutos de Pesquisa de Mercados
HC FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IPEA	Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada
PROTER	Projeto Terceira Idade

LISTA DE SÍMBOLOS

cm^3	centímetros cúbicos
mm^2	milímetro quadrado
mM	milimolar
ms	milisegundo
ppm	partes por milhão
T	Tesla
>	maior que
<	menor
=	igual a
+	somado a
÷	dividido por
x	vezes
&	e

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1..... Gráfico de espectroscopia de prótons
- Figura 2..... Imagem de ressonância magnética mostrando voxel temporal, parietal e occipital
- Figura 3..... Gráficos de espectroscopia de prótons das regiões temporal, parietal e occipital

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1.....	Boxplot: idade
Gráfico 2.....	Boxplot: escolaridade
Gráfico 3.....	Boxplot: NAA temporal
Gráfico 4.....	Boxplot: NAA parietal
Gráfico 5.....	Boxplot: NAA occipital
Gráfico 6.....	Boxplot: Cr temporal
Gráfico 7.....	Boxplot: Cr parietal
Gráfico 8.....	Boxplot: Cr occipital
Gráfico 9.....	Boxplot: Cho temporal
Gráfico 10.....	Boxplot: Cho parietal
Gráfico 11.....	Boxplot: Cho occipital
Gráfico 12.....	Boxplot: ml temporal
Gráfico 13.....	Boxplot: ml parietal
Gráfico 14.....	Boxplot: ml occipital
Gráfico 15.....	Boxplot: NAA/Cr temporal
Gráfico 16.....	Boxplot: NAA/Cr parietal
Gráfico 17.....	Boxplot: NAA/Cr occipital
Gráfico 18.....	Boxplot: Cho/Cr temporal
Gráfico 19.....	Boxplot: Cho/Cr parietal
Gráfico 20.....	Boxplot: Cho/Cr occipital
Gráfico 21.....	Boxplot: ml/Cr temporal
Gráfico 22.....	Boxplot: ml/Cr parietal
Gráfico 23.....	Boxplot: ml/Cr occipital

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.....	Dados demográficos
Tabela 2.....	Comparação entre testes cognitivos e diagnósticos médicos
Tabela 3.....	Comparação grupos diagnósticos e metabólitos cerebrais - Temporal
Tabela 4.....	Comparação grupos diagnósticos e metabólitos cerebrais – Parietal
Tabela 5.....	Comparação grupos diagnósticos e metabólitos cerebrais - Occipital
Tabela 6.....	Análise de Função Discriminante: Controle versus DA
Tabela 7.....	Análise de Função Discriminante: Controle versus CIND
Tabela 8.....	Correlação entre testes cognitivos e metabólitos cerebrais
Tabela 9.....	Correlação ERM e subitens do CAMCOG - Grupo Controle
Tabela 10.....	Correlação ERM e subitens do CAMCOG - Grupo CIND
Tabela 11.....	Correlação ERM e subitens do CAMCOG - Grupo DA
Tabela 12.....	Revisão de ¹ H-ERM em controles normais
Tabela 13.....	Revisão de ¹ H-ERM em DA

RESUMO

Azevedo Jr D. *Espectroscopia de prótons na doença de Alzheimer e no comprometimento cognitivo leve* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2005.

Para descrever os achados da espectroscopia de prótons ($^1\text{H-ERM}$) na doença de Alzheimer (DA) e no comprometimento cognitivo sem demência (CIND) em uma amostra da comunidade foram avaliados 13 pacientes com DA, 12 com CIND e 15 controles normais. A $^1\text{H-ERM}$ foi realizada com voxel de 8 cm^3 nas regiões temporal direita, parietal esquerda e occipital medial estudando os metabólitos: N-acetilaspártato (NAA), creatina (Cr), colina (Cho) e mio-inositol (ml). Os diagnósticos clínicos foram baseados em testes cognitivos padronizados – MEEM e CAMDEX e os resultados dos testes correlacionados com os da $^1\text{H-ERM}$. O NAA foi maior nos indivíduos controles do que nos DA e intermediário no CIND; o ml foi maior no grupo DA do que nos controles; a Cho mostrou tendência a estar aumentada na DA e CIND. DA e Controle foram melhor identificados com NAA e ml medidos na região temporal. CIND foi melhor identificado pela Cho parietal. Correlação entre os testes cognitivos e a $^1\text{H-ERM}$ confirmou a hipótese de que alterações metabólicas estão presentes quando do aparecimento das primeiras alterações cognitivas. A espectroscopia pode, em função disso, contribuir para o diagnóstico e seguimento de indivíduos com queixa de memória em amostras da comunidade para ajudar na obtenção de diagnósticos mais precoces da DA.

SUMMARY

Dionísio Azevedo Jr. *Proton spectroscopy in Alzheimer's disease and cognitive impairment without dementia: a community study*. [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2005

For the description of the proton magnetic resonance spectroscopy ($^1\text{H-ERM}$) data in Alzheimer's disease (AD) and Cognitive Impairment Not Dementia (CIND) in a community set, subjects with AD (n=13), CIND (n=12) and normal control (n=15) were investigated. $^1\text{H-ERM}$ was performed with single voxel (8 cm^3) placed in temporal, parietal e occipital region and studied metabolites: N-acetylaspartate (NAA), creatine (Cr), choline (Cho) and myo-inositol (ml). The diagnoses were based on MMEE and CAMDEX. Correlation between cognitive tests and $^1\text{H-ERM}$ was performed. NAA concentration was higher in control subjects than AD and intermediated level in CIND patients; ml was higher in patients with AD and CIND; Cho tended to be higher in AD and CIND. Diagnosis of AD was achieved by using temporal NAA and ml. CIND's diagnosis was achieved using parietal Cho. Metabolisms changes are present together the first cognitive deficits as showed by correlation between cognitive tests and $^1\text{H-ERM}$. Spectroscopy can be used in the diagnosis and follow-up of individuals with memory complain in community samples to help the early diagnosis of AD.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Epidemiologia do envelhecimento

Seguindo a tendência de outros países latino-americanos, a população brasileira está passando por um processo de envelhecimento. Em 1980 as pessoas com mais de 60 anos de idade correspondiam à cerca de 6,3% da população geral (Ramos et al., 1993). Para 2025, a projeção é de que 14% da população brasileira terão mais de 60 anos. O envelhecimento da população é um fenômeno mundial e envolve tanto países ricos e desenvolvidos quanto os pobres ou em desenvolvimento (UNO, 1985 a,b). Ao lado do aumento da expectativa de vida, nota-se um aumento no número de casos de doenças como hipertensão arterial, cardiopatias, acidente vascular cerebral e doenças degenerativas do cérebro.

No Brasil, um estudo epidemiológico sobre idosos realizado por Ramos et al.(1993) na região sudeste mostrou que cerca de 53% dos indivíduos eram capazes de realizar sozinho atividades de vida diária como preparar uma refeição, arrumar a casa comer, se vestir, tomar remédios, fazer a higiene pessoal ou tomar uma condução. Entretanto, vinte e nove por cento precisava de algum tipo de ajuda para realizar até três dessas tarefas e 27% apresentava indícios de comprometimento mental.

Sintomas psiquiátricos, aliás, são bastante frequentes nos idosos, acompanhando o aumento da sobrevida (Moore et al.1999) e uma das formas mais comuns de alteração psiquiátrica entre os indivíduos na terceira idade é a demência – definida como o declínio da memória e de outras

funções cognitivas do indivíduo quando comparado com níveis prévios determinados pela história clínica (McKhann et al., 1984).

1.2. Epidemiologia da demência

Estudos epidemiológicos mostram que a incidência de demência se eleva progressivamente com o aumento da idade (Paykel et al., 1994; DeKosky, 2001). É a doença psiquiátrica mais comum afetando idosos com uma prevalência de 1% entre pessoas de 60 a 69 anos de idade e 39% naqueles com 90 a 95 anos de idade (Moore et al., 1999). No estudo de Framingham (Bachman et al., 1993) a incidência de demência variou de 7 por 1.000 entre os indivíduos com 65 – 69 anos, a 118 por 1.000 naqueles com 85 – 89 anos. As diferentes taxas de incidência e prevalência observadas entre os diferentes estudos decorrem de diferenças metodológicas empregadas pelos mesmos; da influência de fatores como condição social, econômica e cultural; e da presença de doenças como a depressão (Barker et al., 1995; Ebly et al., 1995).

No Brasil, o número de estudos epidemiológicos sobre transtorno mental, incluindo demência, na terceira idade é pequeno (Ramos et al., 1993; Veras e Murphy, 1994). Herrera et al. (2002) realizaram um estudo de prevalência de demência na cidade de Catanduva, São Paulo. Foram avaliados 1.656 indivíduos com 65 anos ou mais de idade. Na amostra como um todo o diagnóstico de demência foi feito em 118 sujeitos (7,1% de prevalência) e a demência de Alzheimer foi a forma mais comum (55,1%).

1.3. Epidemiologia de Demência de Alzheimer

A demência pode estar relacionada a uma condição médica geral, ao efeito de uma substância ou como consequência da associação de múltiplas causas. Várias condições estão relacionadas: Demência do Tipo Alzheimer, Demência Vascular, Demência associada ao HIV, Demência por Traumatismo Craniano, Demência associada à Doença de Parkinson, Demência associada à Doença de Huntington, Demência associada à Doença de Pick, Demência associada à Doença de Creutzfeldt-Jakob, Demência associada à Hidrocefalia de Pressão Normal, Demência associada à disfunção tireoidiana, Demência associada à deficiência de vitamina B 12, etc. (McKhann et al., 1984; DSM-IV[APA, 1994]). Em todos os estudos epidemiológicos a forma mais comum de demência é a Demência do Tipo Alzheimer, também conhecida como Doença de Alzheimer (DA) (Ernest et al., 1997).

A DA se caracteriza por múltiplos déficits cognitivos, sendo o comprometimento da memória, o mais importante deles. Outras alterações cognitivas incluem a afasia, a apraxia, a agnosia e uma perturbação do funcionamento executivo. Os sintomas compreendem ainda alterações psicológicas e do comportamento. O início é gradual com evolução para perda progressiva das funções cognitivas. O diagnóstico é baseado em história clínica com a utilização de critérios sistematizados (McKhann et al., 1984; CID 10[OMS, 1993]; DSM-IV[APA, 1994]), exames laboratoriais e de neuroimagem para afastar outras causas de demência (Engelhardt et al.,

2001). Do ponto de visto clínico, entretanto, só é possível estabelecer o diagnóstico de “provável Doença de Alzheimer” pois o diagnóstico definitivo só pode ser feito por estudo anatomopatológico. Isso porque, até o presente momento, não está estabelecido um marcador biológico para a DA. A utilização de critérios diagnósticos bem estabelecidos vem sendo então preconizada para aumentar a confiabilidade do diagnóstico clínico de DA.

A DA é uma doença evolutiva e existe uma estreita relação entre a progressão da doença, em termos de alteração anatômica, e as manifestações clínicas decorrentes (Lopera, 2001). Inicialmente são envolvidas as estruturas do córtex límbico – hipocampo e córtex entorrinal. Essas áreas são cruciais para a entrada e saída de novas informações no cérebro. Em função disso, um dos primeiros sinais de manifestação da doença é a alteração da memória recente – em especial a memória episódica (referente a processos mnemônicos relacionados a um contexto tempo-espaço). A seguir, as lesões se estendem ao córtex associativo do lobo temporal e parietal dando lugar às alterações da memória semântica (a que se refere ao conjunto de conhecimentos que temos sobre o mundo, as palavras, as coisas, independente do contexto tempo-espaço). Em etapas mais avançadas da doença, o córtex associativo parieto-occipital é comprometido e aparecem as dificuldades de reconhecimento visual e espacial, de objetos e rostos familiares bem como comprometimento das habilidades gestuais e visuoespaciais. Por fim, nas fases finais da doença, há invasão de áreas primárias do córtex cerebral e de estruturas subcorticais com aparecimento de sinais piramidais e extrapiramidais e outros déficits

neuroológicos. Como se verá, o conhecimento desse processo é fundamental para se entender as possíveis correlações existentes entre achados de exames complementares – inclusive os de pesquisa, e as manifestações clínicas da doença.

Várias linhas de pesquisa têm abordado diferentes aspectos relacionados à DA: alterações genéticas ([Van Duijin et al., 1991](#); [Blacker et al., 1997](#); [Felician, 1999](#)); depressão ([Raskind, 1998](#); [Chen et al., 1999](#); [Olin et al., 2002 a,b](#); [Wilson et al. 2002](#)); nível de escolaridade, terapia de reposição hormonal com estrógenos, uso de antiinflamatórios ([Nitrini, 2000](#); [Lindsay et al., 2002](#)). No presente trabalho serão avaliados os achados relacionados aos exames de imagem.

1.4. Epidemiologia do Comprometimento Cognitivo sem Demência

Relatos da literatura ([Small et al., 2003](#)) indicam que déficits de múltiplos domínios cognitivos estão presentes anos antes do diagnóstico de demência ser realizado e essas alterações permaneceriam estáveis durante a fase pré-clínica da doença. Por outro lado, em pacientes que iniciaram os primeiros sintomas da demência, 50% dos neurônios do córtex entorrinal já estão comprometidos ([Daffner e Scinto, 2000](#)). A relação entre as alterações neuropatológicas da Doença de Alzheimer e o aparecimento de manifestações clínicas não segue um padrão linear e está submetida a inúmeros fatores. A percepção dessa ausência de linearidade levanta uma série de questionamentos. Existe um contínuo entre o idoso normal – mas

com queixas de memória, e o indivíduo com demência instalada? Para alguns autores a DA representaria apenas um pólo do espectro do envelhecimento normal do indivíduo, diferindo desse apenas por um maior número de placas senis e novos neurofibrilares, os dois marcadores patológicos na DA (Brayne, 1988). Que o processo de declínio cognitivo avança não há dúvidas. Brayne et al. (1995) estudaram 1.111 indivíduos com idade de 75 anos ou mais, aplicando o teste do Mini-exame do Estado Mental (MEEM) (Folstein et al., 1975). O teste foi aplicado em dois momentos distintos com intervalo médio de dois anos e meio entre uma avaliação e outra. Os resultados mostraram que houve um declínio na pontuação do teste com uma queda média de um ponto a cada 2,4 anos. Embora a queda tenha sido vista em todos os grupos etários estudados, ela foi mais intensa nos indivíduos mais idosos e maior nas mulheres do que nos homens. A distribuição dessas alterações seguiu um padrão com formato unimodal.

A dúvida se existe uma condição clínica que anteceda a DA permanece. A assunção dessa condição intermediária entre o idoso com queixas de memória, mas sem critérios para demência, e o paciente já com a doença clínica diagnosticada levou ao surgimento de conceitos como: “Age-associated Memory Impairment” – AAMI (Crook et al., 1986), “Mild Cognitive Impairment” – MCI. Apesar de próximos, esses termos têm significados diferentes e exigem critérios diagnósticos específicos (Ebly et al., 1995).

Uma denominação mais geral – “Cognitively Impaired Not Dement” (CIND) foi proposta por Ebly et al (1995) e compreenderia indivíduos com déficits cognitivos de múltiplas causas. De um total de 2.914 indivíduos avaliados, 29.5% preencheram critérios para disfunção cognitiva. Os autores defendem que esse grupo seria comum na população geral e aparentemente distinto estando a meio caminho entre os indivíduos normais e aqueles com algum grau de demência. Apesar disso, sua identificação representaria um desafio diagnóstico pela dificuldade de definição sobre os critérios que deveriam ser utilizados. Os autores ainda criticam a exigência da presença de queixa de déficit de memória como critério de inclusão, pois acreditam que essa queixa esteja mais ligada a alterações não cognitivas como a depressão.

1.5. Os instrumentos de pesquisa cognitiva

A avaliação cognitiva é a “porta de entrada” para a investigação de um indivíduo com suspeita de demência. Na fase inicial da avaliação os instrumentos de rastreio são os primeiros testes a serem utilizados e visam atender duas necessidades básicas: avaliar o estado mental em ambientes com alta pressão de tempo e sem as condições ideais para aplicação dos testes clássicos e permitir estudos epidemiológicos (Bertolucci, 2000). Os testes de rastreio são rápidos e de simples aplicação e não exigem grande treinamento para serem aprendidos pelos aplicadores. É evidente que tais testes têm suas limitações: não fazem diagnóstico etiológico, não abordam

todas as áreas da cognição e têm desempenho influenciado por aspectos culturais, de gênero e escolaridade (Bertolucci, 2000). Dos instrumentos de rastreio atualmente em uso, MEEM é o mais amplamente utilizado. Outros testes propostos são: Teste Informação-Memória-Concentração (Blessed et al., 1968), Questionário Abreviado do Estado Mental (Pfeiffer, 1975) e o Questionário do Informante sobre Declínio Cognitivo (Sunderland et al., 1983). Algumas escalas, sobretudo as que enfatizam as funções de memória, também são úteis: Escala Clínica de Demência (Hughes et al., 1982) e a Escala de Demência de Blessed (Blessed et al., 1968). Como opção pode-se utilizar instrumentos de auto-aplicação ou de resposta pelos cuidadores (Petersen et al., 2001). Dos testes mais completos merece referência o “Cambridge Examination for Mental Disorders” (CAMDEX) (Roth et al., 1986), uma entrevista extensa para diagnóstico de transtorno mental na terceira idade.

1.6. Neuroimagem em Demência de Alzheimer

As técnicas de neuroimagem desenvolvidas nas últimas décadas têm permitido acesso a um mundo até então conhecido apenas pelos livros de anatomia e patologia. Os estudos de neuroimagem têm auxiliado e melhorado o trabalho da neurociência fornecendo instrumentos para se investigar o sistema nervoso central (SNC) em sua intimidade. Em recente revisão sobre o assunto, Spinelli et al. (2003), demonstraram que a ressonância magnética (RM) é a técnica com melhor resolução espacial para

avaliação do cérebro, um aspecto fundamental no estudo dos neurônios e de suas funções. Antes do desenvolvimento das modernas técnicas de neuroimagem, o acesso à intrincada estrutura e complexa função do cérebro humano estava disponível somente via trauma acidental ou técnicas bioquímicas indiretas ([Passe et al., 1995](#); [D'Esposito, 2000](#)).

A descoberta de associações entre uma área cerebral e uma determinada função mental tem vindo à tona e os estudos de neuroimagem têm mostrado a complexidade dessas relações. O lobo pré-frontal, por exemplo, está envolvido em uma série de tarefas como a tomada de decisões. Acredita-se que as divisões orbitofrontal, dorsolateral e cíngulo ventral e anterior estejam envolvidas com diferentes aspectos dessa importante e decisiva função mental ([Krawczyk, 2002](#)).

Mais do que uma compreensão básica dos fenômenos mentais e processos neurológicos, a neuroimagem busca a descoberta de possíveis marcadores neurais para doenças, a possibilidade de diagnósticos precoces com preservação das funções do SNC e o desenvolvimento de técnicas terapêuticas baseadas na fisiologia cerebral estabelecendo “pontes” entre as estruturas moleculares e o domínio do campo clínico ([Mazziotta, 2000](#)). Na área neuropsiquiátrica, o estudo das demências tem demonstrado que os sintomas não-cognitivos como apatia, depressão, psicose, e alucinação, podem preceder o aparecimento das queixas cognitivas definitivas e alguns autores sugerem que a realização de estudos longitudinais analisando dados de neuroimagem funcional associados a avaliações neuropsicológicas e

estudos anatomopatológicos podem esclarecer alguns desses aspectos das demências ([Assal e Cummings, 2002](#)).

Muitas são as técnicas radiológicas utilizadas em neuroimagem. Algumas como a tomografia por emissão de pósitrons (PET) e a tomografia por emissão de fóton único (SPECT) são métodos de estudo das alterações do SNC há muitos anos, com extensa colaboração para o conhecimento e tratamento de algumas doenças neuropsiquiátricas como os transtornos afetivos e ansiosos, as demências, a esquizofrenia e a epilepsia ([Kwock, 1998](#); [Buchpiguel, 2000](#); [Spinelli et al., 2003](#)). Em anos mais recentes, a RM vem ganhando cada vez mais espaço dentro da pesquisa no campo da neurociência.

1.7. Espectroscopia por Ressonância Magnética

Da RM derivou-se uma profusão de métodos de estudo: funcionais por difusão, perfusão e ativação; de imagens; volumetria; angiografia e outros ([Aichner et al., 1996](#)). Um método recente, introduzido a partir da década de 90 é a espectroscopia por ressonância magnética (ERM) que analisa os processos metabólicos em sistemas vivos. Como em muitas doenças as alterações do metabolismo antecedem as alterações anatômicas a espectroscopia, por ser sensível a tais alterações, se apresenta como um método de detecção precoce de processos neurobiológicos.

Três áreas da neuropatologia têm sofrido influência do uso da ERM: a) tumores cerebrais – descobriu-se, por exemplo, que o pH

intracelular nas neoplasias cerebrais era alcalino e não ácido como se pensava anteriormente. Como consequência, novas drogas foram elaboradas para atuar dentro desse pH; b) acidente vascular cerebral – permitiu-se a elaboração de novos modelos experimentais para estudar as doenças hipóxico-isquêmicas do cérebro; c) compreensão da neuropatologia de algumas doenças degenerativas do sistema nervoso central tais como as demências (Ross et al.; 1998).

A ERM é um método de pesquisa que estuda a estrutura molecular de um determinado elemento por meio da medida da interação de um campo eletromagnético de radiofrequência com núcleos moleculares imersos em um alto campo magnético externo. Podem-se realizar avaliações tanto quantitativas quanto qualitativas dos átomos de determinados elementos químicos em função de suas propriedades moleculares. Tais átomos funcionam como marcadores de alguns metabólitos e permitem que se obtenham informações sobre etapas de cascatas bioquímicas, metabolismo energético e de fosfolípidos (Yacubian e Castro, 2000). Para que um elemento seja detectado, entretanto, é necessário que sua concentração seja maior do que 0,1 milimolar (mM). Isso limita o número de substâncias que podem ser estudadas.

Cada átomo tem um núcleo carregado positivamente e uma camada externa carregada negativamente. Cada partícula gira em torno de um eixo gerando um pequeno campo magnético chamado spin e funciona como um pequeno ímã ou magneto. Em condições de repouso, sem um campo magnético externo, os átomos na matéria se alinham de forma

aleatória e a soma vetorial total de todos os magnetos é zero. A partir do instante em que um campo magnético externo é aplicado, os magnetos alinham-se ao longo da direção desse campo e os spins passam a girar ao longo do seu eixo. Quando um outro campo gerado por uma bobina de rádio-freqüência (bobina emissora) é aplicado, os spins são deslocados de seus eixos para um estado mais alto de energia. Uma vez removido esse último campo, os núcleos retornam a seus eixos originais. A mudança de orientação dos spins induz um sinal de voltagem que é enviado para um computador para o processamento dos dados obtidos. Esse sinal é apresentado sob a forma de imagem ou, como na espectroscopia, sob a forma de um gráfico.

Em um dado campo magnético, cada núcleo distinto ressona em uma freqüência única conhecido como freqüência de Larmor e obtida por meio de uma equação matemática: $\omega = \gamma B_0$

onde: ω é a freqüência de Larmor expressa em Hertz, γ é a constante giromagnética (específica para cada núcleo), e B_0 representa a intensidade do campo magnético (em tesla).

Além do campo magnético principal e do campo de radiofreqüência, existe um campo magnético local interno que produz um efeito conhecido como dispersão química ("chemical shift"). Adota-se a freqüência de um determinado núcleo como zero (referência) e as demais ressonâncias do espectro são expressas em relação a ela. A separação das freqüências das espículas de um determinado núcleo no espectro é que é conhecida como dispersão química. A dispersão química, pois, ocorre

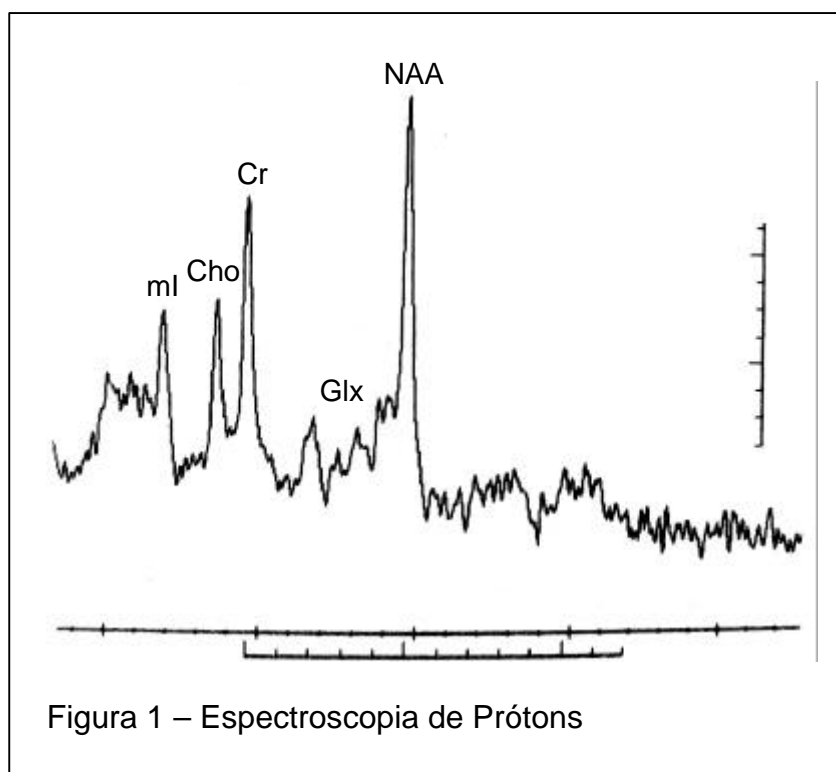
quando elétrons se movem em uma órbita atômica ou molecular em torno de um núcleo. Vale lembrar que um mesmo elemento, quando presente em diferentes posições de uma molécula, apresenta frequências de ressonância também distintas. Normalmente a leitura da dispersão química é feita através de uma unidade adimensional – partes por milhão (ppm) (Lafer e Amaral, 2000).

Podem-se realizar avaliações tanto quantitativas quanto qualitativas dos átomos de determinados elementos químicos em função de suas propriedades moleculares. Os átomos estudados pela ERM são aqueles com número atômico ímpar e com um spin livre: ^1H , ^7Li , ^{13}C , ^{19}F , ^{23}Na , ^{31}P (Passe et al., 1995; Yacubian e Castro, 2000).

De todas as formas atualmente existentes, as espectroscopias de fósforo (^{31}P -ERM) e a de prótons (^1H -ERM) são as mais freqüentemente utilizadas em neuropsiquiatria. A ^1H -ERM estuda os seguintes metabólitos cerebrais: N-acetilaspártato (NAA), creatina e fosfocreatina (Cr e PCr), compostos contendo colina (Cho), mio-inositol (ml), complexo glutamato e glutamina (Glx), glicose e lactato – Figura 1. A ^{31}P -ERM estuda: fosfodiésteres (PDE) fosfomonoésteres (PME), adenosina trifosfato (ATP), fosfocreatina (PCr) e fosfato inorgânico (Pi) (Stokes et al., 1987; Pettegrew et al., 1988; Bissuel et al., 1993; Shiino et al., 1993; Meyerhoff et al., 1994; Cuénod et al., 1995; Shonk et al., 1995; Smith et al., 1995; Parnetti et al., 1996; Parnetti et al., 1997; Pettegrew et al., 1997; Schuff et al., 1997; Lazeyras et al., 1998; Hu et al., 1999). A determinação do espectro se realiza em regiões mais ou menos extensas do cérebro. A determinação é

volumétrica – dependente de um determinado número de voxels. Os volumes de interesse devem ter, no mínimo 1 cm^3 devido a baixa concentração dos metabólitos estudados. O volume utilizado para a ^{31}P -ERM varia de 15 a 40 cm^3 enquanto para a ^1H -ERM esse volume é em torno de 8 cm^3 (Valenzuela et al., 2001).

Na ^1H -ERM cada metabólito tem uma “assinatura”. Os metabólitos são registrados quanto aos seus valores – absolutos e relativos à creatina, e são registrados na forma de um gráfico (Figura 1). Fazendo a leitura da direita para a esquerda, inicialmente se observam duas ondas amplas de ressonância que se acredita ser por conta de proteínas ou lipídios intrínsecos do cérebro. O primeiro e mais amplo pico ressona em 2.0 ppm e representa o N-acetilaspártato (NAA). Logo a seguir vem um grupamento de pequenos picos representando a β e γ -glutamina associado ao glutamato (Complexo Glx). O segundo maior pico é o da creatina (Cr) e fosfocreatina (PCr) ressonando em 3.0 ppm. Adjacente está o pico da colina (Cho) e após, o pico do mio-inositol (ml) em 3.6 ppm.



Várias são as situações clínicas estudadas pela ERM: diagnóstico diferencial do coma; avaliação de encefalopatia hepática subclínica e pré-transplante; diagnóstico diferencial de demência; avaliação de hipóxia neonatal; “work up” dos erros inatos do metabolismo; diagnóstico diferencial das doenças da substância branca; avaliação da doença cerebrovascular; avaliação de traumatismo crânio-encefálico; planejamento cirúrgico de epilepsia do lobo temporal; estudo das miopatias (Ross e Michaelis, 1996; Vermathen et al., 2000); Doença de Parkinson (Firbank, 2002); monitorização terapêutica do câncer (Chong et al, 1999 e 2001); esquizofrenia; transtornos afetivos; transtorno de pânico; fobia social; retardo mental; anorexia nervosa (Lafer e Amaral, 2000).

A ^{31}P -ERM foi a forma utilizada nos primeiros momentos da ERM na neuropsiquiatria (Passe et al., 1995). Isso porque: a) não havia a

necessidade de marcar o ^{31}P para ser estudado já que ele ocorria naturalmente no organismo; b) importantes metabólitos contendo fósforo podiam ser estudados pela técnica; c) a ^{31}P -ERM permitia avaliar as técnicas bioquímicas clássicas. A ^{31}P -ERM fornece uma estimativa da concentração dos PME e dos PDE. Ambos são fosfolipídios constituintes das membranas celulares sendo os PME precursores para a formação da membrana e os PDE produtos da degradação da membrana. Por meio de sua análise torna-se possível conhecer o processo de síntese e degradação das membranas celulares. Tanto em animais quanto em seres humanos as taxas de PME e PDE parecem diminuir em função da idade quando comparando indivíduos recém-nascidos, adultos jovens e idosos. Pesquisas com exame postmortem de cérebros de indivíduos portadores de Doença de Alzheimer têm mostrado um aumento no PME e PDE e estabelecido uma relação entre os níveis de PDE e a quantidade de placas senis. Essa relação parece mais forte em pacientes com DA que possuem o alelo APOE-E4 (apolipoproteína E4). Os estudos com ^{31}P -ERM têm mostrado os seguintes achados: diminuição da PCr em fases iniciais da doença seguida de normalização com a evolução clínica; aumento do PME em fases iniciais da doença e então normalização; aumento do PDE se correlacionando com o número de placas senis e a gravidade da doença; e alterações do PME e PDE precedendo a manifestação de sintomas clínicos (Valenzuela et al., 2001). A ^{31}P -ERM também estuda o metabolismo do fosfato de alta energia (Passe et al., 1995). Sob condições normais, o cérebro obtém a maior parte de sua energia da hidrólise do fosfato de alta energia ligado ao ATP e a PCr.

Os estoques de energia são regulados a partir do controle da fosforilação oxidativa mitocondrial da glicose. Em pacientes portadores de demência de Alzheimer, nenhuma alteração evidente nos níveis de fosfato de alta energia tem sido associada a uma diminuição do metabolismo da glicose e não parecem exercer papel na fisiopatologia dessa forma de demência. Em outras formas de demência, entretanto, parecer haver alterações desses elementos. Esse achado pode resultar em um método de diferenciação entre a DA e outras formas de demência.

A ^1H -ERM (Passe et al., 1995) foi desenvolvida mais recentemente. A maior dificuldade para avaliar o ^1H era o fato dele estar presente em altas concentrações na água e lipídios e isso causava distorção no espectro. Com o advento de técnicas de supressão da água e gordura, a ^1H -ERM pôde ser implementada.

Em um estudo longitudinal acompanhando pacientes com esclerose múltipla através de exames de ^1H -ERM, imagens de RM e estudos volumétricos de lesões cerebrais Narayana et al. (1998) encontraram os seguintes achados: a) alterações metabólicas pela ^1H -ERM para alguns indivíduos ocorriam antes do aparecimento das imagens na RM; b) alterações metabólicas regionais eram dinâmicas e reversíveis em alguns pacientes; c) alterações transitórias do NAA foram algumas vezes encontradas em placas agudas de desmielinização sugerindo que a redução dos níveis de NAA pode não representar, necessariamente, dano definitivo ao neurônio. Uma relação inversa entre os níveis de NAA e o volume de

lesão total cerebral foi encontrada indicando que, o NAA, poderia ser utilizado para avaliar a gravidade da doença.

Hu et al. (1999) avaliaram pacientes com Doença de Parkinson idiopática quanto aos achados da $^1\text{H-ERM}$. A relação NAA/Cr estava reduzida de forma global no córtex têmporo-parietal dos pacientes com a doença. Os níveis reduzidos de NAA/Cr correlacionaram-se com um pior desempenho nos teste que avaliaram as funções cognitivas como linguagem, função executiva e visuoespacial.

Martin et al. (1999) avaliaram as alterações metabólicas do Cr/NAA no hipocampo direito e esquerdo de indivíduos com epilepsia do lobo temporal. Estudaram a memória visual e verbal, a inteligência, a atenção e a visuopercepção utilizando uma bateria de testes cognitivos. Medidas de memória verbal episódica e nomeação por confrontação visual estiveram, seletivamente, associadas à função metabólica do hipocampo esquerdo. Medidas de reconhecimento visual estiveram relacionadas à função do hipocampo direito. O estudo sugeriu que funções cognitivas específicas estariam relacionadas com anormalidades na atividade metabólica do hipocampo. Na mesma linha de raciocínio Ferrier et al. (2000) mostraram que estruturas do lobo temporal medial e neocórtex adjacente têm um importante papel na memória de reconhecimento, sobretudo para palavras. Os autores avaliaram 16 pacientes com epilepsia do lobo temporal correlacionando achados do teste de Wada (teste do amobarbital intracarotídeo) com $^1\text{H-ERM}$. A pontuação para memória total, memória para objetos e faces e as medidas de NAA/(Cr+PCr) foram significativamente

menores no hemisfério danificado pela epilepsia – com esclerose mesial temporal. Como se acredita que o NAA reflita lesão ou morte neuronal, é de se esperar a correlação entre perda, ou déficit funcional, neuronal e diminuição dos níveis de NAA.

Murata et al. (2001) estudaram os achados da ^1H -ERM em uma população geriátrica com comprometimento cognitivo do tipo frontal e persistência de sintomas depressivos. Demonstraram que as alterações cognitivas e do humor estavam relacionadas a quantidades moderadas de lesões da substância branca profunda com diminuição dos níveis de NAA/Cr. As alterações na espectroscopia precederam o aparecimento das queixas cognitivas.

Em relação à DA, os estudos (Kantarci et al., 2000; Engelhardt et al., 2001; Valenzuela et al., 2001) mostram de forma consistente uma redução nos níveis de NAA em praticamente todo o cérebro. A magnitude desse decréscimo varia de 10 a 15% a depender do protocolo utilizado para análise. Essa redução é mais acentuada na substância cinzenta do que na branca. Entretanto, o nível de redução do NAA não guarda relação com o nível de atrofia cerebral nem com o grau de demência. A Cho é representada na ^1H -ERM pela soma da glicerofosfocolina, fosfocolina e colina. Achados na literatura propõem que as alterações da colina possam representar uma anormalidade pré-clínica no metabolismo da membrana celular neuronal. Entretanto, esses estudos têm falhado em demonstrar diferenças significativas entre portadores de DA e indivíduos normais. O mio-inositol mostra-se aumentado na substância cinzenta de pacientes com DA –

cerca de 15 a 20%. Indivíduos com MCI também mostram aumento do ml no cingulo posterior.

Enquanto a especificidade clínica da redução do NAA na DA é baixa, a adição da informação do aumento do ml aumenta a eficácia da possibilidade diagnóstica e a utilização do quociente NAA/ml parece auxiliar a discriminar casos de possível DA de controles. Essa razão parece se correlacionar com a pontuação do MEEM permitindo, inclusive, prever alterações do MEEM no período de doze meses. Os outros metabólitos – Cr e PCr, Glx, glicose e o lactato também têm sido investigados mas com menor soma de informações (Hodgson et al., 1999; Lauderback et al., 1999; Ferrarese et al., 2000).

Os transtornos de memória sem demência também têm sido avaliados pela $^1\text{H-ERM}$ (Kantarci et al., 2002). Bartrés-Faz et al. (2002) avaliaram queixa de memória relacionada à idade em 44 indivíduos e correlacionaram os achados com alterações neuroanatômicas, neuroquímicas e genéticas. A idade estava correlacionada de forma negativa com o volume do hipocampo e dos gânglios da base. A razão NAA/Cr na região do lobo medial temporal estava relacionada com baixa performance em teste de memória verbal. Parnetti et al. (1996) avaliaram 18 indivíduos (6 - DA, 6 - AAMI e 6 - controles normais) com volumetria por ressonância magnética, SPECT e $^1\text{H-ERM}$. Os resultados encontrados foram: a) redução do padrão perfusional nos pacientes portadores de DA quando comparados com controles e AAMI – esses últimos também tiveram uma redução da perfusão quando comparados com controles e houve correlação entre o grau

de redução perfusional medido e o grau de comprometimento cognitivo medido pelo MEEM; b) as medidas de volume nos casos com DA e AAMI foram menores do que as encontradas no grupo controle e indistinguíveis entre si. c) o mio-inositol estava aumentado nos casos de DA e AAMI sendo nesse último grupo com valores intermediários. O NAA estava diminuído nos casos de DA e reduzido de forma intermediária nos casos de AAMI.

Em relação à demência de Alzheimer, a compreensão da história natural da doença permite diagnósticos em fases mais iniciais do problema, a instituição de programas terapêuticos mais eficazes e o estabelecimento de medidas para retardar o aparecimento da doença. Esse pensamento é corroborado pela observação de que intervenções medicamentosas para restabelecer a neurotransmissão cerebral, quando iniciadas tardiamente, têm tido pouco sucesso no controle da doença, quando uma grande perda de sinapses já ocorreu no cérebro do paciente com DA ([Barker et al., 1995](#); [Convit et al., 1993](#); [Convit et al., 1995](#)).

Com base nesses dados, algumas hipóteses foram formuladas em relação à $^1\text{H-ERM}$ na DA: a redução do NAA e o aumento do ml poderiam ser considerados marcadores metabólicos da doença? A maioria dos estudos utiliza dados de centros de pesquisa. Uma amostra da comunidade teria os mesmos achados? Sabendo que a DA é uma doença evolutiva em termos de comprometimento do SNC, seria possível estabelecer um padrão dos achados da $^1\text{H-ERM}$ para as regiões anteriores e posteriores do cérebro? Em se tratando de uma doença com comprometimentos cognitivos, que correlações seriam esperadas entre os achados da $^1\text{H-ERM}$ e os testes

neuropsicológicos? Finalmente, pensando em termos de instrumento diagnóstico, qual seria a sensibilidade e especificidade da ^1H -ERM para o diagnóstico de DA e CIND?

Para tentar responder algumas dessas perguntas, formulamos alguns objetivos delineados a seguir.

2. OBJETIVOS

- A. Descrever os achados da ^1H -ERM em indivíduos normais, com Comprometimento Cognitivo sem Demência (CIND) e com DA a partir de uma amostra da comunidade na cidade de São Paulo.

- B. Correlacionar esses achados com os resultados dos testes neuropsicológicos – MEEM e CAMDEX procurando correlações (negativas e positivas) que identifique e diferencie os três grupos entre si.

- C. Analisar os dados da ^1H -ERM quanto à sensibilidade e especificidade diagnóstica.

3. MÉTODOS

3.1. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

O protocolo de pesquisa foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Todos os pacientes ou seus representantes legais assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido concordando em participar da pesquisa.

3.2. Fases

3.2.1. Fase de rastreamento de demência na comunidade

3.2.1.1. *Escolha da amostra*

A primeira parte da pesquisa iniciou-se com o projeto de pesquisa na área de psiquiatria com o tema: “Demência e Transtornos Cognitivos em idosos: um estudo clínico-epidemiológico em dois municípios do estado de São Paulo”.

O estudo consistiu de um inquérito epidemiológico de Prevalência de Demência na cidade de São Paulo, em indivíduos com mais de 60 anos, realizado entre julho de 2002 e julho de 2004 e composto de duas fases: uma fase de rastreamento – feita na comunidade, realizada por

entrevistadores treinados; e uma fase diagnóstica – feita em um hospital universitário, realizada pelos médicos envolvidos no projeto.

A amostra foi selecionada com base em dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), que é responsável por nosso censo. Para a nossa pesquisa foi feita uma estratificação da população idosa da cidade de São Paulo, dividindo-a em três grupos – tercís, e escolhendo um distrito representativo de cada grupo [um com escolaridade e nível sócio-econômico baixo (Brasilândia); um com escolaridade e nível sócio-econômico médio (Rio Pequeno e Vila Sônia); e um com escolaridade e nível sócio-econômico alto (Jardim Paulista)], de maneira semelhante àquela feita por Ramos e Goihman (1989).

A escolha dos distritos obedeceu aos seguintes critérios: a) posição estratégica nos tercís, ou seja, Jardim Paulista situa-se no topo do primeiro tercil; Vila Sônia e Rio Pequeno no meio do tercil intermediário; e Brasilândia em posição compatível com os distritos de pior situação; b) aspectos operacionais que facilitassem a vinda dos casos suspeitos ao Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC FMUSP) para serem examinados na 2ª fase (nestes aspectos sobressaiu o fato de que partes desses distritos estão na área de captação do Hospital); c) uma população de idosos e uma densidade populacional dos mesmos que favorecessem o trabalho de campo; d) manutenção na amostra da proporção de idosos existente em cada conglomerado sócio-econômico. A população de idosos para cada distrito foi: 16.999 no Jardim Paulista, 14.623 em vila Sônia e Rio Pequeno e 11.710 em Brasilândia.

3.2.1.2. Tipo de amostra

Para calcular o tamanho da amostra, foi utilizado o valor de prevalência de demência encontrado em Catanduva (Herrera et al., 2002), que foi 7,1% (erro da amostragem = 1,5 - 2,0%; 95% de nível de confiança). Este cálculo resultou em uma amostra de 1.980 indivíduos idosos na cidade de São Paulo. A fração amostral foi calculada, dividindo-se a amostra a ser estudada (1.980) pelo número total de idosos dos quatro distritos (43.332), o que resultou em 4,75%. Para escolha dos setores censitários os seguintes procedimentos foram seguidos: i) número de idosos a serem entrevistados em cada distrito selecionado: a partir da fração amostral (4,75%), calculou-se o número de idosos para área mais rica ($4,75\% \times 16.999 = 808,13$), para área intermediária ($4,75\% \times 14.623 = 695,18$), e para área mais carente ($4,75\% \times 11.710 = 556,69$). A fração amostral é a razão entre 1.980 e 43.332, que é a população dos quatro distritos; ii) número de setores sorteados em cada distrito foi de 30. Essa opção se prende ao fato de cada área sócio-econômica ser analisada autonomamente; iii) a escolha dos setores censitários propriamente dita foi realizada com sorteio em dois estágios, com probabilidade proporcional ao tamanho do conglomerado. O fator sistemático em cada um dos três tipos de distritos foi: ($16.999 \div 30 = 566$; $14.623 \div 30 = 487$; $11.710 \div 30 = 390$). Estabelecido o início casual para cada um dos distritos e organizados os setores por soma acumulada, pôde-se selecionar os setores de forma sistemática aplicando as constantes 566, 487 e 390 respectivamente para Jardim Paulista, Vila Sônia mais Rio Pequeno e Brasilândia.

3.2.1.3. *Coleta de dados no campo*

O trabalho de campo foi realizado com a aplicação do instrumento de inquérito epidemiológico (questionários) que foram aplicados por entrevistadores previamente treinados e familiarizados com o instrumento. Avaliações periódicas da qualidade das informações foram efetuadas durante todo o processo de aquisição dos dados.

Uma sub-amostra aleatória foi selecionada pelo supervisor para checar algumas respostas fornecidas e evitar que informações falsas fossem fornecidas pelos entrevistadores.

Depois de completadas, as entrevistas foram digitadas e a consistência dos dados avaliada no PROTER-HC FMUSP. As entrevistas com erros foram enviadas de volta para correção.

3.2.1.4. *O instrumento de rastreio*

O instrumento de rastreio foi idealizado como uma combinação de dois testes cognitivos aplicados nos sujeitos: Mini-exame do Estado Mental [MEEM (Folstein et al., 1975)] e o “Fuld Object Memory Evaluation” [FOME (Fuld et al., 1988)]; e dois instrumentos aplicados nos informantes: “Informant Questionnaire on Cognitive Decline in the Elderly” [IQCODE (Jorm et al., 1989)] e a “Activities of Daily Living – International Scale” [ADL-IS (Lehfeld et al., 1997)]. Os resultados dos testes e escalas foram combinados para obter maior acurácia no diagnóstico de demência ou de CIND em cada amostra populacional. Os operadores lógicos para obter este escore composto foram combinados da seguinte maneira: MEEM ou FOME e

IQCODE ou ADL-IS (adaptado de Mackinnon e Mulligan, 1998). Um estudo piloto validou o instrumento de rastreio incluindo os pontos de corte necessários para o diagnóstico de demência (Bustamante et al., 2003). Os pontos de corte do MEEM foram escolhidos segundo o grau de escolaridade dos indivíduos avaliados, tendo como referência os resultados publicados por Brucki et al. (2003). Privilegiou-se uma sensibilidade elevada, buscando-se incluir o maior número possível de sujeitos com algum comprometimento cognitivo, ou idosos com comprometimento cognitivo leve, que poderiam preencher na fase seguinte os critérios para CIND. Os pontos de corte dos instrumentos de rastreio estão descritos no quadro abaixo:

MEEM: Analfabetos	< 20
1 -4 anos	< 25
5 -8 anos	< 27
> 9 anos	< 28
FOME	< 35
IQCODE	> 3,40
ADL-IS	> 3,19

A seguir um resumo de cada um desses instrumentos:

➤ MEEM – consiste de questões agrupadas em sete categorias de funções cognitivas perfazendo um total de 30 pontos: orientação temporal (5 pontos), orientação espacial (5 pontos), registro de três palavras (3 pontos), atenção e calculo (5 pontos), evocação de três palavras (3 pontos), linguagem (8 pontos), e construção visual (1 ponto).

➤ FOME – é um instrumento que avalia o processo de aprendizagem e evocação do paciente procurando minimizar os vieses cultural e educacional dos testes cognitivos. Fornece informação acerca do reconhecimento táctil, da discriminação direita - esquerda e da fluência verbal. Para esse projeto foi utilizada a versão com tradução e adaptação para o português elaborada pela psicóloga Cândida H.P. Camargo do Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas do Estado de São Paulo e considerado como um dos mais sensíveis para detectar casos de doença de Alzheimer e transtornos cognitivos leves (Cid et al., 1998).

➤ IQCODE – é um instrumento desenhado para medir a perda cognitiva do indivíduo. É constituído por 26 itens perguntados a um informante próximo ao paciente e avalia o grau de performance desse último em situações do cotidiano. O desempenho atual é comparado ao de dez anos atrás.

➤ ADL-IS – patrocinada pelo Laboratório Farmacêutico Bayer foi desenvolvida para se tentar medir as mudanças nas atividades diárias nos primeiros estágios da demência. Compreende 13 domínios distribuídos em 25 itens que incluem: atividades do dia a dia, problemas em relação a tarefas específicas da vida diária e funções cognitivas. A pontuação em cada

um dos itens vai de 1-10, pedindo-se ao cuidador ou a um informante, suficientemente familiarizado com o paciente, que avalie o desempenho do indivíduo que está sob seus cuidados. O escore total é feito pela somatória de todos os escores parciais e divididos pelo número de itens respondidos com dois decimais, com a pontuação final variando de 1,00 a 10,00. Nesse projeto foi utilizada uma versão para a língua portuguesa feita pelo “MAPI Research Institute” e disponível desde maio de 1999 após processo de validação ([Salud e Flaskamp, 1999](#)).

Também foi utilizado o instrumento para classificação sócio-econômica da ABIPEME (Associação Brasileira dos Institutos de Pesquisa de Mercados)([Marplan, 1989](#))

3.2.2. Fase de avaliação clínica e neuropsicológica no HC FMUSP

3.2.2.1. *Local das entrevistas*

A fase de coleta de dados no HC FMUSP foi realizada no ambulatório do PROTER no Instituto de Psiquiatria. As avaliações neuropsicológicas foram realizadas pelos médicos psiquiatras e neurologista envolvidos no projeto de pesquisa: “Demência e Transtornos Cognitivos em idosos: um estudo clínico-epidemiológico em dois municípios do estado de São Paulo” (D.A.Jr, M.C.S.B., M.F.T., S.R.H., C.M., L.S., M.A.M., J.F.).

3.2.2.2. *Amostra selecionada*

Um total de 251 casos, pessoas suspeitas de terem DA ou CIND, foram encaminhados para o HC FMUSP onde foram realizadas as avaliações neuropsicológicas utilizando o CAMDEX (Cambridge Examination for Mental Disorders - Roth et al., 1986) – versão traduzida e adaptada para a língua portuguesa (Bottino et al., 1999). A avaliação foi realizada por médicos treinados e habilitados para o uso do CAMDEX. Cinco por cento dos não-casos (N=100) de rastreio negativo – indivíduos normais, também foram selecionados para serem avaliados. O diagnóstico de DA foi baseado nos critérios do "National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke" e da "Alzheimer's Disease and Related Disorders Association" - NINCDS-ADRDA (McKhann et al., 1984) e do DSM-IV (APA, 1994). Para o diagnóstico de CIND utilizaram-se os critérios de Eby et al. (1995) modificados, com escores até um desvio padrão abaixo da média para a população estudada em qualquer um dos subitens da bateria neuropsicológica utilizada (CAMCOG - Cognitive Section of the CAMDEX).

3.2.2.3. *Métodos de avaliação*

No HC FMUSP pacientes e sujeitos normais, além da bateria neuropsicológica, também realizaram exame físico e neurológico e exames complementares de rotina para a investigação de síndromes demenciais (hemograma completo, dosagem de sódio, potássio, uréia, creatinina, glicemia, proteínas, enzimas hepáticas, hormônios tireoidianos, vitamina B12, folato e sorologia para sífilis no sangue; urina I; radiografia de tórax;

eletrocardiograma; e Tomografia Computadorizada de crânio). Todos os indivíduos foram avaliados para o diagnóstico de demência vascular utilizando a escala de Hachinski (1975). Aqueles com critérios para essa forma de demência foram excluídos da amostra. Os indivíduos com diagnóstico de demência foram ainda classificados de acordo com o grau de severidade da doença utilizando a escala “Clinical Dementia Rating” (CDR) (Hughes et al., 1982).

3.2.2.4. CAMDEX

O CAMDEX é um instrumento de pesquisa extenso desenvolvido para elaboração de diagnóstico sintrômico e etiológico de pacientes com suspeita de demência. A seção cognitiva denominada CAMCOG (Cognitive Section of the CAMDEX) é utilizada como instrumento de rastreamento em levantamentos populacionais (Boersma et al.,1998). O CAMDEX foi publicado em 1986 por Roth et al. e compreende:

- a) Entrevista psiquiátrica estruturada com o sujeito abordando o estado mental atual, história pessoal e medicamentosa prévia e história familiar.
- b) Escala para avaliação objetiva de várias funções cognitivas denominada CAMCOG. Esse teste cognitivo contém 60 itens que inclui o MEEM e avalia orientação, linguagem, memória, praxia, atenção, pensamento abstrato, percepção e cálculo.
- c) Entrevista padronizada para registro de observações do estado mental atual, da aparência e conduta do sujeito.

- d) Entrevista estruturada com o familiar ou outro informante para obter informações independentes relacionadas ao funcionamento mental do sujeito, história prévia, habilidades e adaptação cotidiana, sintomas atuais e história médica prévia.
- e) Breve avaliação física incluindo avaliação neurológica.
- f) Registro de achados laboratoriais, radiológicos e de medicações.

A versão utilizada nessa pesquisa foi a da língua portuguesa, traduzida e adaptada para o português por Bottino et al. (1999). Após a aplicação das entrevistas, o diagnóstico clínico foi feito utilizando-se dos critérios operacionais fornecidos pelo próprio CAMDEX. Os resultados foram digitados e armazenados em um banco de dados utilizando o programa estatístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 10.0 for Windows.

3.2.3. Fase dos exames de neuroimagem com ressonância magnética

Da amostra de pacientes e controles normais avaliados pelo CAMDEX, foram selecionados 69 indivíduos para realização dos exames de neuroimagem. Os sujeitos foram divididos de acordo com o diagnóstico ao final da aplicação do CAMDEX: 35 indivíduos com diagnóstico de DA; 12 com diagnóstico de CIND; e 22 idosos normais – grupo controle.

3.2.3.1. Técnica de aquisição da Espectroscopia de Prótons

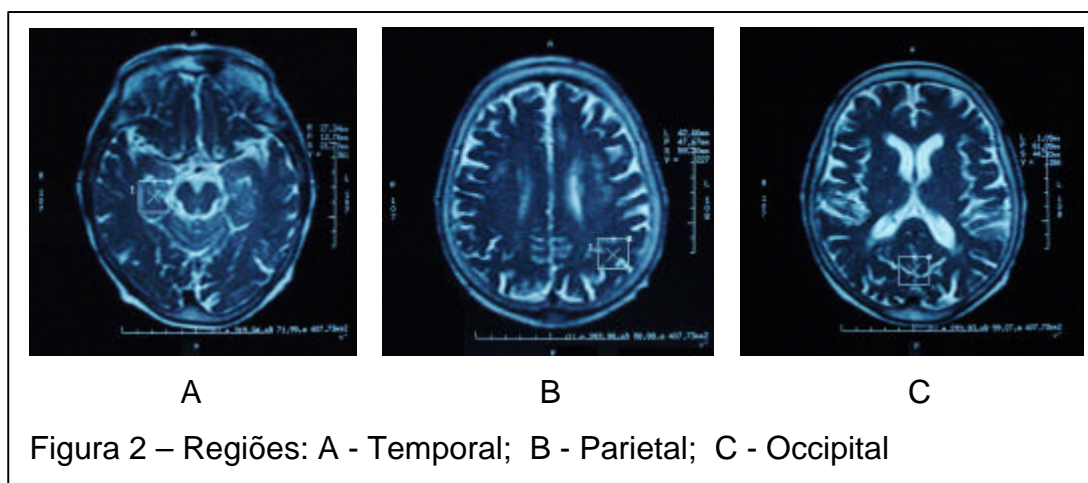
Os exames de ressonância magnética foram realizados no Serviço de Ressonância do INCOR - Hospital das Clínicas da Faculdade de

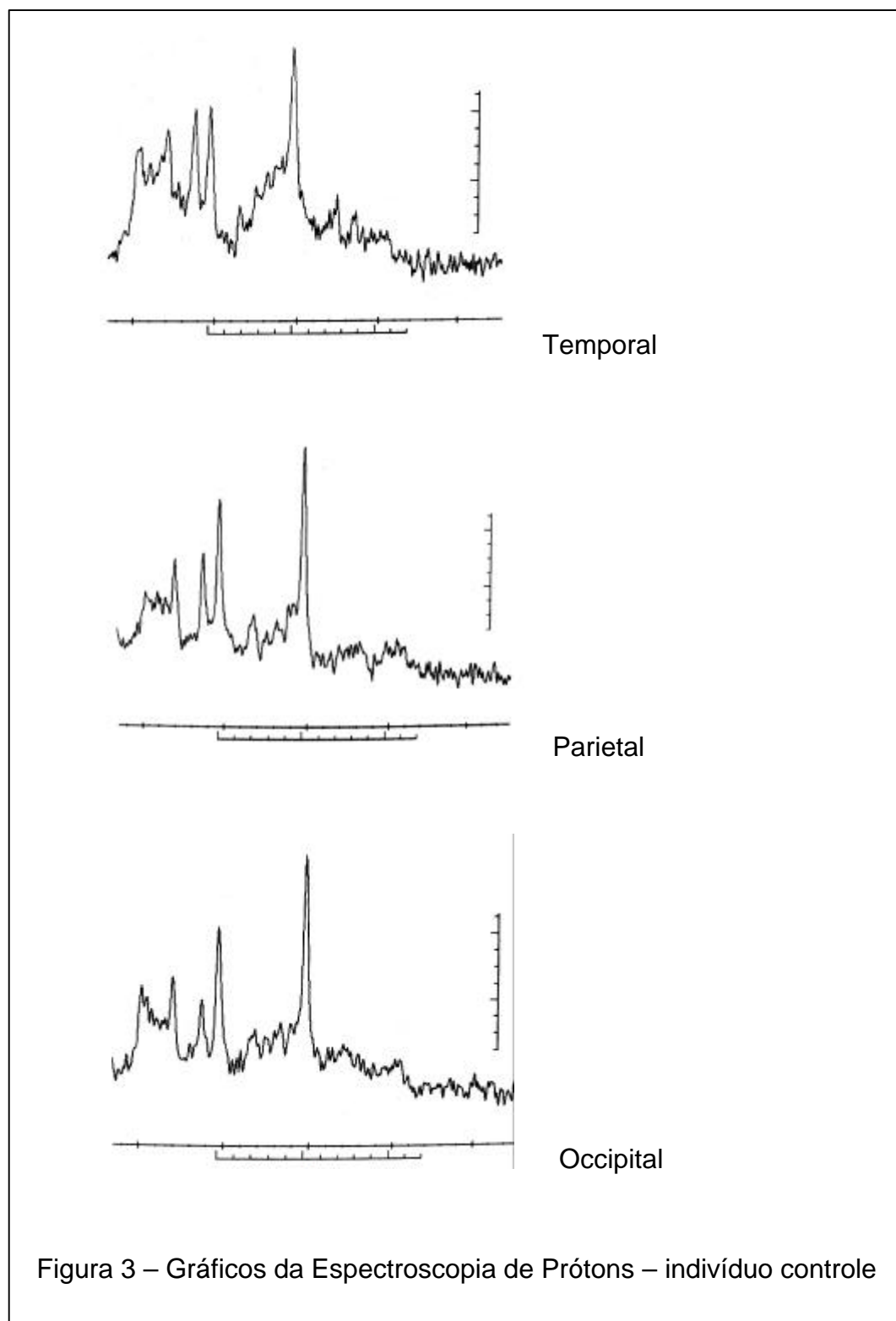
Medicina da Universidade de São Paulo. Utilizou-se um aparelho Sigma Horizon LX (General Electric) de 1,5 Tesla. O protocolo incluiu cortes axiais “pesados” em T1 com a técnica “spin-echo” e imagens “pesadas” em T2 com as técnicas “fast spin-echo” (FSE) e FLAIR e obedeceu a seguinte seqüência:

- a) Inicialmente realizou-se uma seqüência com o localizador em três planos com duração de cerca de 25 segundos e que serviu de base para programar as demais séries.
- b) A seguir foi realizada uma seqüência com um localizador 128 “Yres Brain” axial reto (oito segundos) para programação das espectroscopias.
- c) A primeira seqüência para espectroscopia de prótons foi a espectro axial com aplicativo “proton brain examination” (PROBE) – “point resolved spectroscopy” (PRESS), com 1min e 52 segundos de duração, TE de 35 ms, TR de 2000 ms, FOV de 24 mm² e voxel único de 2 x 2 x 2 cm totalizando 8 cm³ de área estudada. A região de interesse (ROI) para essa seqüência foi a temporal direita, sobre o hipocampo. Evitou-se aproximar a ROI dos ossos temporais e do corno temporal do ventrículo lateral. Tanto quanto possível também se tentou colocar a ROI sobre a porção anterior do hipocampo.
- d) A seguir realizou-se a espectro axial com aplicativo PROBE/SV – “stimulated echo acquisition mode” (STEAM) com 5 min e 4 segundos de duração, TE de 30 ms, TR de 2000 ms, FOV de 24 mm² e voxel

único de 8 cm³. Duas ROI foram escolhidas para estudo: a região parietal posterior esquerda e a região occipital medial.

A figura 2 mostra as três regiões cerebrais estudadas. O tempo total de exame foi de cerca de 50 minutos (quando não houve necessidade de repetição de alguma seqüência). As ¹H-ERM foram registradas em gráfico (Figura 3) bem como em valores absolutos e relativos à creatina (valor de referência ou denominador). Os cálculos foram realizados automaticamente pelo computador. A única interferência do pesquisador foi quanto à escolha da posição do voxel nas regiões de interesse. Procurou-se seguir sempre os mesmos parâmetros: para a região temporal direita, escolhiam-se no localizador as imagens que, numa seqüência de três, envolviam o hipocampo e evitava-se o corno temporal do ventrículo lateral; para a região parietal esquerda utilizava-se uma mesma seqüência de três imagens colocando-se o voxel na região parietal posterior ocupando a maior área cortical possível evitando o corno posterior do ventrículo lateral; finalmente, para a região occipital foi escolhida uma área medial tomando-se o cuidado de não envolver a porção posterior (esplênio) do corpo caloso. Todos os exames foram gravados em disco óptico.





3.3. Estatística

Os cálculos estatísticos foram feitos através do “Statistical Package for the Social Sciences” (SPSS) - versão 10.0 para Windowsl.

Foram feitas, inicialmente, estatísticas descritivas de todos os dados, incluindo média, desvio padrão e intervalo de confiança de 95%. Os dados demográficos intervalares (idade e escolaridade) dos indivíduos foram descritos quanto à sua frequência e analisados quanto à simetria da variância entre os grupos com o Teste de Levene. Em seguida, comparação entre os grupos foi realizada com a Análise de Variância (ANOVA) – exceção para a variável ‘escolaridade’ onde o Teste de Levene mostrou ausência de simetria e, por essa razão, realizou-se análise pelo Teste Estatístico de Kruskal Wallis. A variável nominal ‘gênero’ também foi descrita quanto à frequência. A análise das frequências de categorias foi feita utilizando-se o Chi quadrado. Correlação entre as variáveis ‘gênero’ – ‘idade’ e ‘idade’ – ‘escolaridade’ foram efetuadas com o Coeficiente de Correlação de Spearman. Esse Coeficiente também foi utilizado para avaliar correlação entre as variáveis intervalares e os testes cognitivos (MEEM e CAMCOG). Os dados contínuos (MEEM, CAMCOG e ¹H-ERM) dos três grupos de indivíduos foram analisados pelo Teste de Levene para simetria de variância e posteriormente comparados pela ANOVA. Cada uma das três regiões (temporal, parietal e occipital) foi analisada em separado. Em todas as análises pela ANOVA foi realizada correção pelo método de Bonferroni. A correlação entre os testes cognitivos (MEEM, CAMCOG e seus subitens) e

os valores dos metabólitos pela $^1\text{H-ERM}$ foi avaliada com o Coeficiente de Correlação de Spearman.

Análise de Função Discriminante foi realizada com todos os metabólitos medidos pela $^1\text{H-ERM}$ em cada uma das três regiões cerebrais. Cada metabólito foi analisado isoladamente e em combinação.

4. RESULTADOS

Sessenta e nove indivíduos foram convocados para realizar estudo de imagem com ressonância magnética. Dos pacientes com DA, 22 não realizaram a ^1H -ERM; no grupo CIND não houve absenteísmo; e no grupo controle, sete indivíduos não fizeram a espectroscopia. Os motivos mais freqüentes para não realizar o exame foram a simples recusa e dificuldade para contato (telefone desligado, mudança de endereço, viagem). Três pacientes faleceram no decurso da investigação e outros dois tiveram acidente vascular cerebral. Quarenta pacientes concluíram toda a investigação.

A Tabela 1 mostra os dados demográficos dos três grupos de indivíduos (DA, CIND e Controle).

Tabela 1 – Dados Demográficos

Parâmetros	Grupos			Teste Estatístico
	DA	CIND	CONTROLE	
N	13	12	15	
Gênero				
Feminino (%)	9 (69,2)	6 (50)	13 (86,7)	$\chi^2 = 8,067^*$
Masculino (%)	4 (30,8)	6 (50)	2 (13,3)	p = 0,005
Idade: média (DP)				
	77,08 (7,47)	74,58 (6,92)	69,47 (5,49)	F= 4,854**
IC 95%	72,57 – 81,59	70,19 – 78,98	66,43 – 72,51	p= 0, 013
Escolaridade (amos)				
Média (DP)	4,23 (5,76)	2,25 (1,91)	6,00 (3,57)	Ns
IC 95%	0,75 – 7,71	1,03 – 3,47	4,03 – 7,97	

DP – desvio padrão, IC – intervalo confiança, ns – não significativo

* Teste do Chi Quadrado – grupo Controle

** ANOVA – Controle versus DA

A análise da categoria ‘gênero’, utilizando o Chi Quadrado, mostrou significância, provavelmente devido ao fato do grupo Controle apresentar maior número de mulheres em relação aos homens ($\chi^2 = 8,067$; p = 0,005). Excluindo esse grupo, a análise estatística não mostrou diferença entre DA e CIND.

A variável ‘idade’ mostrou simetria da variância pelo Teste de Levene (p = 0,582), sendo observada com a ANOVA diferença entre os grupos Controle e DA (F = 4,854; p = 0,013). Correlação entre idade e gênero foi analisada pelo Coeficiente de Correlação de Spearman com resultado não significativo [rho = 0,183; (p = 0,25)] para a amostra como um todo. Análises individuais dos grupos não mostraram relação entre as variáveis.

Para a variável 'escolaridade' o Teste de Levene mostrou que as variâncias não eram simétricas e, por essa razão, a análise comparativa entre os grupos foi feita com o Teste Estatístico de Kruskal Wallis. O resultado mostrou $KW = 7,897$ e $p = 0,019$. Para saber se houve correlação entre a idade dos indivíduos e o grau de escolaridade, foi utilizado o Coeficiente de Correlação de Spearman. Para a amostra total, achou-se $\rho = -0,082$ ($p = 0,61$). A análise individual dos grupos repetiu os achados. Como houve diferença estatística entre os grupos para a escolaridade, foi investigada a correlação (Spearman) entre essa variável e os achados nos testes cognitivos (apresentada a seguir).

Os Gráficos 1 e 2 mostram o "box-plot" representando a distribuição dos valores da idade e escolaridade de cada grupo.

Gráfico 1 – Boxplot - Idade nos grupos

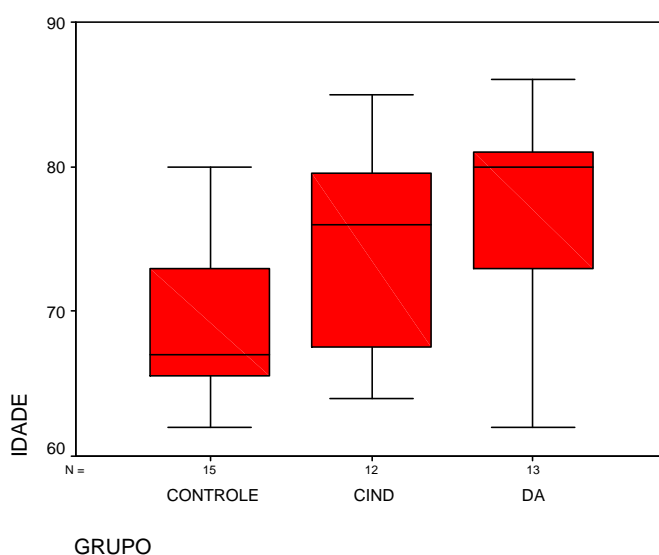
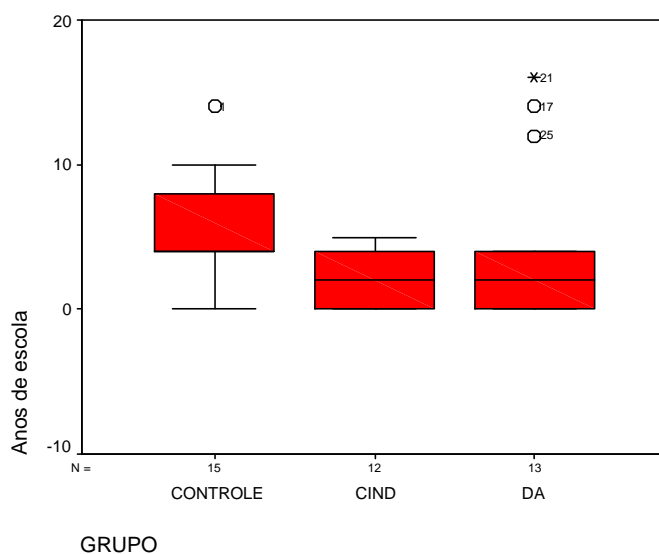


Gráfico 2 – Boxplot - Escolaridade nos grupos



A Tabela 2 mostra as médias (DP) dos escores dos testes cognitivos (MEEM e CAMCOG) para os três grupos diagnósticos. O Teste de Levene mostrou simetria de variância para resultados das duas variáveis ($p = 0,769$ e $0,59$). Diferença entre os grupos foi observada pela ANOVA: $F = 30,13$ e $p < 0,001$ para o MEEM; $F = 32,55$ e $p < 0,001$ para o CAMCOG.

Tabela 2 – Comparação entre testes cognitivos e diagnósticos médicos

Teste:média(DP) IC 95%	Grupos			ANOVA
	DA	CIND	CONTROLE	
MEEM	16,15 (4,02)	22,83 (3,51)	26,53 (3,14)	p < 0,005*
	13,73 – 18,58	20,60 – 25,06	24,80 – 28,27	p = 0,032**
				p < 0,005***
CAMCOG	51,38 (16,12)	67,42 (7,89)	88,00 (10,57)	p < 0,005*
	41,64 – 61,13	62,40 – 72,43	82,15 – 93,85	p < 0,005**
				p = 0,006***

* Controle versus DA

** Controle versus CIND

*** CIND versus DA

Os dois testes cognitivos utilizados nesse estudo (MEEM e CAMCOG) foram correlacionados com as variáveis 'idade' e 'escolaridade' e, posteriormente, com os achados da espectroscopia de prótons. A primeira análise foi realizada para avaliar a influência das duas variáveis intervalares nos resultados dos testes cognitivos.

Os Coeficientes de Correlação de Spearman encontrados na amostra DA para o MEEM foram: rho = -0,060; p = 0,846 para a idade e rho = 0,346; p = 0,247 para a escolaridade. Para o CAMCOG foram: rho = -0,042; p = 0,892 para idade e rho = 0,181; p = 0,555 para escolaridade.

Os valores encontrados na amostra CIND para o MEEM foram: rho = -0,129; p = 0,690 para a idade e rho = -0,437; p = 0,156 para a

escolaridade. Para o CAMCOG foram: $\rho = 0,147$; $p = 0,648$ para idade e $\rho = -0,004$; $p = 0,991$ para escolaridade.

Os achados do grupo Controle para o MEEM foram: $\rho = -0,407$; $p = 0,132$ para a idade e $\rho = 0,594$; $p = 0,034$ para a escolaridade. Para o CAMCOG foram: $\rho = -0,325$; $p = 0,237$ para idade e $\rho = 0,679$; $p = 0,005$ para escolaridade. Portanto, apenas a variável 'escolaridade' teve peso nos resultados dos escores nos testes cognitivos e apenas para o grupo Controle.

As Tabelas 3, 4 e 5 mostram os dados de espectroscopia de prótons dos grupos diagnósticos para as regiões temporal, parietal e occipital respectivamente. Comparações entre os dados dos três grupos foram analisadas pela ANOVA. O Teste de Levene mostrou simetria de variância entre os grupos para as variáveis estudadas.

Tabela 3 – Comparação grupos diagnósticos e metabólitos cerebrais - Temporal

Metabólito média (DP) IC 95%	DA	CIND	CONTROLE	ANOVA
NAA	91,23 (22,64) 77,55 – 104,91	88,58 (25,23) 72,55 – 104,61	93,80 (17,00) 84,39 – 103,21	ns
Cr	68,69 (12,68) 61,03 – 76,36	63,00 (15,78) 52,98 – 73,02	63,73 (9,31) 58,58 – 68,89	ns
Cho	64,15 (15,18) 54,98 – 73,32	61,33 (18,31) 49,70 – 72,97	62,00 (15,52) 53,40 – 70,60	ns
ml	58,46 (14,43) 49,74 – 67,18	51,00 (11,43) 43,74 – 58,23	53,80 (6,99) 49,93 – 57,67	ns
NAA/Cr	1,33 (0,25) 1,17 – 1,48	1,41 (0,20) 1,28 – 1,53	1,48 (0,24) 1,34 – 1,61	ns
Cho/Cr	0,93 (0,12) 0,85 – 1,01	0,97 (0,12) 0,89 – 1,05	0,96 (0,16) 0,87 – 1,05	ns
ml/Cr	0,85 (0,13) 0,77 – 0,92	0,84 (0,13) 0,75 – 0,92	0,87 (0,16) 0,77 – 0,96	ns

NAA – n-acetilaspártato, Cr – creatina, Cho – colina, ml – mio-inositol
ns – não significante

Tabela 4 – Comparação grupos diagnósticos e metabólitos cerebrais - Parietal

Metabólito média (DP) IC 95%	DA	CIND	CONTROLE	ANOVA
NAA	65,38 (15,01) 56,32 – 74,45	67,08 (12,34) 59,24 – 74,92	73,13 (11,64) 66,69 – 79,58	ns
Cr	48,08 (9,50) 42,34 – 53,82	47,08 (6,71) 42,82 – 51,35	52,00 (5,01) 49,22 – 54,78	ns
Cho	33,54 (8,15) 28,61 – 38,46	30,92 (8,04) 25,81 – 36,02	37,67 (4,42) 35,22 – 40,11	p = 0,05*
ml	27,08 (5,28) 23,88 – 30,27	27,08 (6,16) 23,17 – 30,99	31,07 (4,93) 28,33 – 33,80	ns
NAA/Cr	1,36 (0,19) 1,24 – 1,48	1,42 (0,12) 1,34 – 1,50	1,40 (0,11) 1,33 – 1,46	ns
Cho/Cr	0,69 (0,10) 0,63 – 0,76	0,65 (0,10) 0,58 – 0,72	0,72 (0,08) 0,67 – 0,77	ns
ml/Cr	0,57 (0,05) 0,53 – 0,60	0,57 (0,09) 0,51 – 0,63	0,63 (0,12) 0,56 – 0,70	ns

NAA – n-acetilaspártato, Cr – creatina, Cho – colina, ml – mio-inositol

*Controle versus CIND

ns – não significante

Tabela 5 – Comparação grupos diagnósticos e metabólitos cerebrais - Occipital

Metabólito média (DP) IC 95%	DA	CIND	CONTROLE	ANOVA
NAA	66,23 (7,74) 61,56 – 70,91	65,25 (15,56) 55,36 – 75,14	70,00 (8,77) 65,14 – 74,86	ns
Cr	50,15 (5,30) 46,95 – 53,36	47,67 (8,52) 42,25 – 53,08	52,33 (6,25) 48,87 – 55,80	ns
Cho	26,92 (3,62) 24,74 – 29,11	26,08 (6,39) 22,02 – 30,14	25,53 (3,16) 23,78 – 27,28	ns
ml	29,00 (6,34) 25,17 – 32,83	27,50 (5,39) 24,08 – 30,92	31,00 (3,85) 28,87 – 33,13	ns
NAA/Cr	1,31 (0,11) 1,25 – 1,38	1,36 (0,16) 1,25 – 1,47	1,34 (0,10) 1,28 – 1,39	ns
Cho/Cr	0,53 (0,07) 0,49 – 0,58	0,54 (0,09) 0,49 – 0,60	0,49 (0,05) 0,46 – 0,52	ns
ml/Cr	0,57 (0,10) 0,51 – 0,63	0,56 (0,07) 0,51 – 0,61	0,55 (0,06) 0,51 – 0,59	ns

NAA – n-acetilaspártato, Cr – creatina, Cho – colina, ml – mio-inositol
ns – não significante

Nos Gráficos abaixo, estão representadas as médias dos metabólitos para cada uma das regiões analisadas.

Gráfico 3 – Boxplot NAA Temporal

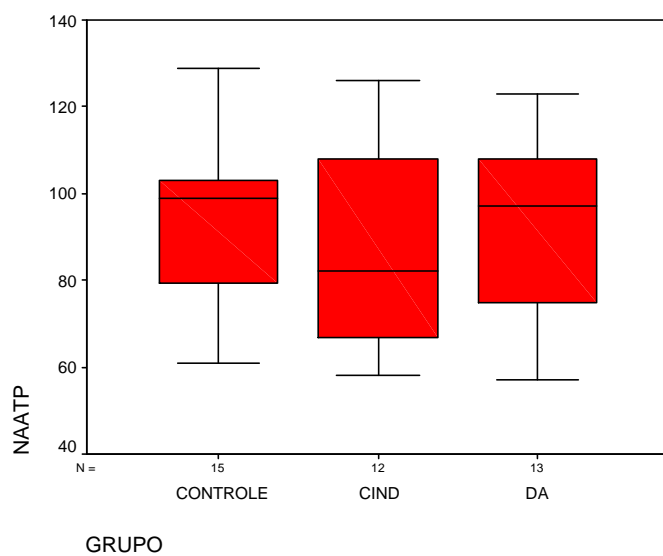


Gráfico 4 – Boxplot NAA Parietal

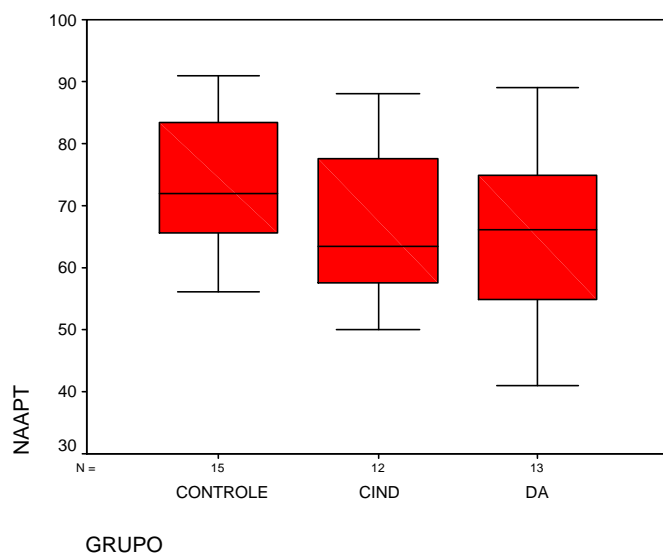


Gráfico 5 – Boxplot NAA Occipital

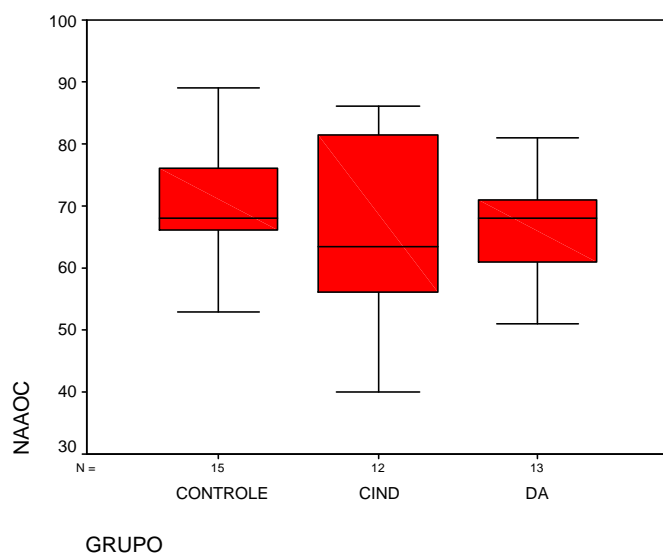


Gráfico 6 – Boxplot Cr Temporal

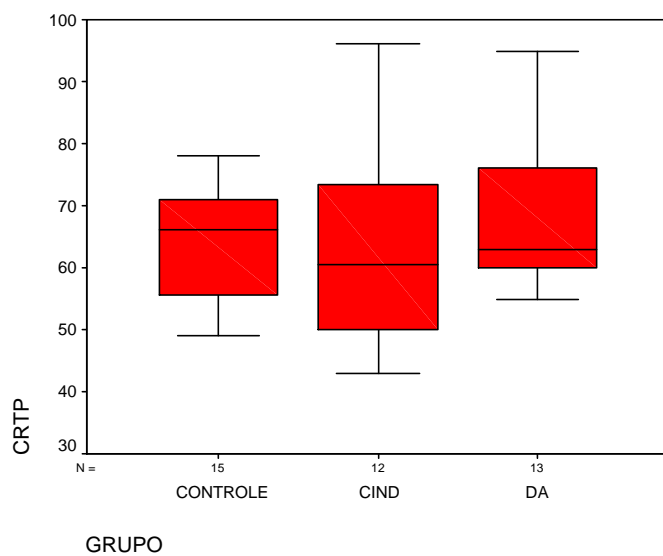


Gráfico 7 – Boxplot Cr Parietal

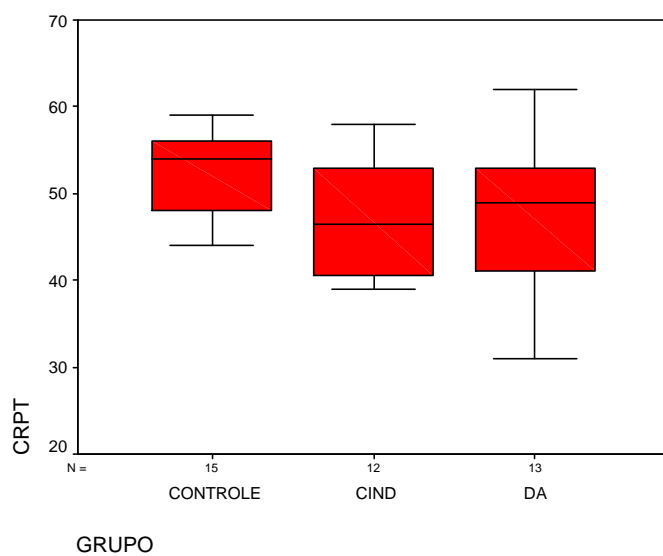


Gráfico 8 – Boxplot Cr Occipital

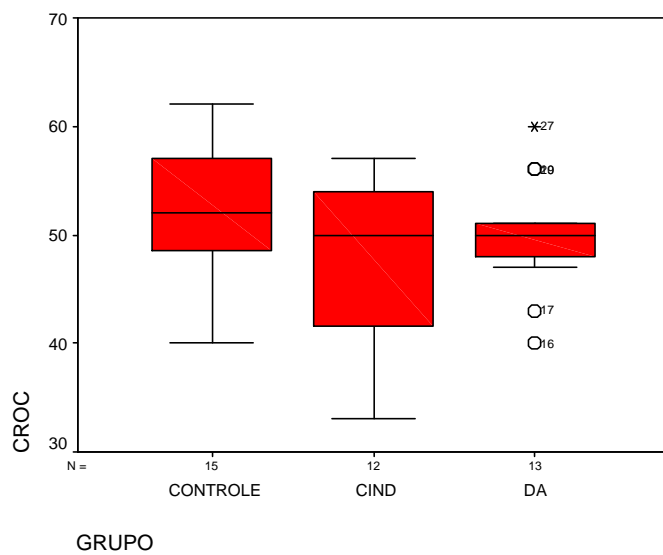


Gráfico 9 – Boxplot Cho Temporal

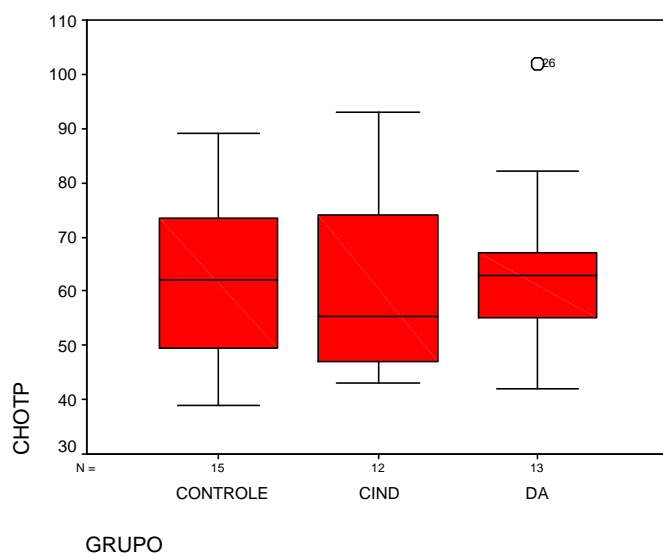


Gráfico 10 – Boxplot Cho Parietal

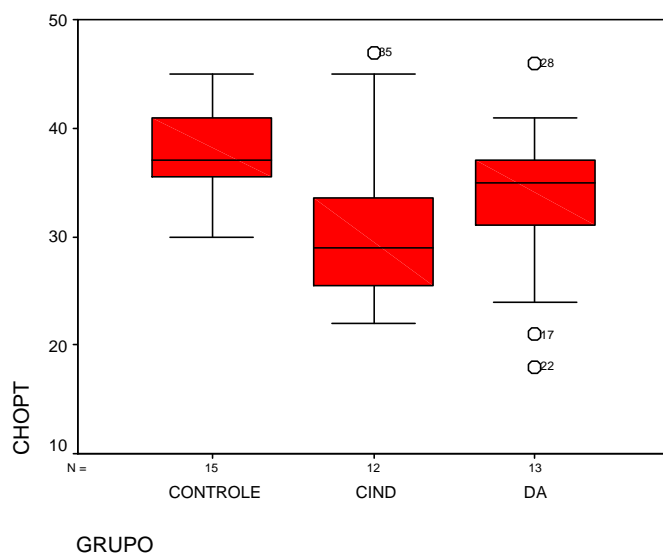


Gráfico 11 – Boxplot Cho Occipital

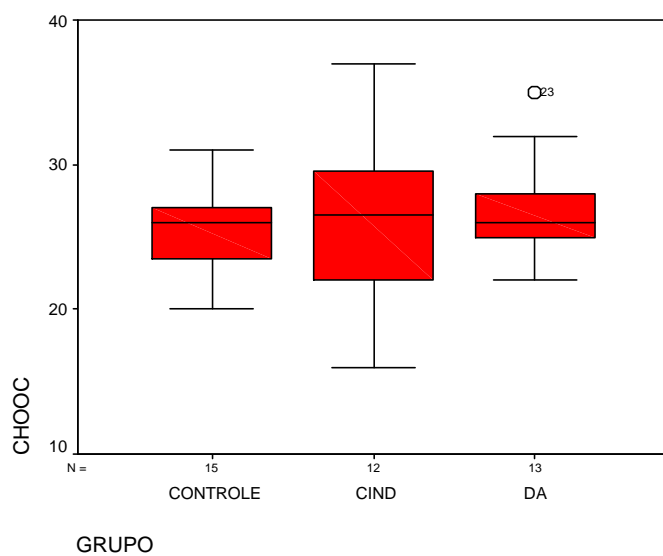


Gráfico 12 – Boxplot ml Temporal

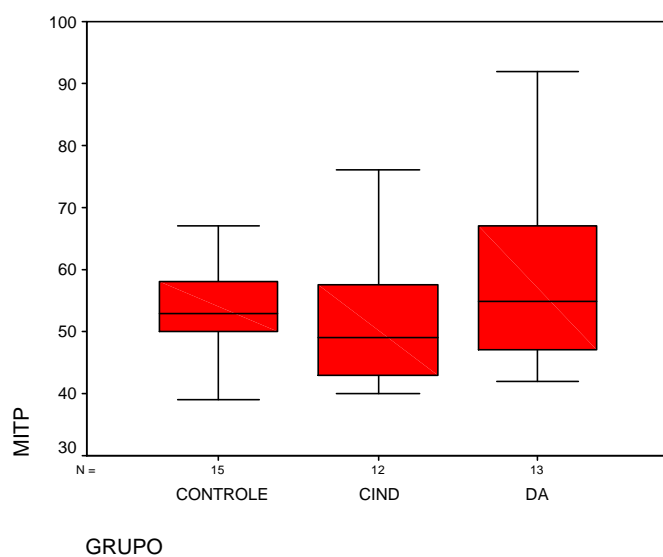


Gráfico 13 – Boxplot ml Parietal

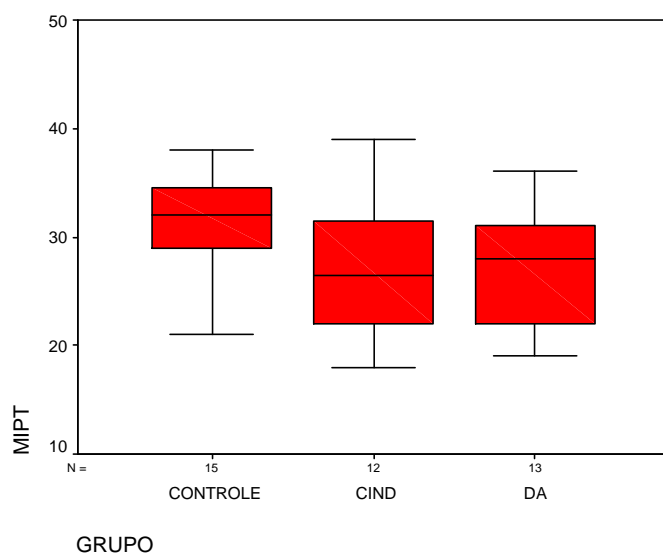


Gráfico 14 – Boxplot ml Occipital

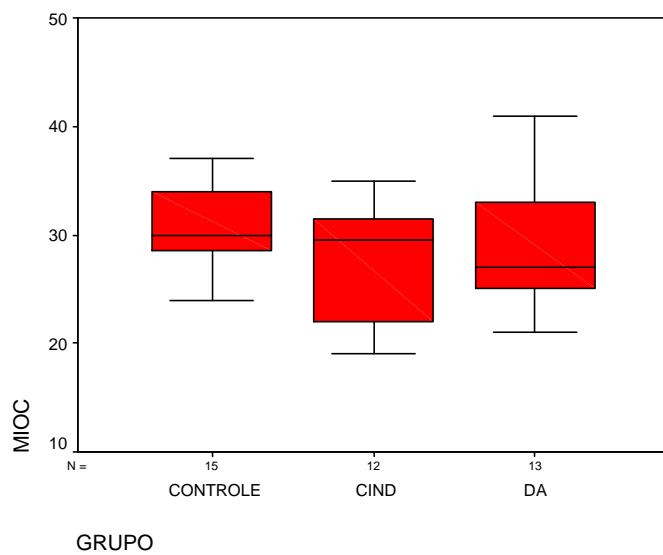


Gráfico 15 – Boxplot NAA/Cr Temporal

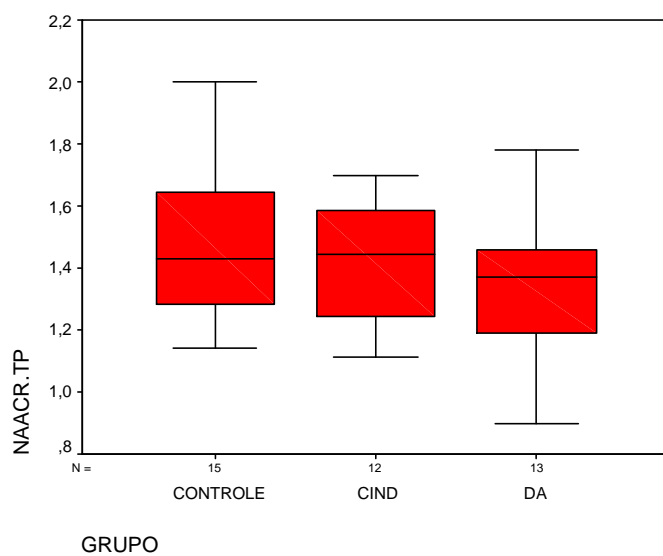


Gráfico 16 – Boxplot NAA/Cr Parietal

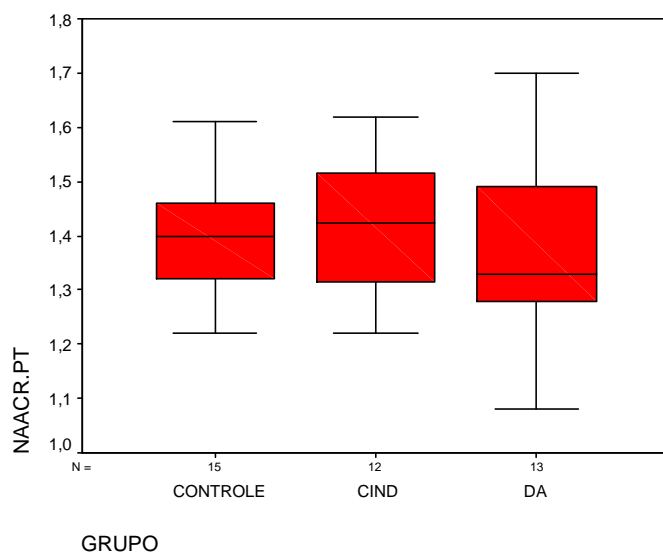


Gráfico 17 – Boxplot NAA/Cr Occipital

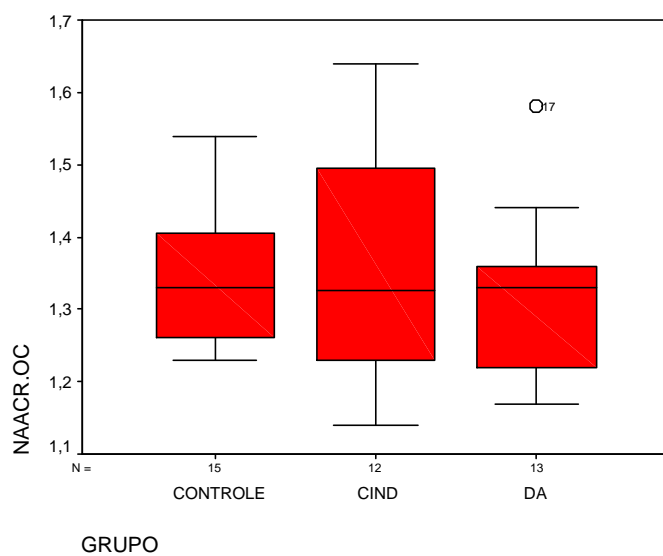


Gráfico 18 – Boxplot Cho/Cr Temporal

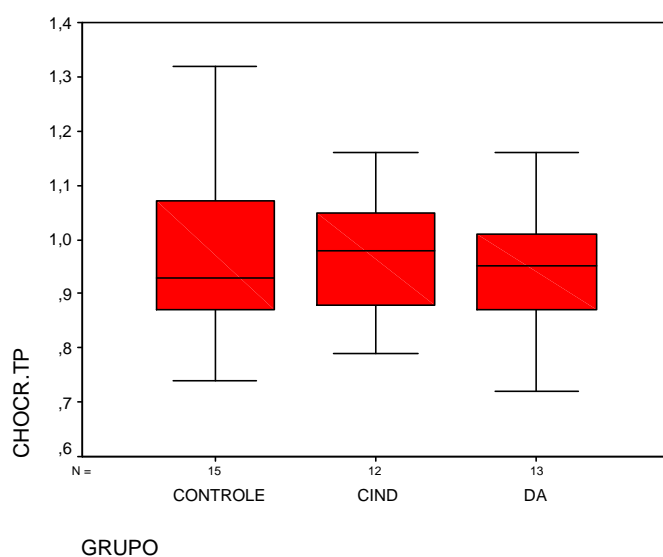


Gráfico 19 – Boxplot Cho/Cr Parietal

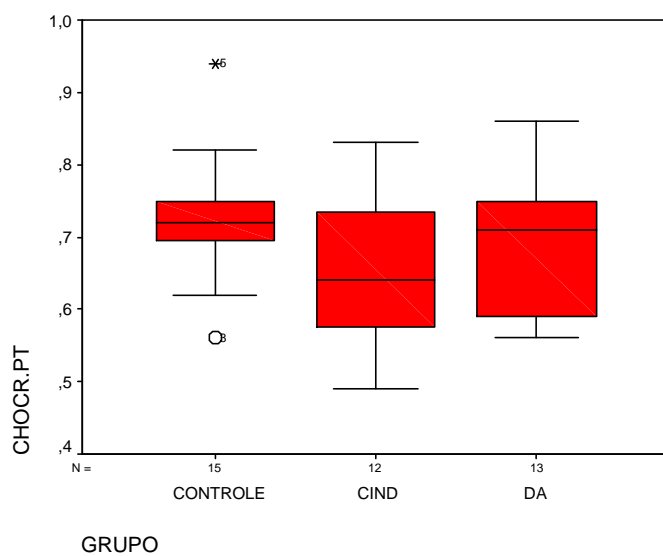


Gráfico 20 – Boxplot Cho/Cr Occipital

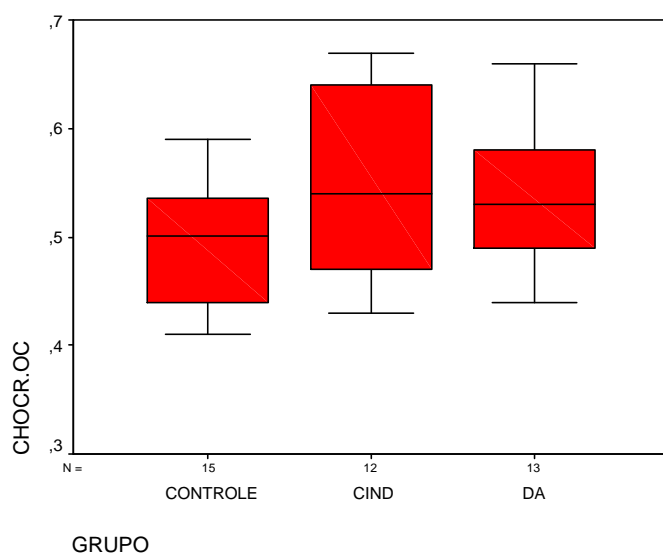


Gráfico 21 – Boxplot ml/Cr Temporal

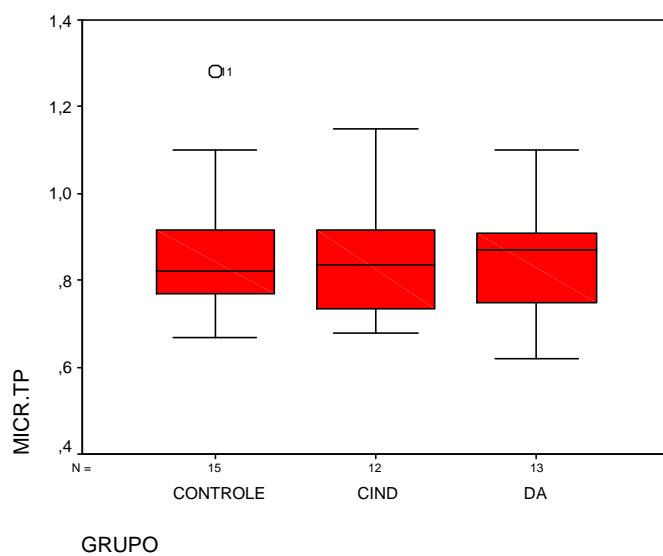


Gráfico 22 – Boxplot ml/Cr Parietal

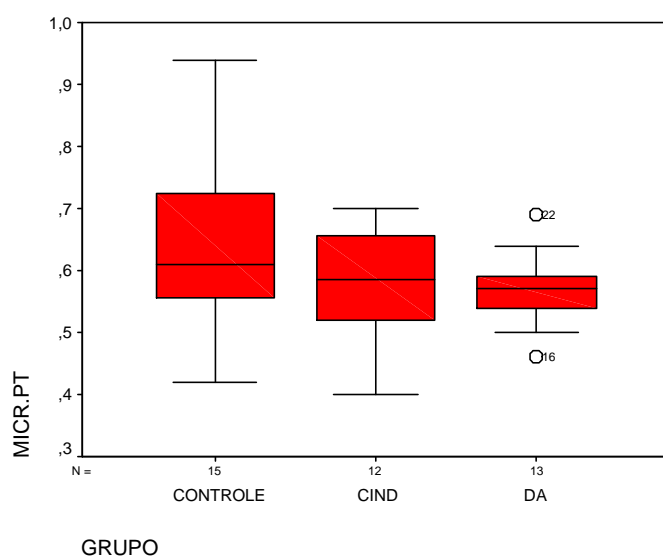
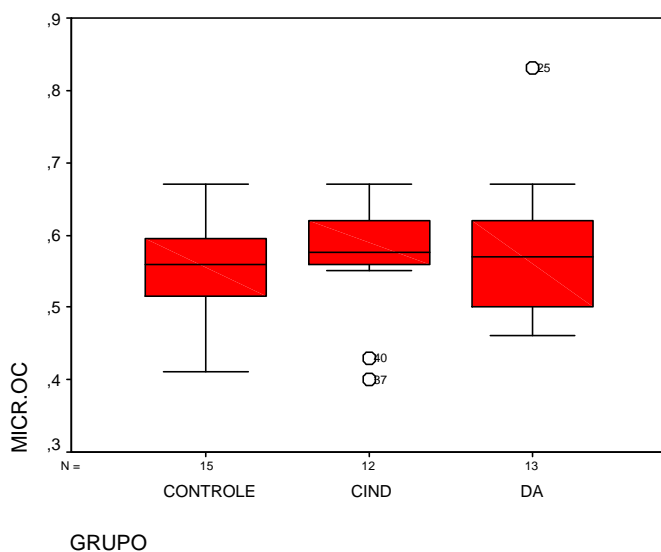


Gráfico 23 – Boxplot ml/Cr Occipital



Análise de função discriminante foi realizada com todos os metabólitos em cada uma das regiões estudadas. Na confrontação Controle versus DA o ml temporal e parietal identificaram 12 dos 15 indivíduos Controle (80%) e 9 dos 13 pacientes com DA (69,2%). O acréscimo de um terceiro item deu maior poder diagnóstico à associação: com a razão NAA/Cr temporal – 85,7% da amostra total foi classificada corretamente; com a colina occipital – 78,6% do total da amostra foi corretamente classificada (Tabela 6).

Tabela 6 – Análise de Função Discriminante: Controle versus DA

	Combinação diagnóstica					
	ml temporal, ml parietal, NAA/Cr temporal			ml temporal, ml parietal, Cho occipital		
	Controle	DA	Total	Controle	DA	Total
Controle	12 (80%)	3 (20%)	15 (100%)	11 (73,3%)	4 (26,7%)	15 (100%)
DA	1 (7,7%)	12 (92,3%)	13 (100%)	2 (15,4%)	11 (84,6%)	13 (100%)

Na confrontação entre Controle e CIND cinco itens auxiliaram a identificação dos grupos (Cr, Cho e Cho/Cr parietal; ml e Cho/Cr occipital). O melhor índice diagnóstico foi conseguido pela colina parietal – 81,5% do total da amostra corretamente classificada; e da associação Cho/Cr parietal e occipital – 77,8% do total da amostra corretamente classificada. Os achados estão descritos na Tabela 7.

Tabela 7 – Análise de Função Discriminante: Controle versus CIND

	Combinação diagnóstica					
	colina parietal			Cho/Cr parietal e Cho/Cr occipital		
	Controle	CIND	Total	Controle	CIND	Total
Controle	13 (86,7%)	2 (13,3%)	15 (100%)	13 (86,7%)	2 (13,3%)	15 (100%)
CIND	3 (25%)	9 (75%)	12 (100%)	4 (33,3%)	8 (66,7%)	12 (100%)

A Tabela 8 mostra as correlações (Spearman) entre os dados de espectroscopia de prótons dos grupos diagnósticos e os testes cognitivos.

Tabela 8 – Correlação entre testes cognitivos e metabólitos cerebrais *

Metabólito	MEEM			CAMCOG		
	DA	CIND	CONTROLE	DA	CIND	CONTROLE
NAA TP	ns	ns	ns	ns	ns	ns
NAA PT	ns	ns	ns	ns	ns	ns
NAA OC	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Cr TP	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Cr PT	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Cr OC	rho = 0,659 p = 0,014	ns	ns	rho = 0,586 p = 0,035	ns	ns
Cho TP	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Cho PT	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Cho OC	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ml TP	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ml PT	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ml OC	rho = 0,686 p = 0,010	ns	ns	ns	ns	ns
NAA / Cr TP	ns	ns	ns	ns	ns	ns
NAA / Cr PT	ns	ns	ns	ns	ns	ns
NAA / Cr OC	ns	ns	ns	ns	rho = -0,641 p = 0,025	ns
Cho / Cr TP	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Cho / Cr PT	rho = 0,602 p = 0,029	ns	ns	rho = 0,621 p = 0,023	ns	ns
Cho / Cr OC	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ml / Cr TP	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ml / Cr PT	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ml / Cr OC	ns	ns	ns	ns	rho = -0,583 p = 0,047	rho = 0,519 p = 0,047

NAA – n-acetilaspártato, Cr – creatina, Cho – colina, ml – mio-inositol

TP – região temporal, PT – região parietal, OC – região occipital

*Coeficiente de Correlação de Spearman

ns – não significante

As Tabelas 9, 10 e 11 mostram as correlações entre os subitens do CAMCOG e os achados da ¹H-ERM. Os grupos CIND e DA tiveram maior número de correlações. Chama a atenção o fato de um grande número de correlações ter aparecido com os metabólitos da região occipital e, em menor número, com a região parietal. A região temporal teve relativamente poucas correlações e apenas com dados do grupo DA.

Tabela 9 – Correlação ERM e subitens do CAMCOG - Grupo Controle

	O	L	M	A	P	C	PA	Pe
NAA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Cr	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Cho	ns	ns	ns	ns	rho= 0,616*** p = 0,014	ns	ns	ns
ml	ns	ns	ns	ns	rho= 0,598*** p = 0,019	ns	ns	ns
NAA/Cr	rho= -0,543*** p = 0,036	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Cho/Cr	rho= -0,566*** p = 0,028	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ml/Cr	ns	ns	ns	ns	ns	rho= 0,720*** p = 0,002	ns	ns

O – orientação, L – linguagem, M – memória, A – atenção, P – praxia, C – cálculo,
PA – pensamento abstrato, Pe – percepção

* Temporal

** Parietal

*** Occipital

Tabela 10 – Correlação ERM e subitens do CAMCOG - Grupo CIND

	O	L	M	A ?	P	C	PA	Pe
NAA	ns	ns	ns	rho= -0,594** p = 0,042	ns	ns	ns	ns
Cr	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Cho	ns	ns	rho= -0,681*** p = 0,015	ns	ns	ns	ns	ns
ml	ns	ns	ns	rho= -0,787*** p = 0,002	ns	ns	ns	ns
NAA/Cr	ns	ns	ns	rho= -0,654*** p = 0,021	ns	ns	rho= -0,613*** p = 0,034	ns
Cho/Cr	ns	ns	rho= -0,579*** p = 0,048	ns	rho= 0,592*** p = 0,043	rho= 0,594*** p = 0,042	ns	ns
ml/Cr	ns	ns	rho= 0,784** p = 0,003	ns	ns	ns	ns	rho= -0,824*** p = 0,001

O – orientação, L – linguagem, M – memória, A – atenção, P – praxia, C – cálculo,
PA – pensamento abstrato, Pe – percepção

* Temporal

** Parietal

*** Occipital

?Nota: NAA (Atenção): rho = -0,737 p = 0,006 ***

Tabela 11 – Correlação ERM e subitens do CAMCOG - Grupo DA

	O	L	M ?	A	P ?	C	PA	Pe
NAA	rho= 0,556*** p = 0,049	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Cr	rho= 0,644*** p = 0,017	ns	ns	ns	rho= 0,645** p = 0,017	ns	ns	rho= 0,626** p = 0,022
Cho	rho= 0,748*** p = 0,003	ns	ns	ns	rho= 0,638** p = 0,019	ns	rho= 0,605** p = 0,029	ns
ml	ns	ns	ns	ns	rho= 0,751** p = 0,003	ns	ns	ns
NAA/Cr	ns	ns	rho= -0,570** p = 0,042	ns	ns	ns	rho= -0,741* p = 0,004	ns
Cho/Cr	ns	ns	rho= -0,566* p = 0,044	ns	ns	ns	ns	ns
ml/Cr	ns	ns	ns	ns	ns	rho= -0,586* p = 0,035	ns	ns

O – orientação, L – linguagem, M – memória, A – atenção, P – praxia, C – cálculo,
PA – pensamento abstrato, Pe – percepção

* Temporal

** Parietal

*** Occipital

Nota: NAA/Cr (Memória): rho = -0,647 p = 0,017***

Nota: Cr (Praxia): rho = 0,554 p = 0,050***

5. DISCUSSÃO

5.1 Dados demográficos

Um dos objetivos de nosso estudo foi avaliar as características demográficas de uma amostra populacional da comunidade para o diagnóstico de demência de Alzheimer e CIND. A primeira parte da pesquisa foi a visita domiciliar com a aplicação do instrumento de rastreamento desenvolvido no PROTER. Uma vez identificados os casos clínicos de DA e CIND e os Controles normais, os indivíduos foram selecionados e encaminhados ao HC FMUSP para realização da avaliação neuropsicológica e seleção de casos para exames por ressonância magnética (espectroscopia). Os dados demográficos e estatísticos da fase da amostragem populacional não estão computados nesse trabalho, pois são objetos de estudo do projeto de pesquisa: “Demência e Transtornos Cognitivos em idosos: um estudo clínico-epidemiológico em dois municípios do estado de São Paulo” envolvendo vários pesquisadores no Instituto de Psiquiatria do HC FMUSP. Apenas os indivíduos que foram avaliados no ambulatório do PROTER com os testes neuropsicológicos e encaminhados para realização de espectroscopia fazem parte da estatística apresentada. Estão sendo apresentados os dados referentes aos indivíduos que completaram toda a seqüência de avaliação.

Os dados quanto ao gênero confirmam a predominância de mulheres na faixa etária da terceira idade. Excetuando o grupo Controle, não

houve diferença estatisticamente significativa para essa variável entre os grupos (mesmo para o grupo DA onde quase 70% dos sujeitos eram do sexo feminino). O fato das mulheres estarem em maior número na terceira idade levanta a suspeita de que elas também estejam em maior risco para desenvolver demência. Isso, porém, é assunto ainda não resolvido pelos diversos estudos epidemiológicos [Bottino (tese), 1997].

A idade média dos sujeitos girou em torno dos 70 anos com uma tendência a ser maior nos portadores de DA. Diferença estatística significativa foi observada entre Controles e DA. A relação entre idade e gênero foi investigada com o Coeficiente de Correlação de Spearman e nenhuma correlação foi demonstrada. Diversos trabalhos sugerem que a idade mais longa pode ser um fator de risco para o desenvolvimento de DA com uma maior prevalência e incidência de demência em indivíduos mais idosos (Bachman et al., 1993; Paykel et al., 1994; Herrera et al. 2002; Lindsay et al., 2002). Segundo Moore et al. (1999) demência é a doença psiquiátrica mais comum afetando idosos com uma prevalência de 1% entre as pessoas com 60 – 69 anos de idade e aumentando para 39% naqueles com 90 – 95 anos de idade.

A média da escolaridade em nosso estudo foi semelhante para os grupos DA e Controle, mas não para o grupo CIND que teve um grau consideravelmente mais baixo de escolaridade. Apesar disso, a análise de correlação entre escolaridade e escores nos testes cognitivos mostrou-se positiva apenas para o grupo Controle. Por essa análise, o menor número de anos estudados não estaria associado à baixa pontuação nos testes

cognitivos. Em estudo epidemiológico realizado por Herrera et al. (2002) encontrou-se uma maior prevalência de demência em mulheres – 9,4% (contra 5,2% para os homens) e em pessoas com baixa escolaridade (12,2% para analfabetos diminuindo para 3,5% naqueles com oito ou mais anos estudados). Bertolucci et al. (1994) estudando o MEEM e Schultz et al. (2001) o ADAS-Cog (“Alzheimer’s Disease Assessment Scale”) também demonstraram a influência da escolaridade nos escores finais dos testes neuropsicológicos. Para a ERM não há referência, na literatura pesquisada, quanto a correlações diretas entre escolaridade e valores dos metabólitos.

5.2 Testes Cognitivos

Dois dos instrumentos de avaliação cognitiva mais utilizados no mundo já foram traduzidos para o português e validados para uso na população brasileira. São eles o MEEM (Bertolucci et al. 1994) e o CAMDEX (Bottino et al. 1999). O MEEM (Folstein et al., 1975) é um teste de fácil e rápida aplicação que não exige treinamento extenso por parte do examinador. Já o CAMDEX – e sua seção cognitiva CAMCOG (Roth et al., 1986) é mais completo, avaliando diversos domínios cognitivos incluindo o próprio MEEM. Sua aplicação demanda tempo (cerca de uma hora e meia) e é feito tanto com o paciente quanto com o cuidador. Para sua aplicação é necessário treinamento específico. Ambos testes selecionaram bem os indivíduos nos seus respectivos grupos. Para o MEEM o ponto de corte para diagnóstico de demência seguiu a sugestão de Brucki et al. (2003) levando

em conta o grau de escolaridade dos indivíduos. O ponto de corte para o diagnóstico de normalidade utilizado em nosso estudo para o CAMCOG foi de 80 – o mesmo do estudo original (Roth et al., 1986). Ambos testes identificaram e individualizaram os três grupos (Tabela 2), o que era esperado uma vez que o resultado dos testes foi utilizado para se obter o diagnóstico clínico.

5.3. Espectroscopia por ressonância magnética

A principal diferença entre a espectroscopia (ERM) e a imagem de ressonância convencional é o tipo de informação obtido no domínio da frequência. Em outras palavras, a ERM e os exames de imagem utilizam-se dos mesmos aparelhos diferindo apenas quanto às técnicas de aquisição da imagem e a forma como os dados são processados e apresentados. Enquanto para a imagem convencional essa dimensão é espacial, para a ERM ela representa uma dispersão química codificada em termos de frequência. Essa frequência passa, por sua vez, pela chamada transformação de Fourier gerando um espectro que informa sobre a composição química do tecido emissor (que está sendo estudado).

Um aspecto importante a considerar é que anormalidades anatômicas, como as reveladas pela técnica de imagem em ressonância magnética – nas demências as alterações anatômicas se expressam por atrofia cerebral (Jack Jr et al., 1992; lehércy et al., 1994; Kaye et al., 1997; Hashimoto et al., 1998; Kitagaki et al., 1998; Golebiowski et al., 1999;

Juottonen et al., 1999; Laakso et al., 2000; Wahlund et al., 2000; Järvenpää et al., 2004) – não são essenciais para a detecção de alterações bioquímicas pela ERM. Por esse motivo, a ERM se constitui em um método de diagnóstico precoce para doenças neurológicas (Ross e Michaelis, 1996).

5.3.1. $^1\text{H-ERM}$

Para esse estudo foram escolhidas para análise as regiões temporal direita, parietal esquerda e occipital medial.

A escolha dessas áreas procurou obedecer à evolução natural da doença de Alzheimer. Dois aspectos foram relevantes para essa escolha. O primeiro diz respeito ao formato e tamanho da região cerebral estudada ou de interesse (ROI). Na ERM, a ROI em geral tem a forma de um cubo ou de um retângulo. Esse formato evidentemente não reproduz a forma da maioria das estruturas biológicas e, como consequência, pode gerar um artefato de imagem conhecido como efeito de volume parcial. Para reduzir o impacto desse artefato a área sob estudo deve ser a menor possível (Keevil et al., 2001). Há relatos, entretanto, de que volumes de interesse muito pequenos acabam gerando “contaminação” do sinal – por serem áreas muito pequenas a RM pode não ser capaz de fazer uma leitura apenas da área de interesse (Burtscher et al., 1999). A maioria dos estudos em $^1\text{H-ERM}$ trabalha com uma área de cerca de oito cm^3 e esse foi o tamanho de área escolhido em nossa amostra. A escolha também considerou a dificuldade técnica da ERM para o estudo da região temporal – presença de artefatos pela proximidade do osso temporal e células aeradas temporais. As outras áreas cerebrais

estudadas – sulco parieto-occipital e a porção posterior do giro do cíngulo – não apresentam dificuldades para a ERM (Lazeyras et al., 1998; Kantarci et al., 2000).

O outro aspecto considerado foi a evolução das alterações patológicas na DA. O estadiamento neuropatológico da doença de Alzheimer mostra que o processo de degeneração começa nas áreas límbicas da região medial do lobo temporal (córtex entorrinal e formação hipocampal) progredindo para áreas associativas temporoparietais e frontais envolvendo, no final, as áreas primárias (Braak e Braak, 1991). Assim, alterações do lobo temporal superior e do giro do cíngulo posterior estariam presentes em fases iniciais da doença enquanto o lobo occipital seria afetado mais tardiamente (Jessen et al., 2000).

A DA é uma doença sistêmica que envolve ambos os hemisférios cerebrais. Em função disso, dentro da literatura pesquisada não existem trabalhos descrevendo especificamente achados de ^1H -ERM quanto à lateralidade. Embora muitos trabalhos optem por estudar a região temporal esquerda, há indícios de que o hipocampo direito apresenta alterações do circuito neuronal para a memória episódica em fases iniciais do processo (Grön et al., 2002). Além disso, Ferrier et al. (2000) demonstraram em estudo com ^1H -ERM que ambas as regiões temporais são importantes para a memória de reconhecimento – sobretudo de palavras. Por fim, McLean et al. (2001) estudando indivíduos normais com ^1H -ERM não identificaram diferenças entre os lados direito e esquerdo para as concentrações dos metabólitos cerebrais. Considerando esses aspectos optou-se por colocar

uma ROI na região temporal direita, outra na parietal esquerda e uma terceira na região occipital – linha média cobrindo, assim, ambos os hemisférios cerebrais.

A análise dos resultados foi feita por região de interesse comparando os três grupos entre si. Tanto os valores absolutos (adimensionais) quanto o quociente com a Cr estão demonstrados, mas para essa discussão apenas o dado de maior relevância está sendo considerado.

Assim, para a região temporal o N-acetilaspártato (NAA/Cr) foi maior no grupo Controle, intermediário no CIND e menor nos indivíduos com DA. A colina (Cho/Cr) foi maior nos grupos Controle e CIND enquanto o mio-inositol (ml) foi maior no grupo DA. A ANOVA não mostrou nenhuma diferença estatisticamente significativa na comparação entre os grupos. Essa distribuição dos metabólitos repete um padrão já reconhecido para os pacientes com DA – diminuição do NAA e aumento do ml, quando comparados com indivíduos normais.

Para a região parietal os dados mostram redução do N-acetilaspártato (NAA) no grupo DA com valores intermediários no grupo CIND. A colina (Cho e Cho/Cr) e o mio-inositol (ml e ml/Cr) também foram menores no grupo DA quando comparado com o grupo Controle. A ANOVA mostrou diferença estatisticamente significativa apenas na comparação entre os grupos Controle e CIND para a Cho. Esse padrão claramente se distingue daquele observado na região temporal. Uma hipótese possível para explicar esse achado poderia ser o processo natural de evolução da doença de Alzheimer com a região temporal já comprometida e a parietal ainda em fase

inicial de alteração. Talvez por se tratar de uma amostra estritamente comunitária, possivelmente os casos de doença estariam comprometidos por um período de tempo curto, insuficiente para comprometer as regiões mais posteriores do cérebro.

Para a região occipital o N-acetilaspártato (NAA) foi maior no grupo controle. A colina (Cho e Cho/Cr) foi maior nos grupos DA e CIND quando comparados com o grupo Controle. O mio-inositol (ml/Cr) foi maior nos indivíduos com DA, intermediários naqueles com CIND e menor no grupo Controle. Aqui, o padrão de distribuição dos metabólitos na $^1\text{H-ERM}$ habitualmente descrito na literatura volta a se repetir. Embora a evolução da doença de Alzheimer possa se processar de variadas formas, não seria de se esperar um comprometimento occipital poupando a região parietal. Os achados da $^1\text{H-ERM}$ na região parietal nessa amostra parecem se dever, portanto, a características próprias dos sujeitos avaliados.

A análise de função discriminante reforçou os achados da espectroscopia para a DA ao demonstrar que os dois metabólitos que melhor separaram o grupo DA dos Controles foram o ml e o NAA. Também é importante frisar que a região temporal foi a que mais contribuiu para essa separação. Na comparação entre Controle e CIND a análise mostrou resultados diferentes. As regiões parietal e occipital foram mais úteis para o diagnóstico do que a região temporal; todos os metabólitos, a exceção do NAA, se prestaram ao diagnóstico diferencial entre os dois grupos. Nota-se ainda uma maior dificuldade em separar corretamente indivíduos com CIND de sujeitos normais. Os achados corroboram a impressão de que, mesmo os

pacientes que se queixam de déficit cognitivo, mas ainda sem critérios para demência, já apresentam alterações metabólicas em seus cérebros. Digno de nota é o fato de ser a colina, e não o NAA ou o ml, o metabólito que auxiliou a identificação de Controle versus CIND.

Alguns dos artigos sobre ^1H -ERM em DA utilizados nessa revisão foram sumarizados nas Tabelas 12 e 13. São mostradas medidas de metabólitos cerebrais em termos da razão com a creatina. Nota-se uma grande variação entre os resultados dos diversos estudos para cada uma das razões (NAA /Cr, Cho/Cr e ml/Cr). Diferentes protocolos de estudo com técnicas de espectroscopia explicam essas diferenças (Cuénod et al., 1995). Até onde se saiba, não existem valores de referência padronizados e universalmente aceitos para cada um dos metabólitos. Da mesma forma, também não está definido um “mapa” metabólico para cada região cerebral. Mas se sabe que a quantificação dos metabólitos no cérebro guarda relação com a presença de alterações estruturais na DA e com a fase de evolução da doença (Kantarci et al., 2000).

Tabela 12 – Revisão de ^1H -ERM em controles normais

	Razão/Cr		
	NAA/Cr	ml/Cr	Cho/Cr
Meyerhoff - 1994 ^c	2.50 ± 0.40 ^a		0.90 ± 0.10 ^a
	3.00 ± 0.40 ^b		1.10 ± 0.20 ^b
Shonk - 1995	1.26 ± 0.09	0.59 ± 0.06	0.65 ± 0.07
Ernst - 1997	1.45 ± 0.04	0.72 ± 0.01	0.73 ± 0.01
Lazeyras - 1998	1.42 ± 0.11	0.84 ± 0.12	0.82 ± 0.09
Kantarci - 2000	1.58 ± 0.17 ^d	0.62 ± 0.09 ^e	1.05 ± 0.16 ^d
	1.51 ± 0.09 ^e		0.60 ± 0.07 ^e
Engelhardt - 2001	1.46 ± 0.14	0.51 ± 0.12	0.95 ± 0.14

“a” - substância cinzenta; “b” - substância branca; “c” - ERM multivoxel; “d” - Giro temporal superior esquerdo; “e” - Giro do cíngulo posterior

Tabela 13 – Revisão de ^1H -ERM em DA

	Razão/Cr		
	NAA/Cr	ml/Cr	Cho/Cr
Meyerhoff - 1994 ^c	2.30 ± 0.50 ^a		1.20 ± 0.20 ^a
	2.70 ± 0.30 ^b		1.40 ± 0.40 ^b
Shonk - 1995	1.16 ± 0.10	0.67 ± 0.08	0.66 ± 0.07
Ernst - 1997	1.41 ± 0.03	0.78 ± 0.02	0.71 ± 0.02
Lazeyras - 1998	1.20 ± 0.11	1.08 ± 0.09	0.91 ± 0.06
Ral - 1999	1.10 ± 0.25	0.82 ± 0.03	0.82 ± 0.07
Kantarci - 2000	1.45 ± 0.22 ^d	0.74 ± 0.08 ^e	1.08 ± 0.16 ^d
	1.41 ± 0.11 ^e		0.71 ± 0.12 ^e
Engelhardt - 2001	1.33 ± 0.18	0.60 ± 0.12	0.94 ± 0.12

“a” - substância cinzenta; “b” - substância branca; “c” - ERM multivoxel; “d” - Giro temporal superior esquerdo; “e” - Giro do cíngulo posterior

Embora esse “mapa” não esteja definido, um dos meios possíveis para se chegar a ele talvez seja através da avaliação cognitiva. Sabe-se, por exemplo, que a queixa inicial de déficit da memória está relacionada à região medial do lobo temporal. Para avaliar essa possibilidade, foi realizada uma série de correlações entre os escores dos testes cognitivos e os achados da ERM (Tabela 7). As primeiras correlações, com os escores médios dos grupos no MEEM e CAMCOG, já antecipou algumas dificuldades e uma surpresa. Primeiro, poucas correlações foram encontradas – de um total de 42 possibilidades para cada grupo, apenas oito – geral, foram efetivadas. Cinco foram relacionadas com o grupo DA e somente duas com grupo CIND – todas através do CAMCOG. Isso implica dizer que, além de não ser freqüente encontrar pontos de referência para o grupo CIND, eles parecem necessitar de uma avaliação mais criteriosa e aprofundada para aparecerem. A surpresa ficou por conta da ERM. Das oito correlações encontradas, nada menos do que seis foram com medidas de metabólitos na região occipital. As outras duas foram na região parietal. A região temporal não contribuiu com nenhuma correlação.

Aprofundando essa análise, foram realizados novas correlações – desta vez com os subitens do CAMCOG (Tabelas 9 – 11). O CAMCOG é composto por oito domínios cognitivos: orientação, linguagem, memória, atenção, praxia, cálculo, pensamento abstrato e percepção. As análises foram feitas por grupo diagnóstico separadamente.

Começando pelo grupo Controle, cinco correlações foram encontradas, todas na região occipital. ‘Praxia’ e ‘cálculo’ se correlacionaram

positivamente com a Cho e o ml. 'Orientação' se correlacionou negativamente com a Cho e o NAA.

Na análise do grupo CIND, um número bem maior de correlações foi encontrado. Apenas os itens orientação e linguagem não aparecem. 'Atenção' e 'memória' contribuíram com três correlações cada uma. Quanto aos metabólitos o NAA, a Cho e o ml – principalmente da região occipital, estabeleceram correlações. A Cho na região occipital se correlacionou de forma negativa com a 'memória' – que nesse grupo tinha escore menor do que nos indivíduos normais. Padrão semelhante foi encontrado para o grupo DA, achado esse de acordo com os dados de literatura que apontam para um aumento da Cho na DA. O fato dos pacientes com CIND também demonstrarem alterações está de acordo com a hipótese de que esses indivíduos já têm alterações metabólicas desde fases iniciais do processo de comprometimento cognitivo. Para o domínio 'atenção', a correlação foi negativa com os níveis do NAA na região parietal. 'Cálculo' e 'praxia' se correlacionaram de forma positiva com a Cho occipital. Outros domínios cognitivos também demonstraram correlações com metabólitos na ERM e estão demonstrados na Tabela 10.

No grupo DA a 'orientação' foi muito comprometida quando comparada com os dois grupos, mas na análise metabólica, os valores do NAA, Cr e Cho desse grupo foram muito próximos dos outros dois. Os metabólitos, nesse caso, não conseguiram se correlacionar com o déficit cognitivo já presente. Para a 'memória' as correlações foram inesperadas – escores baixos para o domínio cognitivo com valores do NAA occipital e

parietal maiores do que no grupo controle. 'Pensamento abstrato' se correlacionou bem com NAA temporal – baixo ambos.

5.3.2. *N-acetilaspartato*

O NAA é considerado um marcador neuronal e os seus níveis costumam se manter estáveis em um mesmo indivíduo ao longo da vida, se modificando apenas sob condições patológicas. Isso permite que medidas seriadas do NAA possam servir para avaliar a progressão de uma doença ou a resposta a um tratamento em um determinado indivíduo. Foi isolado por Tallan et al. em 1956 ([apud Passe et al., 1995](#)) e redescoberto em 1983 com o advento da ERM de Prótons. O NAA está diminuído em várias condições clínicas: tumor cerebral como os gliomas, isquemia cerebral, doenças degenerativas do SNC, erros inatos do metabolismo, neuroinfecções, SIDA e traumatismo cranioencefálico ([Ross e Michaelis, 1996](#)). Pouco é conhecido sobre sua biossíntese. Sabe-se que sua produção começa por volta do segundo trimestre de gestação e antecede o aparecimento da mielina. Embora esteja presente tanto na substância branca como na cinzenta, prepondera na primeira e é abundante nas regiões posterior e inferior do cérebro, sobretudo no cerebelo. É encontrado tanto nas células da glia como nos neurônios, mas sua concentração é muito maior nesses últimos e por isso tornou-se um marcador neuronal. Trata-se de um marcador quantitativo e qualitativo. Em condições neurológicas onde há recuperação da função neural – como em um surto de esclerose múltipla ou uma crise epiléptica, ocorre recuperação dos níveis de NAA ([Ross et al.; 1998](#)).

Como citado na introdução, as alterações do NAA não são específicas para a DA (Narayana et al., 1998; Hu et al., 1999; Ferrier et al., 2000; Murata et al., 2001).

Na doença de Alzheimer os níveis de NAA diminuem (Jessen et al., 2000). Há perda de sinal (diminuição) do NAA tanto na substância cinzenta – lesão do neurônio, quanto na substância branca – lesão do axônio. Essa diminuição é da ordem de 10 a 12% (Shonk et al., 1995). Em nossa amostra a redução do NAA em pacientes com DA tanto em valores absolutos quanto relativos à creatina, está de acordo com o que a literatura mostra. Mas também foi verificada uma redução, ainda que não significativa, nos pacientes com diagnóstico de CIND. Poucos são os estudos investigando alterações dos metabólitos cerebrais nessa categoria diagnóstica. Parnetti et al. (1996) descrevem resultados semelhantes aos nossos para pacientes com AAMI. Bastrés-Faz et al. (2002) estudando 44 indivíduos com o diagnóstico de “Age-related Memory Impairment”, demonstraram que a razão NAA/Cr estava relacionada com uma baixa performance em testes de memória verbal. Em nosso trabalho, os resultados dos testes cognitivos identificaram e separaram pacientes CIND de DA enquanto a $^1\text{H-ERM}$ não conseguiu essa identificação de forma segura. Considerando a teoria do continuum entre o idoso normal e aquele com DA (Parnetti et al., 1996), é de se esperar que os indivíduos com CIND se localizem em uma faixa intermediária de valores para a $^1\text{H-ERM}$. Estudos futuros com amostras maiores são necessários para a obtenção de dados com significância estatística.

5.3.3. Creatina

A Cr é um composto relacionado ao metabolismo energético e síntese de Adenosina Trifosfato (ATP). Sua concentração cerebral é estimada em 8 mM e é maior na substância cinzenta do que na branca. Essa concentração diminui em condições como a insuficiência hepática crônica e melhora após transplante de fígado. Isso porque sua síntese envolve enzimas do fígado e rins. Por essa razão, o nível de Cr cerebral está condicionado a eventos que ocorrem fora do SNC (Ross e Michaelis, 1996). Os níveis de creatina tendem a permanecer estáveis ao longo do tempo em um mesmo indivíduo. Em função disso a Cr passou a ser utilizada como referência para quantificar outros metabólitos (Valenzuela et al., 2001). Os valores da Cr não se modificam com a DA, mas parecem se correlacionar com uma baixa pontuação nos testes de reconhecimento de palavras (Pfefferbaum et al., 1999). Em nosso estudo, nos pacientes com DA, a Cr foi maior na região temporal e menor nas outras duas regiões quando comparados com Controles. Nenhuma diferença estatística significativa foi observada entre os grupos.

5.3.4. Colina

A Cho está associada à mielina e distribui-se tanto na substância branca como na cinzenta. A concentração cerebral estimada por estudos com $^1\text{H-ERM}$ é de 1.4 a 1.6 mM. Esse valor inclui a colina livre, a fosforilcolina e a glicerofosforilcolina. Todos esses elementos são conhecidos como compostos contendo colina e descritos simplesmente

como Cho. Assim como a creatina, a concentração cerebral de Cho é influenciada por eventos que ocorrem fora do SNC. Pouco se sabe sobre a síntese e o papel de cada um dos componentes da colina (Ross e Michaelis, 1996). Propõe-se que as alterações da colina possam representar uma anormalidade pré-clínica no metabolismo da membrana celular neuronal (Passe et al., 1995). Além disso, seus valores parecem se correlacionar com uma baixa pontuação em testes de reconhecimento de faces (Pfefferbaum et al., 1999). A literatura descreve uma elevação da colina em pacientes com DA devido ao aumento da glicerofosfocolina. Isso é compartilhado por estudos bioquímicos que mostram um metabolismo aumentado de fosfolípidos e uma menor degradação da glicerofosfocolina. Alguns autores admitem uma teoria de “autocanibalismo” onde neurônios com deficiência de acetilcolina tentariam sobreviver degradando suas células de membrana para satisfazer suas necessidades de colina (Meyerhoff et al., 1994). Os achados em nossa amostra estiveram de acordo com a literatura com a Cho maior no grupo DA e CIND. Na comparação entre esses dois grupos, foi maior no primeiro em todas as regiões analisadas. Também foi o único metabólito que, associado a um domínio cognitivo, teve poder diagnóstico. Entretanto, dificuldades para caracterizar os achados da colina na DA permanecem (Valenzuela et al., 2001) e mais estudos são necessários para definir seu papel.

5.3.5. Mio-inositol

O mi é um álcool-açúcar cíclico reconhecido desde 1990. Tem um papel como agente osmótico cerebral e acredita-se seja um marcador para células astrocíticas e um produto da degradação da mielina. Tem um importante papel como precursor para moléculas que funcionam como segundo-mensageiro tanto em neurônios quanto em tecido não neural (Lazeyras et al., 1998). Sua concentração está aumentada nas placas de esclerose múltipla, na infecção pelo HIV e na leucodistrofia metacromática. Ao lado do NAA, o mi é o metabólito mais analisado quando se estuda a doença de Alzheimer. Muitos autores descrevem o binômio diminuição de NAA e aumento de mi como os marcadores metabólicos na DA (Shonk et al., 1995; Engelhardt et al., 2001). Engelhardt et al. (2001) consideram o índice mi/NAA como um dos mais importantes para o diagnóstico de DA. Pesquisas com indivíduos adultos com Síndrome de Down – que se manifestam com um quadro demencial idêntico ao da doença de Alzheimer (Huang et al., 1999), mostram um aumento do mi e um NAA normal. Isso levantou a hipótese de que o excesso de mi precederia a redução de NAA e que as alterações bioquímicas vistas na ERM de pacientes com DA seriam seqüenciais (Valenzuela et al., 2001). Esse aumento no mi poderia ser um marcador de maior especificidade para a DA do que a diminuição do NAA e da Cr (Pérez-Gómez et al., 2000). Dados de literatura são concordantes em mostrar um aumento dos níveis de mi da ordem de 15 – 20% na substância cinzenta de pacientes com DA. Em nossa amostra o mi foi maior no grupo DA do que no Controle e, na região occipital, maior no grupo CIND do que

em Controles. A compreensão do significado do ml é dificultada por causa da complexidade de sua via bioquímica (Valenzuela et al., 2001). Vários receptores cerebrais incluindo os muscarínicos colinérgicos dependem de componentes relacionados ao ml para funcionarem. A ativação desses receptores é acompanhada de hidrólise de uma substância chamada fosfatidilinositol. Para manter os receptores funcionando é necessário a ressíntese do fosfatidilinositol a partir do mio-inositol livre. Em pacientes com DA, é sabido haver uma diminuição da função colinérgica, sobretudo pré-sináptica e está documentado uma perda de neurônios do complexo nucleus basalis que é a principal fonte de terminais nervosos colinérgicos do córtex cerebral. O mecanismo de ação dos receptores muscarínicos colinérgicos no cérebro não é bem compreendido. Uma possibilidade é que receptores excitatórios atuem por hidrólise do fosfatidilinositol com liberação de inositol trifosfato que age como um segundo mensageiro mobilizando cálcio. Já os receptores inibitórios promoveriam uma diminuição na concentração do AMP cíclico (Stokes et al., 1987). Na DA a concentração do ml livre é maior enquanto as frações do fosfatidilinositol são menores quando comparado com controles sem demência (Stokes et al., 1987). Uma possível inibição da conversão do ml em fosfatidilinositol da membrana neuronal poderia ser o responsável por esse achado (Valenzuela et al., 2001).

Na literatura alguns autores apontam para uma relação entre a razão NAA/ml e a pontuação do MEEM (Parnetti et al., 1997; Valenzuela et al., 2001) permitindo, inclusive, prever alterações do MEEM no período de doze meses enquanto outros (Ross e Michaelis, 1996) não mostram

nenhuma associação entre a depleção do ml e uma função neuropsicológica específica. Em nosso trabalho muitas das correlações entre domínios cognitivos e ERM foram com o ml apontando para uma direção positiva sem atingir, entretanto, significância estatística. Amostras maiores poderão modificar esses achados.

5.4. Dificuldades técnicas

Acredita-se que DA seja uma doença eminentemente da substância cinzenta com comprometimento de neurônios corticais. Outras formas de demência – vascular, por exemplo, envolvem outras áreas cerebrais inclusive da substância branca. Estudos funcionais do cérebro com fluxo sanguíneo mostram que na DA as alterações predominam nas regiões temporal e parietal em fases iniciais. Na demência vascular (DV) as alterações primeiras ocorrem na substância branca frontal adjacente ao corno anterior dos ventrículos laterais, no núcleo caudato e no putâmen. Essa distribuição ocorre porque os vasos sanguíneos dessas áreas são mais sensíveis às alterações vasculares que são responsáveis pela fisiopatologia da doença. Em razão dessa distribuição anatômica, seria ideal que a ERM pudesse avaliar separadamente substância cinzenta cortical de substância branca subcortical (MacKay et al., 1996). Isso tem sido proposto por alguns autores (Meyerhoff et al., 1994; Pfefferbaum et al., 1999). Infelizmente o tamanho do voxel utilizado para espectroscopia não consegue separar de todo as duas regiões cerebrais e, portanto, sempre há uma superposição dos dados encontrados (MacKay et al., 1996). Por outro lado, a diminuição

do tamanho do voxel ou ROI poderia evitar a contaminação de sinal de outras áreas, mas a relação ruído-volume ficaria tão baixa que não permitiria a captação dos metabólitos (Chang et al., 2000).

5.5. Instrumento diagnóstico

Em termos de demência, a $^1\text{H-ERM}$ é capaz de indicar o diagnóstico de DA, dentro de um programa para investigação de demência, com até 98% de valor preditivo positivo. Por outro lado, a $^1\text{H-ERM}$ consegue diferenciar DA de outras demências com até 80% de valor preditivo negativo. Os índices mais elevados são conseguidos quando se analisa conjuntamente o ml e o NAA (Shonk et al., 1995). Em um contexto clínico, investigando um idoso com queixas cognitivas, uma razão ml/Cr normal tende a afastar a possibilidade de DA. Ainda segundo Shonk et al., a sensibilidade para o diagnóstico de DA nesse caso chega a 82% o que, na visão desses autores, se iguala ao diagnóstico clínico feito em centros especializados para a doença.

Engelhardt et al. (2001) avaliaram 20 pacientes controles e 40 com DA por meio de $^1\text{H-ERM}$. Nesse estudo, 32 (de 40) pacientes com DA tiveram redução do NAA; 14 (de 33) tiveram aumento do ml; e 21 (de 32) mostraram um índice ml/NAA aumentado. A positividade em um ou mais desses três parâmetros chegou a 90%.

O uso de $^1\text{H-ERM}$ com tempo de eco curto permite calcular a relação ml/NAA com uma sensibilidade de 83%, especificidade de 95% e valor preditivo positivo de 98% (Shonk et al., 1995). Isso, necessariamente,

não fornece diagnóstico, mas em associação a outros métodos como o estudo morfométrico do lobo temporal, aumenta a eficácia do método como instrumento de rastreio e/ou confirmação diagnóstica (Schuff et al., 1997).

Análise de função discriminante realizada em nossa série de pacientes conseguiu identificar pacientes com DA com sensibilidade em torno de 70%. Como nos estudos de Engelhardt et al. (2001) e Schuff et al. (1997) a combinação de itens auxiliou o diagnóstico. Esse conhecimento é importante quando se pensa na ^1H -ERM como método diagnóstico na prática clínica onde o resultado do exame deve ser analisado à luz dos dados clínicos.

5.6. Espectroscopia de fósforo

A espectroscopia de fósforo (^{31}P -ERM) não foi objeto de estudo desse trabalho, mas merece algumas considerações. Um dos aspectos importantes na DA é a presença de marcadores patológicos para o diagnóstico definitivo da doença. As placas senis e os novelos neurofibrilares são dois achados típicos na DA. Os novelos se correlacionam bem com a perda neuronal e sináptica. Como já descrito essas alterações se iniciam pelo córtex entorrinal e transentorrinal passando a seguir para o hipocampo, córtex límbico – incluindo o giro do cíngulo posterior, e finalmente as áreas isocorticais. Os giros pré e pós-central e o córtex occipital são afetados mais tarde (Kantarci et al., 2000). A patogênese dessas alterações ainda está em discussão mas várias correlações têm sido estabelecidas. Uma dessas relações foi estabelecida com a presença de constituintes da membrana

fosfolipídica, os PME e PDE, respectivamente precursores e produtos da degradação da membrana fosfolipídica. Pettegrew et al. (1988) investigaram o padrão dessas substâncias com ^{31}P -ERM na DA. Demonstraram que em fases iniciais da doença as alterações metabólico-moleculares resultavam em um aumento do PME. Aumento do PDE ocorria em fases tardias da DA. A explicação para esses achados não é conhecida, mas existe a hipótese de que um defeito no metabolismo da membrana fosfolipídica resulte em disfunção do neurônio afetando a função ou metabolismo de proteínas críticas para a membrana como a proteína precursora do β -amiloide (Smith et al., 1995). Existe ainda uma relação positiva entre os níveis de PDE e o número de placas senis e uma relação inversa entre os níveis de PME e o número de placas senis (Lazeyras et al., 1998). Outros trabalhos também identificaram alterações do PME e PDE, mas com divergências entre os achados. A explicação plausível para isso está nos diferentes protocolos de estudo com técnicas de espectroscopia (Cuénod et al., 1995). Por conta de dificuldades técnicas, a ^{31}P -ERM não tem sido rotineiramente utilizada para avaliação de doença de Alzheimer. Além disso, o foco em metabólitos que não são estudados por essa forma de espectroscopia desviou a atenção para outros métodos como a ^1H -ERM. Acreditamos, porém, que melhoramentos técnicos talvez permitam a utilização de ambas as técnicas, com efeito sinérgico entre si para uma maior e melhor compreensão da doença de Alzheimer.

5.7. A associação da ¹H-ERM com outros métodos de pesquisa

A DA se caracteriza tanto pela perda de neurônios quanto pelas anormalidades da membrana. A perda de neurônios tem sido consistentemente demonstrada por estudos de neuroimagem com ressonância magnética (Lazeyras et al., 1998). O grau de atrofia cerebral observado nesses estudos pode, porém, subestimar a perda neuronal por causa da gliose reativa – os exames de neuroimagem revelando menos atrofia do que realmente existe (Meyerhoff et al., 1994). Já a colina tem aumento de sinal provavelmente secundário a alterações da composição lipídica da membrana. A região do cérebro onde tais alterações foram mais significativas foi o córtex parietal posterior primário, área onde a quantidade de placas senis e novelos neurofibrilares são mais intensos (Meyerhoff et al., 1994). A diminuição do NAA e sua correlação negativa com as placas senis também têm sido descrita (Lazeyras et al., 1998). No que diz respeito à ¹H-ERM, em casos de DA ocorreria primeiro elevação do ml e então diminuição do NAA. O aumento do ml pode estar relacionado a um aumento da ativação microglial ou astrocítica demonstrando uma provável reação inflamatória na patogênese da DA. A importância desses conhecimentos é que a associação de técnicas que, isoladamente podem não discriminar pacientes com DA de indivíduos normais, quando em associação, permitiriam um maior poder diagnóstico. (Shuff et al., 1997; Pérez-Gómez et al., 2000).

5.8. Comprometimento cognitivo sem demência

Um dos objetivos desse trabalho foi avaliar os indivíduos com diagnóstico de CIND estudando suas características pela $^1\text{H-ERM}$ e que pudessem ser relevantes para a possibilidade de diagnóstico precoce dessa condição. No trabalho de Ebly et al. (1995) tomado como referência para conceituar CIND, várias condições, descritas no artigo como subcategorias, são avaliadas. Em nossa amostra, as categorias pertencentes a uma condição médica geral como depressão e doença vascular cerebral, por exemplo, foram excluídas sendo analisados apenas os casos com comprometimento cognitivo “puro”. A razão para utilizar critérios mais restritivos foi a de evitar “contaminação” dos achados da ERM pelas diversas condições clínicas relatadas no artigo original. As avaliações cognitivas cumpriram bem o papel de individualizar os sujeitos com CIND, mas o mesmo não ocorreu com a $^1\text{H-ERM}$. Uma tendência a valores de NAA e ml intermediários entre Controle e DA apareceu, mas sem atingir grau de significância estatística. Amostras maiores possivelmente poderão modificar esses dados com uma melhor definição desse grupo diagnóstico do ponto de vista da ERM.

6. CONCLUSÕES

- A. A amostra de comunidade avaliada, apesar de pequena, apresentou dados semelhantes aos descritos em outros estudos da literatura em termos de idade, gênero e escolaridade.
- B. Os diagnósticos médicos (DA, CIND e Controle) foram adequadamente definidos pelos testes cognitivos aplicados (MEEM e CAMDEX).
- C. A $^1\text{H-ERM}$ é um método recente de pesquisa em neurociência, mas já demonstra seu valor diagnóstico. Comparações entre DA e indivíduos normais, mostraram uma diminuição do NAA e um aumento do ml nos indivíduos com demência, particularmente na região temporal. Esses achados classificaram corretamente 85,7% do total da amostra.
- D. A Cho mostrou resultados variáveis a depender da área analisada, mas com tendência a estar aumentada nos pacientes com DA e CIND.
- E. Correlação entre os testes cognitivos e os achados da $^1\text{H-ERM}$ esteve presente confirmando a hipótese de que alterações metabólicas estão presentes quando do aparecimento das primeiras alterações nos testes cognitivos.
- F. CIND é uma condição clínica bastante atual, com critérios diagnósticos definidos. Do ponto de vista da $^1\text{H-ERM}$ foi identificado um padrão com tendência a assumir uma posição intermediária entre Controles normais e indivíduos com DA na distribuição dos

metabólitos pesquisados. Este achado corrobora a hipótese de que ao menos uma parte destes indivíduos pode estar apresentando um processo cerebral degenerativo capaz de causar sintomas de demência ou DA no futuro.

7. REFERÊNCIAS

Aichner F, Wagner M, Kremser C, Felber S. MR-imaging of non-alzheimer. *J Neural Transm.* 1996;Suppl 47:143-53.

American Psychiatry Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders(DSM-IV). 4rd ed. Washington, 1994.

Assal F, Cummings JL. Neuropsychiatric symptoms in the dementias. *Curr Opin Neurol.* 2002;15(4):445-50.

Associação Brasileira de Anunciantes. XXXI Estudos Marplan. São Paulo: Marplan Brasil Representações e Pesquisas Ltda, 1989.

Bachman DI, Wolf PA, Linn RT, Knoefel JE, Cobb JL, Belanger AJ, White LR, D'Agostino RB. Incidence of dementia and probable Alzheimer's disease in a general population: the Framingham study. *Neurology.* 1993;43:515-9.

Barker A, Jones R, Jennison C. A prevalence study of age-associated memory impairment. *Br J Psychiatry.* 1995;167:642-8.

Bartrés-Faz D, Junqué C, Clemente IC, López-alomar A, Bargalló N, Mercader JM, Moral P. Relationship among (1)H magnetic resonance

spectroscopy, brain volumetry and genetic polymorphisms in humans with memory impairment. *Neurosci Lett.* 2002;327(3):177-80.

Bertolucci PHF, Brucki SMD, Campacci SR, Juliano Y. O mini-exame do estado mental em uma população geral: impacto da escolaridade. *Arq Neuropsiquiatr.* 1994;52(1):1-7.

Bertolucci PHF. Avaliação da memória. In Forlenza OV, Caramelli P, editores. *Neuropsiquiatria Geriátrica.* São Paulo: Editora Atheneu;2000. p.507-16.

Bissuel Y, Mecher G, Mehier H, Dalery J, Terra JL, Roussel B, Marie-Cardine M. Intérêt de la spectroscopie RMN dans l'exploration du métabolisme cérébral de sujets atteints de maladie d'Alzheimer. *L'Encéphale.* 1993;19:29-35.

Blacker D, Haines JL, Rodes L, Terwedow H, Harrell LE, Perry RT, Bassett SS, Chase G, Meyers D, Albert MS, Tanzi R. Apoe-4 and age at onset of Alzheimer's disease: the NIMH genetics initiative. *Neurology.* 1997;48:139-47.

Blessed G, Tomlinson B, Roth M. The association between quantitative measures of dementia and of senile change in the cerebral grey matter of elderly subjects. *Br J Psychiatry.* 1968;114:797-11.

Boersma F, Eefsting JA, Vem Der Brink W, Koeter M, Van Tilburg W. Prevalence of dementia in a rural Netherlands population and the influence of DSM-III-R and CAMDEX criteria for the prevalence of mild and more severe forms. *J Clin Epidemiol.* 1998;51(3):189-97.

Bottino CMC. *Demência na doença de Alzheimer, transtorno cognitivo leve e envelhecimento normal: um continuum?: estudo de aspectos clínicos e de neuroimagem* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 1997.

Bottino CMC, Almeida OP, Tamai S, Forlenza OV, Scalco MZ, Carvalho IAM. *The Cambridge examination for mental disorders of the elderly.* São Paulo: edição brasileira; 1999.

Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol.* 1991;82:239-59.

Brayne C, Calloway P. Normal ageing, impaired cognitive function, and senile dementia of the Alzheimer's type: a continuum? *The Lancet.* 1988;4:1265-7.

Brayne C, Gill C, Paykel ES, Huppert F, O'Connor DW. Cognitive decline in an elderly population-a two wave study of change. *Psychol Med.* 1995;25:673-83.

Brucki SM, Nitrini R, Camarelli P, Bertolucci PHF, Okamoto IH. Sugestões para o uso do mini-exame do estado mental no Brasil. *Arq Neuropsiquiatr.* 2003;61(3B):777-81.

Buchpiguel CA. SPECT em psiquiatria. *Rev Psiq Clin.* 2000;27(3):124-30.

Burtscher IM, Johansson E, Holtas S, Stahlberg F. Quality assessment of localization technique performance in small volume in vivo 1H MR spectroscopy. *Magn Reson Imaging.* 1999;17(10):1511-9.

Bustamante SEZ, Bottino CMC, Lopes MA, Azevedo D, Hototian SR, Litvoc J, Wilson JF. Instrumentos combinados na avaliação de demência em idosos: resultados preliminares. *Arq Neuropsiquiatr.* 2003;61(3A):601-6.

Chen P, Ganguli M, Mulsant B, DeKosky S. The temporal relationship between depressive symptoms and dementia: a community-based prospective study. *Arch Gen Psychiatry.* 1999;56(3):261-6.

Cid CG, Rumi DO, Camargo CHP, Bottino CMC. Neuropsychological assessment of memory complainers in São Paulo, Brazil: one-year results of a memory clinic. *Neurobiol Aging.* 1998;19(4S):S11.

Chang KH, Kim HD, Park SW, Song IC, Yu IK, Han MH, Lee SK, Chung CK, Park YH. Usefulness of single voxel proton MR spectroscopy in the evaluation of hippocampal sclerosis. *Korean J Radiol.* 2000;1:25-32.

Chong VFH, Rumpel H, Aw YS, Ho GL, Fan YF, Chua EJ. Temporal lobe necrosis following radiation therapy for nasopharyngeal carcinoma: 1H MR spectroscopic findings. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1999;45(3):699-705.

Chong VFH, Rumpel H, Fan YF, Mukherji SK. Temporal lobe changes following radiation therapy: imaging and proton MR spectroscopic findings. *Eur Radiol.* 2001;11:317-24.

Convit A, de Leon MJ, Golomb J, George AE, Tarshish CY, Bobinski M, Tsui W, De Santi S, Wegiel J, Wisniewski H. Hippocampal atrophy in early Alzheimer's disease: anatomic specificity and validation. *Psychiatr Q.* 1993;64(4):371-87.

Convit A, Leon MJ, Tarshish C, De Santi S, Kluger A, Rusinek H, George AE. Hippocampal volume losses in minimally impairment elderly. *Lancet.* 1995;345(8944):266.

Crook TH, Bartus RT, Ferris SH, Whithouse P, Cohen GD. Age-associated memory impairment: proposed diagnostic criteria and measures of clinical

change – report of a National Institute of Mental Health Work Group. *Dev Neuropsychol* 1986;2:261-76.

Cuénod CA, Kaplan DB, Michot JL, Jehenson P, Leroy-Willig A, Forette F, Syrota A, Boller F. Phospholipid abnormalities in early Alzheimer's disease. *Arch Neurol*. 1995;52:89-94.

Daffner KR, Scinto LFM. In Early diagnosis of Alzheimer's disease. In Scinto LFM e Daffner KR, editors. Totowa, NJ, Humana Press: 2000.

D'Esposito M. Functional neuroimaging of cognition. *Semin Neurol*. 2000;20(4):487-98.

DeKosky ST. Epidemiology and pathophysiology of Alzheimer's disease. *Clin Cornerstone*. 2001;3(4):15-26.

Ebly EM, Hogan DB, Parhad IM. Cognitive impairment in the nondemented elderly. Results from the Canadian study of health and aging. *Arch Neurol*. 1995;52:612-9.

Engelhardt E, Moreira DM, Laks J, Marinho VM, Rozenhal M, Oliveira AC Jr. Doença de Alzheimer e espectroscopia por ressonância magnética do hipocampo. *Arq Neuropsiquiatr*. 2001;59(4):865-70.

Ernst T, Chang L, Melchor R, Mehringer CM. Frontotemporal dementia and early Alzheimer disease: differentiation with frontal lobe H-1 MR spectroscopy. *Radiology*. 1997;203:829-36.

Felician O, Sandson TA. The neurobiology and pharmacotherapy of Alzheimer's disease. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 1999;11:19-31.

Ferrarese C, Begni B, Canevari C, Zoia C, Piolti R, Frigo M, Appollonio I, Frattola L. Glutamate uptake is decrease in platelets from Alzheimer's disease patients. *Ann Neurol*. 2000;47:641-3.

Ferrier CH, Alarcón G, Glover A, Koutroumanidis M, Morris RG, Simmons A, Elwes RDC, Cox T, Binnie CD, Polkey CE. N-acetylaspartate and creatine levels measured by 1H MRS related to recognition memory. *Neurology*. 2000;55:1874-83.

Firbank MJ, Harrison RM, O'Brien JT. A comprehensive review of proton magnetic resonance spectroscopy studies in dementia and Parkinson's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2002;14:64-76.

Folstein MF, Folstein SE, Mchugh PR. Mini mental state: a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975;12:189-98.

Fuld PA, Muramoto O, Blau AD, Westbrook LE, Katzman R. Cross-cultural and multi-ethnic dementia evaluation by mental status and memory testing. *Cortex*. 1988;24:520-71.

Golebiowski M, Barcikowska M, Pfeffer A. Magnetic resonance imaging-based hippocampal volumetry in patients with dementia of the Alzheimer type. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 1999;10(4):284-8.

Grön G, Bittner D, Schmitz B, Wunderlich AP, Riepe MW. Subjective memory complains: objective neural markers in patients with Alzheimer's disease and major depressive disorder. *Ann Neurol*. 2002;51:491-8.

Hachinski VC, Iliff LD, Phil M, Zilhka E, Boulay GHD, Mcallister VL, Marshall J, Russel RWR, Symon L. Cerebral blood flow in dementia. *Arch Neurol*. 1975;32:632-7.

Hashimoto M, Kitagaki H, Imamura T, Hirono N, Shimomura T, Kazui H, Tanimukai S, Hanihara T, Mori E. Medial temporal and whole-brain atrophy in dementia with Lewy bodies: a volumetric MRI study. *Neurology*. 1998;51(2):357-62.

Herrera JE, Caramelli P, Silveira ASB, Nitrini R. Epidemiologic survey of dementia in a community-dwelling Brazilian population. *Alzheimer Disease and associated disorders*. 2002;16(2):103-8.

Hodgson DM, Taylor AA, Zhang Z, Rosenberg A. Lysosphingomyelin prevents behavioral aberrations and hippocampal neuron loss induced by the metabotropic glutamate receptor agonist quisqualate. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1999;23:877-92.

Hu MTM, Taylor-Robinson SD, Chaudhuri KR, Bell JD, Morris RG, Clough C, Brooks DJ, Turjanski N. Evidence for cortical dysfunction in clinically non-demented patients with Parkinson's disease: a proton MR spectroscopy study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1999;67:20-6.

Huang W, Alexander GE, Daly EM, Shetty HU, Krasuski JS, Rapoport SI, Schapiro MB. High brain myo-inositol levels in the prodementia phase of Alzheimer's disease in adults with Down's syndrome: a 1H MRS study. *Am J Psychiatry*. 1999;156:1879-86.

Hughes CP, Berg L, Danziger WL, Coben LA, Martin RL. A new clinical scale for the staging of dementia. *Br J Psychiat*. 1982;140:566-72.

Jack Jr CR, Petersen RC, O'Brien PC, Tangalos EG. MR-based hippocampal volumetry in the diagnosis of Alzheimer's disease. *Neurology*. 1992;42:183-8.

Järvenpää T, Laakso MP, Rossi R, Koskenvuo M, Kaprio J, Rähä I, Kurki T, Laine M, Frisoni GB, Rinne JO. Hippocampal MRI volumetry in cognitively

discordant monozygotic twin pairs. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004;75(1):116-20.

Jessen F, Block W, Träber F, Keller E, Flacke S, Papassotiropoulos A, Lamerichs R, Heun R, Schild HH. Proton MR spectroscopy detects a relative decrease of n-acetylaspartate in the medial temporal lobe of patients with AD. *Neurology*. 2000;55:684-8.

Jorm AF, Jacomb PA. The informant questionnaire on cognitive decline in the elderly (IQCODE): socio-demographic correlates, reliability, validity and some norms. *Psychol Med*. 1989;19:1015-22.

Juottonen K, Laakso MP, Partanen K, Soininen H. Comparative MR analysis of the entorhinal cortex and hippocampus in diagnosing Alzheimer disease. *Am J Neuroradiol*. 1999;20(1):139-44.

Kantarci K, Jack CR Jr, Xu YC, Campeau NG, O'Brien PC, Smith GE, Ivnik RJ, Boeve BF, Kokmen E, Tangalos EG, Petersen RC. Regional metabolic patterns in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. A H¹ MRS study. *Neurology*. 2000;55:210-7.

Kantarci K, Xu YC, Shiung MM, O'Brien PC, Cha RH, Smith GE, Ivnik RJ, Boeve BF, Edland SD, Kokmen E, Tangalos EG, Petersen RC, Jack Jr CR. Comparative diagnostic utility of different MR modalities in mild cognitive

impairment and Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2002;14:198-207.

Kaye JA, Swihart T, Howieson D, Dame A, Moore MM, Karnos T, Camicioli R, Ball M, Oken B, Sexton G. Volume loss of the hippocampus and temporal lobe in healthy elderly persons destined to develop dementia. *Neurology*. 1997;48:1297-1304.

Keevil SF, Newbold MC. The performance of volume selection sequences for in vivo NMR spectroscopy: implications for quantitative MRS. *Magn Reson Imaging*. 2001;19:1217-26.

Kitagaki H, Mori E, Yamaji S, Ishii K, Hirono N, Kobashi S, Hata Y. Frontotemporal dementia and Alzheimer disease: evaluation of cortical atrophy with automated hemispheric surface display generated with MR images. *Radiology*. 1998;208(2):431-9.

Krawczyk DC. Contributions of the prefrontal cortex to the neural basis of human decision making. *Neurosci Biobehav Rev*. 2002;26(6):631-4.

Kwock L. Localized MR spectroscopy. Basic principles. *Neuroimaging Clin N Am*. 1998;8:713-31.

Laakso MP, Hallikainen M, Hänninen T, Partanen K, Soininen H. Diagnosis of alzheimer's disease: MRI of the hippocampus vs delayed recall. *Neuropsychologia*. 2000;38(5):579-84.

Lafer B, Amaral JAMS. Espectroscopia de prótons por ressonância magnética: aplicações em psiquiatria. *Rev Psiq Clin*. 2000;27(3):154-63.

Lauderback CM, Harris-White ME, Wang Y, Pedigo Jr NW, Carney JM, Butterfield DA. Amyloid β -peptide inhibits Na⁺-dependent glutamate uptake. *Life Sci*. 1999;65:1977-81.

Lazeyras F, Charles HC, Tupler LA, Erickson R, Boyko OB, Krishnan KRR. Metabolic brain mapping in Alzheimer's disease using proton magnetic resonance spectroscopy. *Psychiatr Res Neuroimaging*. 1998;82:95-106.

Lehércy S, Baulac M, Chiras J, Pierot L, Martin N, Pillon B, Deweer B, Marsault C. Amygdalohippocampal MR volume measurements in the early stages of Alzheimer. *Am J Neuroradiol*. 1994;15:927-37.

Lehfeld H, Reisberg B, Finkel S, Kanowski S, Wied V, Pittas J, Tsolaki M, Robert PH, Hulla F, Heining K, Erzgeit H. Informant-rated activities-of-daily-living (ADL): results of a study of 141 items in the USA, Germany, Russia and Greece from the International ADL scale development project. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 1997;11(Suppl 4):39-44.

Lindsay J, Laurin D, Verreault R, Hébert R, Helliwell B, Hill GB, McDowell I. Risk factors for Alzheimer's disease: a prospective analysis from the canadian study of health and aging. *Epidemiology*. 2002;156:445-53.

Lopera F. Anamnesis en el estudio del paciente con demencia. *Rev Neurol*. 2001;32(12):1187-91.

MacKay S, Meyerhoff DJ, Constans JM, Norman D, Fein G, Weiner MW. Regional gray and white matter metabolite differences in subjects with AD, with subcortical ischemic vascular dementia, and elderly controls with ¹H magnetic resonance spectroscopic imaging. *Arch Neurol*. 1996;53:167-74.

Mackinnon A, Mulligan R. Combining cognitive testing and informant report to increase accuracy in screening for dementia. *Am J Psychiatry*. 1998;155:1529-35.

Martin RC, Sawrie S, Hugg J, Gilliam F, Faught E, Kuzniecky R. Cognitive correlates of ¹H MRSI detected hippocampal abnormalities in temporal lobe epilepsy. *Neurology*. 1999;53(9):2052-8.

Mazziotta JC. Imaging: window on the brain. *Arch Neurol*. 2000;57(10):1413-21.

Mckhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA work group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's disease. *Neurology*. 1984;34:939-44.

McLean MA, Woermann FG, Simister RJ, Barker GJ, Duncan JS. In vivo short echo time 1H magnetic resonance spectroscopic imaging (MRSI) of the temporal lobes. *Neuroimage*. 2001;14:501-9.

Meyerhoff DJ, Mackay S, Constans JM, Norman D, Van Dyke C, Fein G, Weiner MW. Axonal injury and membrane alterations in Alzheimer's disease suggested by in vivo proton magnetic resonance spectroscopic imaging. *Ann Neurol*. 1994;36:40-7.

Moore CM, Frederick BB, Renshaw PF. Brain biochemistry using magnetic resonance spectroscopy: relevance to psychiatric illness in the elderly. *J Geriatr Psychiatry Neurol*. 1999;12:107-17.

Murata T, Kimura H, Omori M, Kado H, Kosaka H, Iidaka T, Itoh H, Wada Y. MRI White matter hyperintensities, 1H-MR spectroscopy and cognitive function in geriatric depression: a comparison of early- and late-onset cases. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2001;16:1129-35.

Narayana PA, Doyle TJ, Lai D, Wolinsky JS. Serial proton magnetic resonance spectroscopic imaging, contrast-enhanced magnetic resonance imaging, and quantitative lesion volumetry in multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 1998;43(1):56-71.

Nitrini R. Epidemiologia da Doença de Alzheimer. In Forlenza OV, Caramelli P, editores. *Neuropsiquiatria Geriátrica*. São Paulo: Editora Atheneu;2000. p.23-33.

Olin JT, Schneider LS, Katz IR, Meyers BS, Alexopoulos GS, Breitner JC, Bruce ML, Caine ED, Cummings JL, Devanand DP, Krishnan KRR, Lyketsos CG, Lyness JM, Rabins PV, Reynolds III CF, Rovner BW, Steffens DC, Tariot PN, Lebowitz BD. Provisional diagnostic criteria for depression of Alzheimer disease. *Am J Geriatr Psychiatry.*2002a;10:125-8.

Olin JT, Katz IR, Meyers BS, Schneider LS, Lebowitz BD. Provisional diagnostic criteria for depression of Alzheimer disease. Rationale and background. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2002b;10:129-41.

Organização Mundial de Saúde. Classificação de transtornos mentais e de comportamento da CID-10: descrições clínicas e diretrizes diagnósticas. Porto Alegre, Artes Médicas, 1993.

Parnetti L, Lowenthal DT, Presciutti O, Pelliccioli G, Palumbo R, Gobbi GP, Chiarini P, Palumbo B, Tarducci R, Senin U. 1H-MRS, MRI-based hippocampal volumetry, and ^{99m}Tc -HMPAO-SPECT in normal aging, age-associated memory impairment, and probable Alzheimer's disease. *J Am Geriatr Soc.* 1996;44:133-8.

Parnetti L, Tarducci R, Presciutti O, Lowenthal DT, Pippi M, Palumbo B, Gobbi G, Pelliccioli GP, Senin U. Proton magnetic resonance spectroscopy can differentiate Alzheimer's disease from normal aging. *Mech Ageing Dev.* 1997;97:9-14.

Passe JT, Charles HC, Rajagopalan P, Krishnan KR. Nuclear magnetic resonance spectroscopy: a review of neuropsychiatric applications. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 1995;19:541-63.

Paykel ES, Brayne C, Huppert FA, Gill C, Barkley C, Gehlaar E, Pollitt P, O'Connor D. Incidence of dementia in a population older than 75 years in the United Kingdom. *Arch Gen Psychiatry.* 1994;51:325-32.

Peréz-Gómez M, Junqué C, Mercader JM, Berenguer J. Aplicaciones de la espectroscopia por resonancia magnética en el estudio de la patología cerebral. *Rev Neurol.* 2000;30:155-60.

Petersen RC, Stevens JC, Ganguli M, Tangalos EG, Cummings JL, DeKosky ST. Practice parameter: early detection of dementia: mild cognitive impairment (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the Academy of Neurology. *Neurology*. 2001;56:1133-42.

Pettegrew JW, Panchalingam K, Moosy J, Martinez J, Rao G, Boller F. Correlation of phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy and morphologic findings in Alzheimer's disease. *Arch Neurol*. 1988;45:1093-6.

Pettegrew JW, Klunk WE, Panchalingam K, McClure RJ, Stanley JA. Magnetic resonance spectroscopic changes in Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci*. 1997;826:282-306.

Pfeiffer E. A short portable mental status questionnaire for the assesment of organic brain deficit in elderly patients. *J Am Geriatr Soc*. 1975;23:433-41.

Pfefferbaum A, Adalsteinsson E, Spielman D, Sullivan EV, Lim KO. In vivo brain concentrations of n-acetyl compounds, creatine, and choline in Alzheimer disease. *Arch Gen Psychiatry*. 1999;56:185-92.

Ral GS, McConnell JR, Waldman A, Grant D, Chaudry M. Brain proton spectroscopy in dementia: an aid to clinical diagnosis. *The Lancet*. 1999;353:1063-4.

Ramos LR, Rosa TEC, Oliveira ZM, Medina MCG, Santos FRG. Perfil do idoso em área metropolitana na região sudeste do Brasil: resultados de inquérito domiciliar. *Rev Saúde Pública*. 1993;27(2):87-94.

Ramos LR, Goihman S. Geographical stratification by socio-economical status: methodology from a household survey with elderly people in S.Paulo, Brazil. *Rev Saúde Pública*. 1989;23(6):478-92.

Raskind MA. The clinical interface of depression and dementia. *J Clin Psychiatry*. 1998;59(suppl 10):9-12.

Ross BD, Michaelis T. MR spectroscopy of the brain: neurospectroscopy. In Edelman RR, Hesselink JR, Ziatkin MB, editors. *Clinical Magnetic Resonance Imaging*. Philadelphia; 1996. p.928-81.

Ross BD, Bluml S, Cowan R, Danielsen E, Farrow N, Tan J. In vivo MR spectroscopy of human dementia. *Neuroimaging Clin N Am*. 1998;8:809-22.

Roth M, Tym E, Mountjoy CQ, Huppert FA, Hendrie H, Verma S, Goddard R. CAMDEX a standardised instrument for the diagnosis of mental disorder in the elderly with special reference to the early detection of dementia. *Br J Psychiat*. 1986;149:698-709.

Salud B, Flaska R. Cultural adaptation of the Bayer activities of daily living scale (B-ADL) into brazilian portuguese. *MAPI Research Institute*. 1999.

Schuff N, Amend D, Ezekiel F, Steinman SK, Tanabe J, Norman D, Jagust W, Kramer JH, Mastrianni JA, Fein G, Weiner MW. Changes of hippocampal N-acetyl aspartate and volume in Alzheimer's disease. A proton MR spectroscopic imaging and MRI study. *Neurology*. 1997;49:1513-21.

Schultz RR, Siviero MO, Bertolucci PHF. The cognitive subscale of the "Alzheimer's Disease Assessment Scale" in a brazilian sample. *Braz J Med Biol Res*. 2001;34(10):1295-302.

Shiino A, Matsuda M, Morikawa S, Inubushi T, Akiguchi I, Handa J. Proton magnetic resonance spectroscopy with dementia. *Surg Neurol*. 1993;39:143-7.

Shonk TK, Moats RA, Gifford P, Michaelis T, Mandigo JC, Izumi J, Ross BD. Probable Alzheimer disease: diagnosis with proton MR spectroscopy. *Radiology*. 1995;195:65-72.

Small BJ, Mobly JL, Jonsson Laukka E, Jones S, Bäckman L. Cognitive deficits in preclinical Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand*. 2003;107(Suppl 179):29-33.

Smith CD, Pettigrew LC, Avison MJ, Kirsch JE, Tinkhtman AJ, Schmitt FA, Wermeling DP, Wekstein DR, Markesberry WR. Frontal lobe phosphorus metabolism and neuropsychological function in aging and in Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 1995;38:194-201.

Spinelli L, Lazeyras F, Will JP, Slosman DO, Delavelle J, Seeck M, Michel CM. Les nouvelles techniques d'imagerie du cerveau. *Rev Med Suisse Romande.* 2003;123(1):53-61.

Stokes CE, Hawthorne JN. Reduced phosphoinositide concentrations in anterior temporal cortex of Alzheimer-diseased brains. *J Neurochem.* 1987;48:1018-21.

Sunderland A, Harris JE, Baddeley AD. Do laboratory tests predict everyday memory? A neuropsychological study. *Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior.* 1983;22:341-57.

United Nations Organization. Department of international economic and social affairs. Periodical on Ageing: 1984. New York, v.1, 1985a.

United Nations Organization. Department of international economic and social affairs. The world aging situation: strategies and policies; technical report. New York, 1985b.

Valenzuela MJ, Sachdev P. Magnetic resonance spectroscopy in AD. *Neurology*. 2001;56:592-8.

Van Duijin CM, Clayton D, Chandra V, Fratiglioni L, Graves AB, Heyman A, Jorm AF, Kokmen E, Kondo K, Mortimer JA. Familial aggregation of Alzheimer's disease and related disorders: a collaborative re-analysis of case-controls studies. *Int J Epidemiol*. 1991;20:13-20.

Veras RP, Murphy E. The mental health of older people in Rio de Janeiro. *Int J Geriatr Psychiatry*. 1994;9:285-95.

Vermathen P, Laxer KD, Matson GB, Weiner MW. Hippocampal structures: anteroposterior n-acetylaspartate differences in patients with epilepsy and control subjects as shown with proton MR spectroscopic imaging. *Radiology*. 2000;214:403-10.

Wilson RS, Barnes LL, Mendes de Leon CF, Aggarwal NT, Schneider JS, Bach J, Pilat J, Beckett LA, Arnold SE, Evans DA, Bennett DA. Depressive symptoms, cognitive decline, and risk of AD in older person. *Neurology*. 2002;59:364-70.

Wahlund LO, Julin P, Johansson SE, Scheltens P. Visual rating and volumetry of the medial temporal lobe on magnetic resonance imaging in

dementia: a comparative study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2000;69(5):630-5.

Yacubian J, Castro CC. Espectroscopia de fósforo-31 por ressonância magnética. *Rev Psiq Clin*. 2000;27(3):186-90.