

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

Associação dos níveis séricos de BDNF com volume do hipocampo no
Comprometimento Cognitivo Leve e na Doença de Alzheimer

ERICKSEN MIELLE BORBA

Porto Alegre

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

Associação dos níveis de BDNF com volume do hipocampo no
Comprometimento Cognitivo Leve e na Doença de Alzheimer

ERICKSEN MIELLE BORBA

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Lorena
Fagundes Chaves

Tese Apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Medicina: Ciências
Médicas, UFRGS, como requisito para
obtenção do título de Doutor.

Porto Alegre, Junho de 2016.

CIP - Catalogação na Publicação

Mielle Borba, Ericksen

Associação dos níveis séricos de BDNF com volume do hipocampo no Comprometimento Cognitivo Leve e na Doença de Alzheimer. / Ericksen Mielle Borba. -- 2016. 67 f.

Orientadora: Marcia Lorena Fagundes Chaves.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto Alegre, BR-RS, 2016.

1. BDNF. 2. Doença de Alzheimer. 3. Comprometimento Cognitivo Leve. 4. Demência. 5. Atrofia do hipocampo. I. Lorena Fagundes Chaves, Marcia, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

DEDICATÓRIA

Meu agradecimento aos idosos e seus familiares que participaram do estudo, que foram muito mais do que participantes desta pesquisa, foram atores principais de um processo que foi singular em minha vida. Muito obrigado!

AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares, em especial meus pais, Agostinho e Marisa, exemplos de vida, de dedicação, de trabalho, que sempre lutaram muito para proporcionar as oportunidades que tenho. Agradeço também meus irmãos, Guilherme e Thamires o apoio recebido nas decisões da minha vida. Sei que posso contar com vocês em todos os momentos. Vocês são os melhores.

A Mãisa, por ser meu porto seguro, minha ancora e a minha maior incentivadora. Que eu possa caminhar contigo o mesmo caminho, que meus passos estejam sempre ao lado dos teus e que tuas mãos não soltem as minhas. Obrigado pelo incentivo, apoio, paciência, carinho, companheirismo, felicidade, compreensão e amor sem os quais não teria alcançado os meus objetivos.

À minha orientadora professora Márcia Chaves, obrigado pela oportunidade impar de fazer parte de um grupo maravilhoso de pesquisa, minha total gratidão. Meus sinceros agradecimentos pela oportunidade, disponibilidade, orientação, confiança, paciência e incentivo permanentes na realização deste estudo. Por compartilhar muito do seu conhecimento. Obrigado!

Às pesquisadoras Renata Kochhann e Barbara Beber pela imensurável ajuda na pesquisa, e amizade. Obrigado por compartilhar os momentos de vitória, sucesso e alegria.

Aos colegas do grupo de pesquisa em Psiquiatria/HCPA pelo auxílio nas análises de ELISA e pela amizade.

Aos técnicos em Radiologia do HCPA, sempre demonstrando dedicação à sua profissão.

Aos demais colegas do grupo em Neurologia Cognitiva e do Envelhecimento do HCPA pela parceria e oportunidade de aprendizado nas reuniões e discussões.

Aos meus amigos, pois vocês sempre estiveram presentes ao meu lado em todos os momentos, sintam-se abraçados todos aqueles que me acompanharam e me suportaram ao longo do doutorado. Em especial, ao meu amigo Ramon, que mesmo estando estudando na Johns Hopkins sempre se fez presente. Sem

vocês o viver não teria sido tão divertido

À coordenação, professores e funcionários do PPG Ciências Médicas.

À CAPES e à FIPE/HCPA pelo apoio financeiro.

Enfim, agradeço a todos aqueles que colaboraram de forma direta ou indireta para a realização de mais um sonho. Muito obrigado.

“Se você tem um sonho, tem que correr atrás dele, as pessoas não conseguem vencer e dizem que você também não vai vencer. Se você quer uma coisa, corra atrás, ponto.”

A Procura da Felicidade, 2006.

Resumo

Introdução: Perda de memória é um dos sintomas mais comuns em pacientes nos estágios iniciais da doença de Alzheimer; esses déficits são um reflexo do envolvimento da formação do hipocampo. O BDNF tem sido relacionado com a plasticidade do hipocampo. Neste sentido, as combinações de biomarcadores, como, por exemplo, a volumetria do hipocampo, pode apresentar um maior valor preditivo para diferenciar doença de Alzheimer do envelhecimento normal em pacientes com comprometimento cognitivo leve. **Objetivo:** A presente tese de doutorado teve como objetivo avaliar os níveis séricos do BDNF e o volume do hipocampo em pacientes com demência devido à doença de Alzheimer, Comprometimento Cognitivo Leve (CCL) e idosos saudáveis. **Métodos:** Para realização do estudo foram selecionados 10 idosos saudáveis, 10 CCL e 13 pacientes com demência devido à doença de Alzheimer pelos critérios NIA-AA. Todos participantes foram submetidos a uma avaliação cognitiva. Para as análises do BDNF, foi utilizado método de ELISA e para as análises de volumetria do hipocampo as imagens foram obtidas por meio de equipamento de ressonância de 1.5T e os volumes obtidos por meio do programa NeuroQuant®. **Resultados:** Idosos saudáveis apresentaram níveis séricos mais elevados de BDNF do que os CCL e pacientes com demência. O grupo de pacientes com demência apresentou menor volume total do hipocampo do que os idosos saudáveis e os CCL. Não houve correlação significativa do BDNF sérico com volume do hipocampo. **Conclusão:** Considerando nossos resultados em conjunto (baixos níveis de BDNF nos grupos CCL e demência devido à DA e menor volume do hipocampo na demência devido à AD), podemos supor que a diminuição dos níveis de BDNF ocorre antes da lesão neuronal expressa pela redução do hipocampo.

Palavras Chave:

BDNF, Doença de Alzheimer, Comprometimento Cognitivo Leve, Demência, Atrofia do hipocampo

Abstract

Introduction: Memory impairment is the most common symptom in patients in the early stages of Alzheimer's disease; this deficit is a reflection of the involvement of the hippocampal formation. BDNF has been linked to the hippocampal plasticity. Combinations of biomarkers, such as the hippocampal volumetry may have higher predictive value for differentiating Alzheimer's disease from normal aging in patients with mild cognitive impairment. **Objective:** The objective of present thesis was to evaluate serum levels of BDNF and hippocampal volume in patients with Mild Cognitive Impairment (MCI) and dementia due to Alzheimer's disease, and healthy elderly participants. **Method:** Ten healthy elderly subjects, 10 MCI and 13 patients with dementia due to Alzheimer's Disease (NIA-AA criteria) were selected for the study. All participants were assessed cognitively. The ELISA method was used for BDNF analysis, and the analysis of hippocampal volumetric images were acquired with 1.5T magnetic resonance equipment and volumes obtained with NeuroQuant® program. **Results:** Healthy elderly had higher BDNF serum levels than MCI and dementia due to AD patients. The group of dementia patients had lower total hippocampal volume than MCI and healthy elderly participants. No significant correlation between serum BDNF and hippocampal volume was observed. **Conclusion:** Taking our results together (lower BDNF levels in MCI and dementia due to AD and smaller hippocampal volume in dementia due to AD) we can hypothesize that the decrease of BDNF may start before the establishment of neuronal injury expressed by the hippocampal reduction.

Key-Word

BDNF; Alzheimer's disease (AD); mild cognitive impairment (MCI); Dementia; hippocampal atrophy

LISTA DE FIGURAS

Revisão de Literatura

Figura 1. Fluxograma de busca, exclusão e inclusão de artigos na busca sistemática.....	15
Figura 2. Esquema da hipótese da cascata amilóide.....	17
Figura 3. Próton de Hidrogênio.....	25
Figura 4. Marco Teórico.....	29

ARTIGO

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Demographic and clinical data of the studied groups.....	62
Tabela 2. Age controlled comparison of BDNF serum levels and MRI volumetric data among studied groups (ANCOVA with Bonferroni <i>post hoc</i>).....	63

LISTA DE ABREVIATURAS

AB: beta-amiloide

AD: *Alzheimer's disease*

APP: *amyloid precursor protein*

BDNF: *Brain Derived Neurotrophic Factor*

CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CCL: comprometimento cognitivo leve

CDR: *clinical dementia rating*

CSF: *cerebrospinal fluid*

DA: doença de Alzheimer

DLFT: degeneração lobar frontotemporal

DP: doença de Parkinson

DP: desvio padrão

DSM: manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais

GDS: *geriatric depression scale*

GM: *gray matter*

HCPA: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

LCR: líquido cefalorraquidiano

MEEM: Mini exame do estado mental

MMSE: *Mini-mental state exam*

MRI: *Magnetic resonance imaging*

NIA-AA: *National Institute on Aging – Alzheimer’s Association*

RM: ressonância magnética

SNC: Sistema Nervoso Central

SD: *standard deviation*

SPSS: *Statistical Package for Social Sciences*

UFRGS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

WM: *white matter*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 ESTRATÉGIAS DE BUSCA	16
2.2 DOENÇA DE ALZHEIMER.....	17
2.3 COMPROMETIMENTO COGNITIVO LEVE	20
2.4 BIOMARCADORES.....	23
2.5 <i>BRAIN DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR – BDNF</i>	24
2.6 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA.....	26
2.7 MEDIDA DE VOLUME DO HIPOCAMPO NA DOENÇA DE ALZHEIMER	28
3. MARCO TEÓRICO	29
4. JUSTIFICATIVA	30
5. OBJETIVOS.....	31
5.1 OBJETIVO PRINCIPAL.....	31
5.2 OBJETIVO SECUNDÁRIO	31
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO, REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	32
7. ARTIGO	44
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
10. ANEXOS.....	66

1. Introdução

Os dados do último censo no Brasil demonstram que a população idosa teve uma contribuição significativa no crescimento absoluto da população brasileira nos últimos 10 anos, o número de pessoas com mais de 60 anos é de aproximadamente 24 milhões, mais que o dobro quando comparado a 1991 (1). Em torno de 60% dos indivíduos com demência vivem em países de baixa e moderada renda, sendo um importante problema em países em desenvolvimento como o Brasil (2). O risco de desenvolver a doença de Alzheimer (DA) é de um em cinco, e com o aumento da expectativa de vida, o número de pessoas afetadas é projetada para aumentar (3). Apesar de investigação intensiva nos últimos anos, ainda há uma compreensão incompleta da etiologia e fisiopatologia desta doença incapacitante e dispendiosa; portanto, as melhores estratégias de prevenção e tratamento não são conhecidos (4).

Envelhecimento, por si só, não é uma doença; mas constitui-se de manifestações neuropsicológicas (relacionadas à idade e às mudanças cognitivas) que só são consideradas patológicas se avançar para a demência. Os idosos são, no entanto, mais propensos a sucumbir a certas doenças neurológicas, como Comprometimento Cognitivo Leve, Doença de Alzheimer, Doença de Parkinson, Esclerose lateral amiotrófica, e distúrbios de marcha (5).

Doença de Alzheimer (DA), a causa mais comum de demência nos idosos, é caracterizada pelo acúmulo de placas amilóides e emaranhados neurofibrilares no cérebro (6). O Comprometimento Cognitivo Leve - CCL (do inglês *Mild Cognitive Impairment* - MCI) era tradicionalmente considerada uma condição de transição entre a função cognitiva normal e um diagnóstico clínico de doença de Alzheimer ou outra causa de demência ou ainda ter um caráter reversível (dependendo da causa subjacente). Desta forma, CCL, incluindo CCL amnésico, seria uma condição patologicamente heterogênea em que muitas pessoas exibiriam patologias mistas (7). Mais recentemente, CCL tem sido visto como fase precoce, pré-demência de doenças demenciantes, como a doença de Alzheimer (8).

Recentemente, tem havido muita investigação sobre o possível envolvimento de neurotrofinas, tais como fator derivado do cérebro (BDNF) na patogênese ou no curso da doença de Alzheimer (9). O BDNF é altamente concentrado no hipocampo (10) e é crítico para a função e sobrevivência dos neurónios que degeneram na DA e representa, portanto, um potencial agente neuroprotetor útil na prevenção da neurodegeneração, como claramente demonstrado, em modelos animais da doença de Alzheimer (11). Neste sentido, biomarcadores sanguíneos baseados em plasma, soro, ou leucócitos oferecem as vantagens de serem facilmente colhidos e analisados (12).

Há evidências experimentais de que o BDNF pode atravessar a barreira hemato-encefálica (13,14). Portanto, os níveis séricos de BDNF pode representar uma reserva importante para o cérebro.

As mudanças significativas nas cascatas de BDNF, refletidas pelos níveis da proteína reduzidas no soro e no líquido, juntamente com os dados de estudos de associação genética, reforçam o papel do suporte neurotrófico reduzido como uma característica fundamental da fisiopatologia da DA (15).

A associação significativa entre o distúrbio de memória e atrofia do hipocampo foi previamente relatado (16). O hipocampo parece ser uma das primeiras regiões do cérebro afetadas em pacientes com doença de Alzheimer (DA). Estudos anteriores sugerem que a atrofia do hipocampo, medida usando ressonância magnética (MRI), pode ser um marcador para DA precoce em pacientes com comprometimento cognitivo leve (CCL) e prever uma deterioração mais rápida (17).

Deste modo, essa tese de doutorado tem como hipótese: a redução dos níveis séricos de BDNF em pacientes com CCL e DA quando comparados a idosos saudáveis; e também a relação da atrofia do hipocampo com os níveis séricos de BDNF. Os grupos clínicos escolhidos para realizar o estudo foram a DA, CCL e idosos saudáveis.

A tese inicia com uma revisão de literatura onde são apresentados os aspectos teóricos considerados relevantes para o entendimento das bases teóricas do estudo. Após a revisão de literatura, é apresentado o artigo resultante da pesquisa de doutorado, o qual encontra-se nas normas de formatação recomendadas pelo periódico *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*. O artigo da tese intitula-se: “BDNF serum levels and hippocampal volume in Mild Cognitive Impairment and Dementia due to Alzheimer’s Disease.”.

2. Revisão da Literatura

2.1 Estratégias de Busca

O tema de pesquisa desta tese de doutorado envolve a multidisciplinaridade das áreas científicas: neurologia, neuropsicologia, radiologia. Para fundamentá-la a partir da revisão de conceitos provenientes dessas diferentes áreas científicas, julgou-se mais adequado revisar os aspectos conceituais básicos a partir de uma revisão não sistemática da literatura.

Para revisar as evidências científicas sobre a associação dos níveis de BDNF séricos com volume hipocampal na DA, CCL foi realizada uma busca sistemática de literatura. Essa busca incluiu a base de dados PubMed, Scielo, Lilacs e Scopus. Para buscar estudos BDNF e volume de hipocampo na DA pesquisou-se os seguintes termos no título e resumo dos artigos: “*Alzheimer’s Disease*” AND “*BDNF*”; “*MCI*” AND “*BDNF*”; “*Hippocampal volume*” AND “*BDNF*” e seguidos dos termos “*Alzheimer’s Disease*” AND “*MCI*” AND “*Hippocampal volume*”.

Foram incluídos apenas artigos de pesquisa originais; que avaliaram os níveis de BDNF em seres humanos com Doença de Alzheimer e Comprometimento Cognitivo Leve; e também sobre volumes de hipocampo em seres humanos com Doença de Alzheimer e Comprometimento Cognitivo Leve. Os artigos incluídos inicialmente precisavam apresentar informações suficientes

para a compreensão dos achados no título e abstract para posterior análise do texto completo. Para tanto foram utilizados os que estavam disponíveis na íntegra em inglês, português ou espanhol (Figura 1).

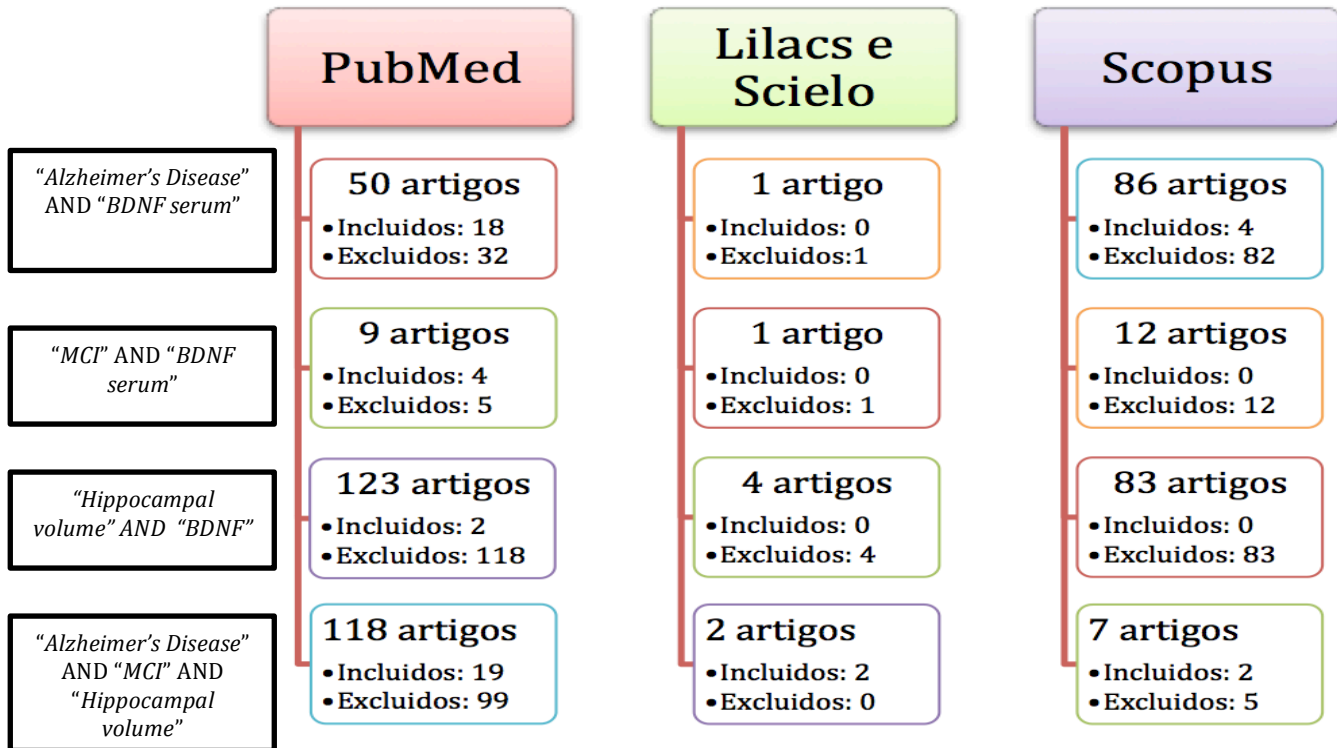


Figura 1: Fluxograma de busca, exclusão e inclusão de artigos na busca sistemática.

2.2 Doença de Alzheimer

A Doença de Alzheimer é a principal causa de demência e um dos maiores desafios de saúde do século 21 (18). Estima-se que 40 milhões de pessoas, a maioria com mais de 60 anos, têm demência em todo o mundo, e este número deve dobrar a cada 20 anos, pelo menos até 2050 (19). Aumentos previstos na prevalência de demência são proporcionalmente maiores para os países em desenvolvimento com populações jovens do que para a Europa

Ocidental e os EUA, que já têm uma população mais idosa (20). A estimativa recente do custo de cuidados de saúde diretos e indiretos incorridos em todo o mundo por aqueles afetados pela DA foi de US\$ 156 bilhões anualmente (21).

DA foi primeiramente descrita pelo médico alemão Alois Alzheimer em 1907. Alzheimer estudou o cérebro post-mortem de uma paciente de 51 anos de idade que apresentava uma doença mental incomum, e observou profunda atrofia cerebral, morte neuronal extensa e alterações morfológicas características no tecido cerebral (22). Os achados patológicos que caracterizam essa doença são as placas amilóides e os emaranhados neurofibrilares. A hipótese da cascata amilóide sugere que a clivagem da proteína precursora amilóide (APP) formando os peptídeos β -amiloides ($A\beta$ 1-40 e $A\beta$ 1-42) pela beta e gama secretases causa um acúmulo extracelular e depósito da proteína $A\beta$, desencadeando disfunção e morte neuronal no cérebro, como resultado de um efeito tóxico da carga amilóide. Os emaranhados neurofibrilares são constituídos de proteína microtubular Tau fosforilada. A hipótese da cascata amilóide postula que o efeito tóxico do depósito de $A\beta$ causa mudanças na estrutura da proteína Tau (hiperfosforilação) formando os emaranhados neurofibrilares. No entanto essa relação entre $A\beta$ e Tau ainda não é bem compreendida (23).

A hipótese mais aceita atualmente é a da cascata amilóide, que defende que o processo neurodegenerativo na DA é resultado de uma série de eventos desencadeados pelo acúmulo, agregação e toxicidade do peptídeo $A\beta$, iniciados com o processamento anormal da proteína precursora amilóide (APP) (Figura 2) (24,25).

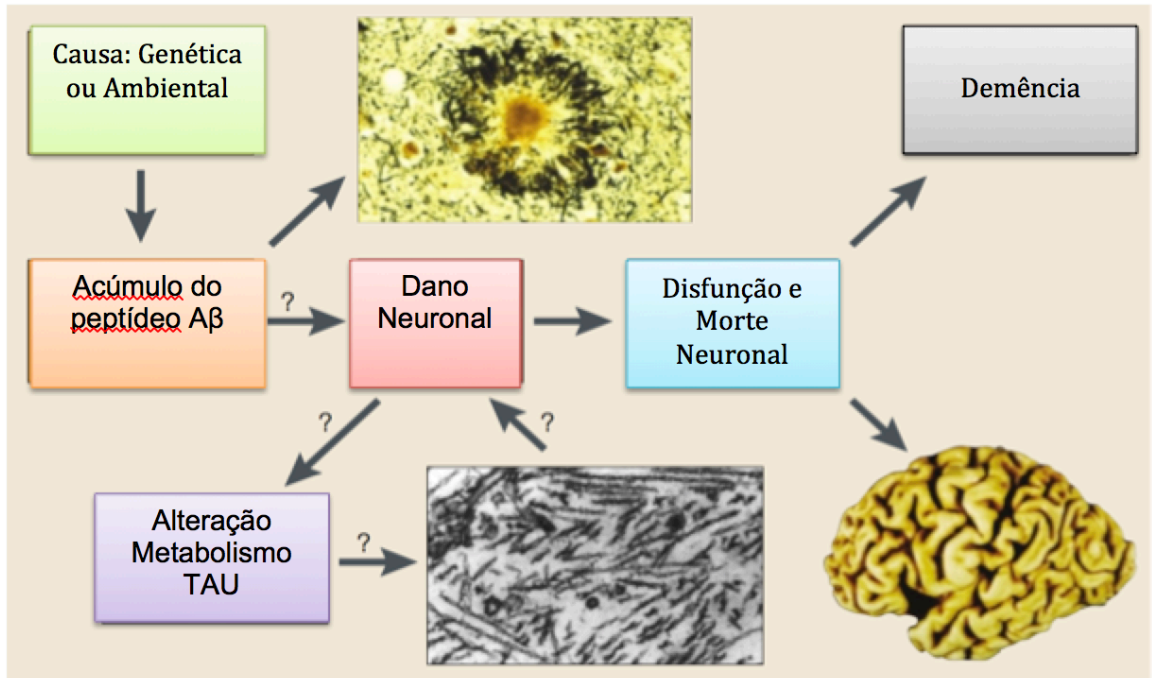


Figura 2. Esquema da hipótese da cascata amilóide. O acúmulo do peptídeo A β leva a uma série de eventos intracelulares que induzem ao dano neuronal, alteração do metabolismo da proteína tau, disfunção, morte neuronal e, por fim, à demência (Adaptada de Sisodia SS & St. George-Hyslop PH. γ -Secretase, Notch, A β and Alzheimer's disease: where do the presenilins fit in? Nat Rev Neurosci. 3(4):281-90, 2002.).

O diagnóstico clínico da síndrome demencial depende de uma história do paciente e seus cuidadores, testes neuropsicológicos e avaliação dos sintomas ao longo do tempo. O primeiro conjunto de critérios propostos para o diagnóstico de doença de Alzheimer foi lançado em 1984 e focado apenas em sintomas clínicos. Com o avanço da tecnologia, o aprimoramento das técnicas de ressonância magnética e da identificação de biomarcadores no líquido cefalorraquidiano (LCR), e do desenvolvimento do PET amilóide, formou-se um conjunto de evidências que inspiraram a revisão dos critérios realizada por um painel de especialistas do Instituto Nacional de Envelhecimento e Associação de Alzheimer (NIA-AA) (8, 26, 27).

A evidência crescente sugere que muitos outros fatores relacionados ao estilo de vida, incluindo diabetes, obesidade, inatividade física e mental, depressão, tabagismo, baixo nível de escolaridade e dieta têm um papel na ocorrência de demência. Desta forma, o potencial para a prevenção primária referente a esses fatores de risco modificáveis é enorme, mas ainda não foi totalmente explorado (28). Assim como os fatores de risco para a doença existem fatores protetores. A escolaridade é identificada em inúmeros estudos provavelmente pelo conseqüente aumento da densidade sináptica de regiões corticais e pela maior capacidade de compensação de deficiências intelectuais dos indivíduos com maior escolaridade – relacionada ao conceito de reserva cognitiva (29).

2.3 Comprometimento Cognitivo Leve

Assim como demência, Comprometimento Cognitivo Leve (CCL) é agora reconhecido como um importante problema de saúde pública, potencialmente afetando entre 12% e 18% dos indivíduos com mais de 65 anos (30), e está associada com aumento da morbidade e mortalidade, bem como risco de doença de Alzheimer (31-33). O conceito de CCL, no entanto, tem evoluído. É agora reconhecido como uma síndrome heterogênea indicando risco para o desenvolvimento de uma variedade de doenças demenciais (34). Há indicações de que o adiamento entre comprometimento cognitivo leve e demência poderia resultar em benefícios econômicos em curto prazo de pelo menos US \$ 5300 por paciente por ano (35).

O constructo de comprometimento cognitivo leve tem sido proposto para designar um início anormal do estado de disfunção cognitiva (34). Enquanto os critérios originais de CCL pertenciam amplamente ao déficit de memória, posteriormente ocorreu uma extensão do conceito porque aos poucos foi ficando claro que nem todas as formas de CCL progrediam para doença de Alzheimer, e então, outras apresentações de comprometimento cognitivo necessitaram ser consideradas.

Em 2003 uma conferência internacional de peritos foi realizada para revisar os critérios (34,36), e desta conferência critérios mais amplos para CCL foram propostos. A proposta foi subdividir nos fenótipos amnésicos e não amnésicos, os quais foram ainda sub-classificados em único e múltiplos domínios cognitivos (de comprometimento). Assim, surgiram os quatro seguintes subtipos: CCL amnésico; CCL não amnésico de domínio único (com comprometimento de um único domínio cognitivo outro que não memória); CCL amnésico de múltiplos domínios, caracterizado por um leve comprometimento de múltiplos domínios cognitivos incluindo memória; e CCL não amnésico de múltiplos domínios, com um leve comprometimento de múltiplos domínios, mas sem déficit de memória.

No estudo Cardiovascular Health Study, 6% da amostra apresentou CCL amnésico e 16% tinha CCL com múltiplos déficits cognitivos (37), 6% de todos os CCL e 21,5% de todos os casos de múltiplos déficits não tinham comprometimento de memória. Há pouca informação sobre taxas de mortalidade no CCL e nos seus diferentes subtipos. Dois estudos de base populacional examinaram o risco de morte entre pessoas com CCL (38,39), e demonstraram que há probabilidade de 1,7 vezes maior de morrer durante o período de seguimento entre aqueles com CCL.

Mais recentemente o conceito de CCL foi reformulado em função da evolução dos conhecimentos sobre a fisiopatologia e marcadores da doença de Alzheimer pelo o Instituto Nacional para o Envelhecimento Americano (National Institute on Aging - NIA) e a Associação de Alzheimer, que publicaram as recomendações para o diagnóstico de CCL devido à doença de Alzheimer (8). Nessa publicação, o grupo de painelistas define a inclusão do continuum entre a fase sintomática pré-demência e o início da demência. Os critérios estabelecidos estão abaixo listados.

Critérios clínicos e cognitivos:

- a) preocupação cognitiva refletindo mudança na cognição relatada pelo

- paciente ou informante ou médico (evidência de declínio ao longo do tempo pela história ou observada);
- b) evidência objetiva de comprometimento em um ou mais domínios cognitivos, tipicamente incluindo memória (teste de beira de leito formal para estabelecer nível de função cognitiva em múltiplos domínios);
 - c) preservação da independência nas habilidades funcionais (não demenciado).

e o exame etiológico de CCL, que consistente em processo fisiopatológico de DA, descartar causas de declínio cognitivo vascular, traumático, clínico, e quando possível, fornecer evidência de declínio longitudinal.

Uma combinação de fatores causais interage em pacientes com comprometimento cognitivo leve, incluindo disfunção colinérgica, lesões da substância branca e infartos cerebrais, a deposição de amiloide extracelular e formação de emaranhados neurofibrilares intracelulares (40). A evidência sugere que um indivíduo que preenche os critérios clínicos, cognitivos e etiológicos para CCL, e também é positivo para o alelo $\epsilon 4$ da APOE, é mais provável que possa evoluir para demência dentro de poucos anos quando comparado com uma pessoa sem essa característica genética. Postula-se que muitos genes adicionais desempenham um papel importante, mas menos do que da APOE; estes genes adicionais também irão conferir alterações no risco de progressão para a demência (41).

As estratégias relevantes para tratamento de CCL são limitadas a informações sobre manter hábitos de vida saudáveis. Em nível de cuidados primários à saúde, a intervenção é restrita à prevenção primária e manejo de fatores de risco para CCL e demência que são reconhecidamente modificáveis (36). Persistem dificuldades na definição dos limites entre o envelhecimento normal e comprometimento cognitivo leve, e entre comprometimento cognitivo leve e demência leve (42).

2.4 Biomarcadores

Para efeitos da abordagem diagnóstica foi proposto, duas categorias de biomarcadores, que têm sido os mais estudados e aplicados aos resultados clínicos. Eles são referidos como "A β " (que inclui A β 42 no liquor ou imagiologia PET amilóide) e "marcadores de dano neuronal" (que se refere a tau / p-tau no liquor, hipocampo, ou atrofia do lobo temporal em ressonância magnética, e temporo parietal / hipometabolismo precuneus ou hipoperfusão em PET ou SPECT) (8).

Os biomarcadores para amiloidose cerebral incluem a redução de A β 42 no liquor e aumento da retenção de traços na imagem por PET. O aumento da proteína TAU no liquor não é específica para Alzheimer sendo provavelmente um marcador genérico de dano neuronal. A diminuição de *fluorodeoxyglucose* 18F (FDG) na PET com padrão temporoparietal de hipometabolismo é um biomarcador de DA relacionado com disfunção sináptica. Atrofia cerebral demonstrada na Ressonância Nuclear Magnética Estrutural, no padrão característico envolvendo os lobos medial e temporal, límbico e no córtex temporoparietal é um biomarcador relacionado com o processo neurodegenerativo da DA (26). E ainda há um terceiro grupo de biomarcadores refletir as alterações bioquímicas relacionadas com processos, tais como a morte das células, danos sináptica, o stress oxidativo, ou a inflamação, que pode ser parte da cascata de eventos que medeiam os danos, ou a resposta ao dano, em DA (8).

Então nesta lógica, os principais biomarcadores no líquor para a doença de Alzheimer são A β 42, o que mostra a deposição de amilóide cortical; tau total (t-tau), o que reflete a intensidade da neurodegeneração; e tau fosforilada (p-tau), que se correlaciona com alterações patológicas neurofibrilares (43). Mas, o sangue é mais acessível do que o líquor, o que torna biomarcadores sanguíneos desejáveis para utilização em ambos os cuidados primários e várias amostragem em ensaios clínicos (e talvez até mesmo futuro rastreio da população).

Em diversos estudos, as combinações de lípidos, proteínas, metabolitos ou outras moléculas foram usadas para discriminar pacientes com doença de Alzheimer de controles saudáveis, e tais resultados podem representar novos biomarcadores no para Doença de Alzheimer (44,45). Outra abordagem seria a de medir as proteínas específicas do SNC; no entanto, é notoriamente difícil por causa de baixas concentrações no sangue, porque estas proteínas sofrem degradação pelas proteínas do plasma, e por causa da grande quantidade de proteínas de matriz no sangue que podem causar interferência no ensaio. mas grandes estudos clínicos são necessários para avaliar o desempenho de diagnóstico deste tipo de biomarcador sangue (18).

2.5 Brain Derived Neurotrophic Factor – BDNF

As neurotrofinas são uma família de proteínas essenciais para o desenvolvimento, diferenciação e sobrevivência de neurônios. O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) é a neurotrofina mais amplamente distribuída no sistema nervoso central (SNC) (46). Ela desempenha um papel importante na regulação do crescimento axonal e dendrítico, e de participação na liberação do neurotransmissor serotonina (47). O BDNF está relacionado com uma série de processos do sistema nervoso central, incluindo plasticidade sináptica, diferenciação e sobrevivência neuronal, neuroproteção, resiliência neuronal e restauração contra ampla variedade de insultos celulares (48).

A expressão do BDNF é alta no hipocampo e no córtex cerebral que são áreas envolvidas na regulação da memória e atenção. BDNF tem um papel central no mecanismo de potenciação de longo prazo – um dos modelos mais bem aceitos sobre memória e aprendizado – através da indução de potenciação de longo prazo no hipocampo com alterações sinápticas estruturais (49,50). A administração de BDNF exógeno a ratos geneticamente modificados deficientes em BDNF ou seu receptor TrkB reverteu o prejuízo no mecanismo de potenciação de longo prazo (51). Ratos transgênicos em que falta BDNF ou

TrkB demonstraram pobre performance em tarefas de aprendizado espacial, comparados com ratos não transgênicos (52).

Por estar envolvido na regulação da plasticidade sináptica, o BDNF desempenha um papel fundamental na formação e armazenamento da memória (53), tornando-se alvo de investigações na demência. Em modelos animais, o BDNF parece regular a plasticidade hipocampal e os processos de aprendizagem dependentes desta região (54,55). BDNF também regula o processamento de proteína precursora amilóide, estimulando a via de processamento não-amiloidogênico (56,57). Verificou-se que o aumento da idade foi associado com níveis reduzidos de BDNF e níveis reduzidos de BDNF estavam relacionados à diminuição do volume do hipocampo e déficits de memória elevados (58).

Apesar da forte evidência de ligação entre mudanças em BDNF e as características fisiopatológicas centrais da DA, existem alguns pontos que permanecem obscuros. Resta ser elucidado se os níveis circulantes de BDNF refletem precisamente a sua expressão no cérebro como diferentes tipos de células na periferia, tal como as células endoteliais e células mononucleares, e se podem sintetiza-lo (59). Por outro lado, o BDNF pode ser armazenado em plaquetas, que pode funcionar como um "sistema tampão" regulando os níveis periféricos de BDNF (60,61). Este pode ser um fator de confusão quando se avalia a relação entre os níveis séricos e cerebrais de BDNF e sua relevância para a fisiopatologia da AD.

Estudos de associação genética têm sugerido que os polimorfismos de BDNF, principalmente no *codón* 66 (Val66Met), estão associados com o aumento do risco de DA (62-64). Porém, resultados negativos nesta associação também foram relatados na literatura (65-67).

2.6 Ressonância Magnética

A ressonância magnética (RM) é atualmente a técnica mais sofisticada para aquisição de imagens morfológicas do encéfalo. Habitualmente, usa-se o campo magnético de 1,5 T, ainda que equipamentos mais recentes tenham sido fabricados com campos mais potentes, como 3 T e 7 T (68).

O fenômeno físico da RM foi descrito em 1946 por Block e Purcell (69,70), as primeiras imagens do corpo humano só foram possíveis cerca de trinta anos após. Este intervalo de tempo revela a complexidade deste método e a necessidade, para a formação da imagem, do uso de tecnologias aparentemente tão distintas como os supercondutores e o processamento de sinais (71).

As propriedades de ressonância magnética têm origem na interação entre um átomo em um campo magnético externo; de forma mais precisa, é um fenômeno em que partículas contendo momento angular e momento magnético exibem um movimento de precessão quando estão sob ação de um campo magnético. Os principais átomos que compõem o tecido humano são: hidrogênio, oxigênio, carbono, fósforo, cálcio, flúor, sódio, potássio e nitrogênio. Estes átomos, exceto o hidrogênio, possuem no núcleo atômico prótons e nêutrons. Apesar de outros núcleos possuírem propriedades que permitam a utilização em RM, o hidrogênio é o escolhido por três motivos básicos: é o mais abundante no corpo humano: cerca de 10% do peso corporal se deve ao hidrogênio (72); as características de RM se diferem bastante entre o hidrogênio presente no tecido normal e no tecido patológico; o próton do hidrogênio possui o maior momento magnético e, portanto, a maior sensibilidade a RM.

O átomo de hidrogênio possui como núcleo o próton. Os prótons são partículas carregadas positivamente, que possuem uma propriedade chamada de spin ou momento angular. Quando o paciente é posicionado no interior do magneto e fica sob a ação de um campo magnético de, por exemplo, 1,5 T, os prótons de hidrogênio irão se orientar de acordo com a direção do campo aplicado, como se fossem pequenas bússolas; porém, ao contrário das bússolas,

que apontariam seu norte marcado na agulha para o sul magnético, os prótons de hidrogênio apontam tanto paralelamente quanto antiparalelamente ao campo (Figura 3 A e B).

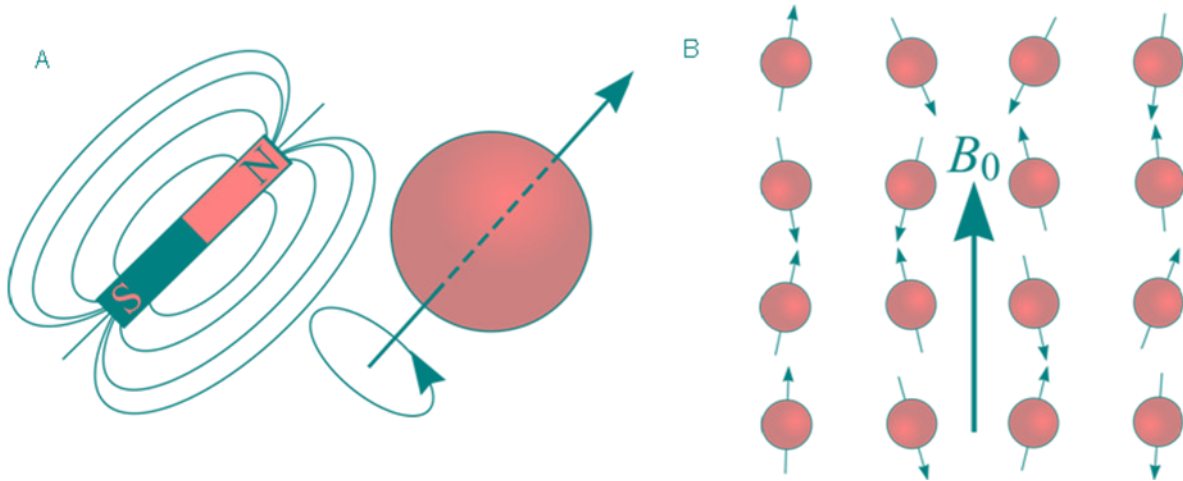


Figura 3 A e B – Próton de hidrogênio. A) O próton de hidrogênio pode ser visto como uma pequena esfera que possui um movimento de giro, ou spin, em torno do seu próprio eixo, comportando-se como um pequeno dipolo magnético ou como um ímã com um momento magnético associado. B) Prótons de hidrogênio sob ação do campo magnético externo aplicado se distribuem em dois níveis de energia, sendo que um pequeno número maior de prótons se alinha paralelamente. Fonte: Puddephat M. (73).

Um campo magnético intenso é necessário para alinhar o núcleo de hidrogênio (próton) que existe em cada célula do corpo humano (como nos equipamentos de RM). Uma vez alinhados os núcleos de hidrogênio, o aparelho emite uma frequência de 63,8 MHz causando a excitação destes núcleos. A excitação dos núcleos de hidrogênio gera uma onda de energia, conhecida como ressonância. Através desta onda de energia o aparelho determina a posição espacial (coordenadas x,y,z) e a intensidade do sinal (brilho) de cada ponto da imagem. Após receber cada pulso de RF os spins voltam a se realinhar

liberando energia, a energia liberada é captada pelas bobinas (coils) considerando suas coordenadas espaciais que após conversão por cálculo matemático geram as imagens (74,75).

2.7 Medida de volume do hipocampo na doença de Alzheimer

A perda de memória é um dos principais sintomas da doença de Alzheimer e o padrão de prejuízo de memória é caracterizado por envolvimento precoce da memória explícita, particularmente das funções relacionadas às memórias episódica e operante (76). Estruturas do lobo temporal mesial e do hipocampo estão associadas à memória episódica, e perda de memória explícita envolve hipocampo e amígdala (76). Exames de imagem tem um papel chave na avaliação clínica de pacientes com suspeita de doença de Alzheimer. A visão tradicional de que pelo menos uma verificação estrutural (ou CT ou RM) deve ser feita pelo menos uma vez em cada paciente com transtorno cognitivo para excluir causas intracranianas (por exemplo, meningioma, hematoma subdural, doenças orgânicas, causas estruturais). Volumetria hipocampal pode ser mais exata (77). Os estudos de Braak & Braak identificaram os emaranhados neurofibrilares típicos da DA hipocampo e regiões para-hipocampais ocorrendo precocemente na doença e associados ao comprometimento de memória (78,79). Menores volumes de hipocampo poderiam prever uma conversão mais rápida de demência (80) e a função de memória mais pobre (81).

As recomendações para os critérios diagnósticos de doença de Alzheimer publicadas em 2011 pela NIA-AA, seja para CCL ou demência devido à doença de Alzheimer, definem biomarcadores para cenários particulares de avaliação destas condições determinando probabilidade de patologia Alzheimer, conforme já mencionados no item 2.4 desta tese (8,26). Entre os marcadores de dano neuronal ou neurodegeneração encontra-se um único obtido de imagem estrutural: medidas de volume hipocampal e espessura cortical (padrão característico com atrofia dos lobos temporais mediais, córtex paralímbico e

temporo-parietal) avaliadas por volumetria na RM. Portanto, atrofia hipocampal já está bem estabelecida como achado altamente associado a DA.

Em ensaios clínicos de medicamentos que são projetados para retardar o início de demência ou progressão da disfunção cognitiva em pacientes com patologia de Alzheimer, o exame de imagem é frequentemente utilizado para inclusão e como medida de desfecho secundário. Atrofia hipocampal e PET amilóide foram qualificados pela Agência Europeia de Medicamentos para enriquecer ensaios clínicos na fase de pré-demência da doença de Alzheimer (82).

3. Marco Teórico

Há evidência de que as neurotrofinas têm efeito neuroprotetor em condições patológicas e isto poderia ser de especial interesse nas doenças neurodegenerativas como a DA. Como os níveis de neurotrofinas parecem ser alterados na maior parte das doenças psiquiátricas, a questão principal que permanece para esclarecimento é se estas alterações são primárias – causais, ou secundárias – reativas (83).

Em condições normais o BDNF é produzido no córtex entorrinal e transportado ao hipocampo e amígdala, que são os próximos locais de degeneração neurofibrilar nos cérebros com DA. Transporte comprometido ou *down-regulation* do BDNF nos neurônios de indivíduos idosos leva à diminuição dos níveis de BDNF com possível prejuízo subclínico na memória e cognição (84). Adicionalmente, a degeneração colinérgica leva à diminuição das fibras de inervação colinérgica que se projetam ao hipocampo e neocórtex, com conseqüente declínio dos níveis basais de expressão do BDNF (84).

Ao avaliar o desempenho de diagnóstico de biomarcadores da doença de Alzheimer, é essencial considerar que um *continuum* de alterações patológicas (por exemplo, contagens de placa) existe sem qualquer distinção clara entre os pacientes com doença de Alzheimer e idosos cognitivamente saudáveis que morreram de outras causas (85). Desta forma, os níveis séricos de BDNF poderiam representar um fator biológico importante em doenças que envolvam o hipocampo, auxiliando nesta distinção.

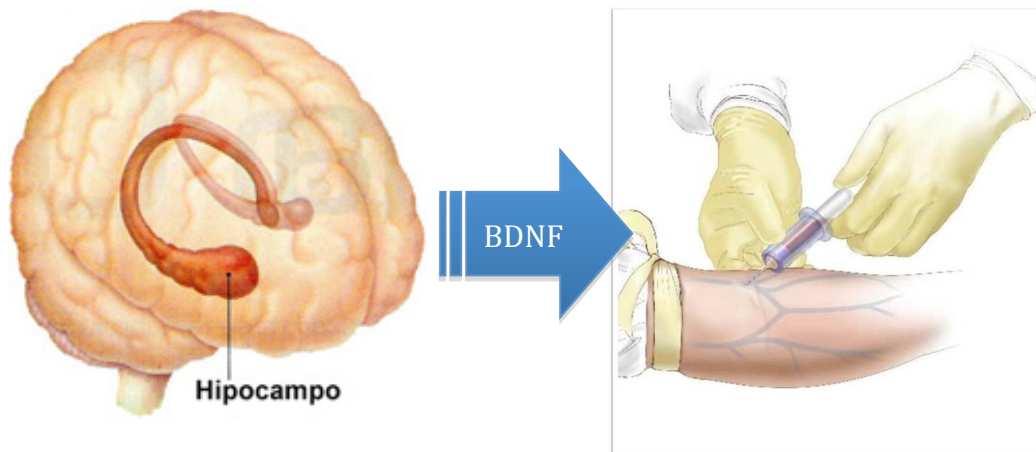


Figura 4. Marco Teórico.

Então, considerando o reconhecido envolvimento do hipocampo na DA, é razoável supor que pacientes com DA que apresentem maior perda de volume hipocampal tenham menores níveis séricos de BDNF em relação aos idosos saudáveis. Também se pode supor que pacientes com CCL amnésico – mais provavelmente fase prodrômica da DA – apresentem uma relação intermediária entre os grupos de saudáveis e demência. Além disso, pode-se também supor que outras variáveis clínicas possam estar associadas à DA e volume de hipocampo.

4. Justificativa

O avanço no conhecimento de marcadores biológicos para a DA é muito

importante considerando a gravidade, e a sobrecarga que esta doença acarreta. Este trabalho visou contribuir no entendimento da possível relação dos níveis séricos de BDNF com o volume de hipocampo, pois estes níveis poderiam ser um fator biológico importante em doenças que envolvam o hipocampo.

Ainda estamos distantes de informações sobre riscos definitivos e benefícios de estratégias de prevenção ou do impacto destas sobre a modificação dos riscos na DA, mas estudos como este podem gerar novas hipóteses com potencial de auxiliar na definição de estratégias de prevenção ou modificação de fatores de risco para esta doença.

5. Objetivos

5.1 Objetivo Principal

Avaliar a associação dos níveis de BDNF com medidas de volume de hipocampo obtido de imagem por ressonância magnética em pacientes com Comprometimento Cognitivo Leve, Doença de Alzheimer e idosos saudáveis.

5.2 Objetivo Secundário

Avaliar a relação dos níveis de BDNF e volume de hipocampo com variáveis que definem perfis dos pacientes portadores de DA e CCL, descritas a seguir:

- sexo, idade, escolaridade (perfil demográfico);
- comparar os níveis séricos de BDNF e o volume de hipocampo de idosos saudáveis, indivíduos com CCL e pacientes com DA leve e moderada.
- correlacionar os níveis séricos de BDNF com medidas volumétricas, idade, e escolaridade.

6. Referências Bibliográficas da Introdução, Revisão Bibliográfica e Considerações Finais

1. IBGE, 2014. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Demográfico 2010. Acessado em Maio de 2016 em: <http://censo2010.ibge.gov.br>
2. The Lancet. Addressing global dementia. The Lancet 2014; 383,2185. doi:10.1016/S0140-6736(14)61066-7
3. Seshadri S, Wolf PA. Lifetime risk of stroke and dementia: current concepts, and estimates from the Framingham Study. Lancet Neurol. 2007; 6(12):1106–1114.
4. Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganguli M, Hall K, Hasegawa K, Hendrie H, Huang Y, Jorm A, Mathers C, Menezes PR, Rimmer E, Sczufca M; Alzheimer's Disease International. Alzheimer's Disease International. Global prevalence of dementia: a Delphi Consensus Study. Lancet. 2005; 366(9503):2112–2117. doi: 10.1016/S0140-6736(05)67889-0
5. Jain KK. Neurologic disorders of aging. November 2006. Acessado em Março de 2016 em: http://www.medlink.com/article/neurologic_disorders_of_aging
6. Diagnostic, statistical manual of mental disorders, 4th ed.: DSM- 4. Washington DC: American Psychiatric Association, 1994.
7. Schneider JA, Arvanitakis Z, Leurgans SE and Bennett DA. The neuropathology of probable Alzheimer disease and mild cognitive impairment. Ann. Neurol. 2009; 66:200–208. doi:10.1002/ana.21706
8. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman HH, Fox NC, Gamst A, Holtzman DM, Jagust WJ, Petersen RC, Snyder PJ, Carrillo MC, Thies B,

- Phelps CH. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2011 May; 7(3):270-9. doi: 10.1016/j.jalz.2011.03.008.
9. Mattson MP, Maudsley S, Martin B. BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends in Neurosciences*. 2004; 27,589–594.
10. Phillips HS, Hains JM, Laramie GR, Rosenthal A and Winslow JW. Widespread expression of BDNF but not NT3 by target areas of basal forebrain cholinergic neurons. *Science*. 1990; 250,290–294. doi:10.1126/science.1688328
11. Nagahara AH, Merrill DA, Coppola G, Tsukada S, Schroeder BE, Shaked GM, Wang L, Blesch A, Kim A, Conner JM, Rockenstein E, Chao MV, Koo EH, Geschwind D, Masliah E, Chiba AA, Tuszynski MH.. Neuroprotective effects of brain-derived neurotrophic factor in rodent and primate models of Alzheimer's disease. *Nature Medicine*. 2009; 15,331–337.
12. Lista S, Faltraco F, Prvulovic D, Hampel H. Blood and plasma-based proteomic biomarker research in Alzheimer's disease, *Prog. Neurobiol*. 2013; 101:1–17. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pneurobio.2012.06.007>.
13. Poduslo JF, Curran GL. Permeability at the blood–brain barrier and blood–nerve barriers of the neurotrophic factors: NGF, CNTF, NT-3, BDNF. *Molecular Brain Research*. 1996; 36:280–286.

14. Pan W, Banks WA, Fasold MB, Bluth J, Kastin AJ. Transport of brain-derived neurotrophic factor across the blood–brain barrier. *Neuropharmacology*. 1998; 37(12):1553–1561.
15. Breno SD, Antonio LT. Brain-Derived Neurotrophic Factor and Alzheimer's Disease: Physiopathology and Beyond. *Neuromol Med*. 2011; 13:217–222
16. Tulving E, Markowitsch HJ. Episodic and declarative memory: role of the hippocampus. *Hippocampus*. 1998; 8(3):198-204.
17. Jack CR Jr, Petersen RC, Xu YC, O'Brien PC, Smith GE, Ivnik RJ, Boeve BF, Waring SC, Tangalos EG, Kokmen E. Prediction of AD with MRI-based hippocampal volume in mild cognitive impairment. *Neurology*. 1999; 52:1397–1403.
18. Scheltens P, Blennow K, Breteler MM, de Strooper B, Frisoni GB, Salloway S, Van der Flier WM. Alzheimer's disease. *Lancet*. 2016 Feb 23. pii: S0140-6736(15)01124-1. doi: 10.1016/S0140-6736(15)01124-1.
19. Prince M, Bryce R, Albanese E, Wimo A, Ribeiro W, Ferri CP. The global prevalence of dementia: a systematic review and meta analysis. *Alzheimers Dement*. 2013; 9:63–75.
20. Lambert MA, Bickel H, Prince M, Fratiglioni L, Von Strauss E, Frydecka D, Kiejna A, Georges J, Reynish EL. Estimating the burden of early onset dementia; systematic review of disease prevalence. *Eur J Neurol*. 2014; 21:563–69.

21. Wimo A, Jonsson L, Winblad B. An estimate of the worldwide prevalence and direct costs of dementia in 2003. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2006; 21:175–181.
22. Alzheimer A. Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. Translated by Jarvik L, Greenson H. About a peculiar disease of the cerebral cortex. *Alzheimer's Dis Assoc Dis* 1987; 1: 7-8.
23. Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones E. Alzheimer's disease. *Lancet*. 2011 Mar 19;377(9770):1019–31.
24. St. George-Hyslop PH & Westaway DA. Alzheimer's disease. Antibody clears senile plaques. *Nature*. 8;400(6740):116-7, 1999.
25. Mattson MP & Chan SL. Neuronal and glial calcium signaling in Alzheimer's disease. *Cell Calcium*. 2003; 34(4-5):385-97.
26. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR Jr, Kawas CH, Klunk WE, Koroshetz WJ, Manly JJ, Mayeux R, Mohs RC, Morris JC, Rossor MN, Scheltens P, Carrillo MC, Thies B, Weintraub S, Phelps CH. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2011 May ; 7(3): 263–269. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.005.
27. Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, Iwatsubo T, Jack CR Jr, Kaye J, Montine TJ, Park DC, Reiman EM, Rowe CC, Siemers E, Stern Y, Yaffe K, Carrillo MC, Thies B, Morrison-Bogorad M, Wagster MV, Phelps CH.. Toward defining the preclinical stages of

- Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging–Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2011; 7: 280–92.
28. Norton S, Matthews FE, Barnes DE, Yaffe K, Brayne C. Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: an analysis of population-based data. *Lancet Neurol* 2014; 13: 788–94.
29. Cummings JL, Vinters HV, Cole GM, et al. Alzheimer's disease: etiologies, pathophysiology, cognitive reserve, and treatment opportunities. *Neurology*. 1998; 51(Suppl1):S2-S67.
30. DeCarli C. Mild cognitive impairment: prevalence, prognosis, aetiology, and treatment. *Lancet Neurol*. 2003; 2(1):15–21.
31. Yaffe K, Petersen RC, Lindquist K, Kramer J, Miller B. Subtype of mild cognitive impairment and progression to dementia and death. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2006; 22(4):312–319.
32. Guehne U, Angermeyer MC, Riedel-Heller S. Is mortality increased in mildly cognitively impaired individuals? a systematic literature review. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2006; 21(5–6):403–410.
33. Luck T, Roehr S, Jessen F, Villringer A, Angermeyer MC, Riedel-Heller SG. Mortality in individuals with mild cognitive impairment: results of the Leipzig Longitudinal Study of the Aged (LEILA75+). *Neuroepidemiology*. 2007; 29(3–4):226–234.
34. Petersen RC. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J Intern Med*. 2004; 256(3):183–194.

35. Wimo A, Winblad B. Pharmacoeconomics of mild cognitive impairment. *Acta Neurol Scand.* 2003; 107(suppl 179):94–99.
36. Winblad B, Palmer K, Kivipelto M, Jelic V, Fratiglioni L, Wahlund LO, Nordberg A, Bäckman L, Albert M, Almkvist O, Arai H, Basun H, Blennow K, de Leon M, DeCarli C, Erkinjuntti T, Giacobini E, Graff C, Hardy J, Jack C, Jorm A, Ritchie K, van Duijn C, Visser P, Petersen RC.I. Mild cognitive impairment - beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. *J Intern Med.* 2004; 256:240-6.
37. Lopez OL, Jagust WJ, DeKosky ST, Becker JT, Fitzpatrick A, Dulberg C, Breitner J, Lyketsos C, Jones B, Kawas C, Carlson M, Kuller LH. Prevalence and Classification of Mild Cognitive Impairment in the Cardiovascular Health Study Cognition Study. *Arch Neurol.* 2003; 60:1385-1389.
38. Gussekloo J, Westendorp RGJ, Remarque EJ, Lagaay AM, Heeren TJ, Knook DL. Impact of mild cognitive impairment on survival in very elderly people: cohort study. *BMJ.* 1997; 315:1053–1054.
39. Frisoni GB, Fratiglioni L, Fastbom J, Winblad B. Mild cognitive impairment in the population and physical health: data on 1,435 individuals aged 75 to 95. *Journal of Gerontology.* 2000; 55, 322-328.
40. Gauthier S, Reisberg B, Zaudig M, Petersen RC, Ritchie K, Broich K, Belleville S, Brodaty H, Bennett D, Chertkow H, Cummings JL, de Leon M, Feldman H, Ganguli M, Hampel H, Scheltens P, Tierney MC, Whitehouse P, Winblad B; International Psychogeriatric Association Expert Conference on

mild cognitive impairment. *Mild cognitive impairment. Lancet.* 2006 Apr 15;367(9518):1262-70.

41. Bertram L, Lill C, Tanzi R. The genetics of Alzheimer disease: back to the future. *Neuron.* 2010; 21:270–81.
42. Burns A, Zaudig M. Mild cognitive impairment in older people. *Lancet.* 2002; 360: 1963–65.
43. Blennow K, Hampel H, Weiner M, Zetterberg H. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol.* 2010; 6:131–44.
44. Mapstone M, Cheema AK, Fiandaca MS, Zhong X, Mhyre TR, MacArthur LH, Hall WJ, Fisher SG, Peterson DR, Haley JM, Nazar MD, Rich SA, Berlau DJ, Peltz CB, Tan MT, Kawas CH, Federoff HJ. Plasma phospholipids identify antecedent memory impairment in older adults. *Nat Med.* 2014; 20: 415–18.
45. Henriksen K, O'Bryant SE, Hampel H, Trojanowski JQ, Montine TJ, Jeromin A, Blennow K, Lönneborg A, Wyss-Coray T, Soares H, Bazenet C, Sjögren M, Hu W, Lovestone S, Karsdal MA, Weiner MW; Blood-Based Biomarker Interest Group. The future of blood-based biomarkers for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2014; 10: 115–31.
46. Tapia-Arancibia L, Aliaga E, Silhol M, Arancibia S. New insights into brain BDNF function in normal aging and Alzheimer disease. *Brain Research Reviews.* 2008; 59(1):201–220.
47. Chao MV. Neurotrophins and their receptors: A converge point for many signaling pathways. *Nature Reviews Neuroscience.* 2003; 4(4):199–209.

48. Hu Y & Russek SJ. BDNF and the diseased nervous system: A delicate balance between adaptive and pathological processes of gene regulation. *Journal of Neurochemistry*. 2008; 105:1–17.
49. Tyler WJ, Alonso M, Bramham CR, Pozzo-Miller LD. From acquisition to consolidation: on the role of brain-derived neurotrophic factor signaling in hippocampal-dependent learning. *Learn Mem*. 2002; 9:224–237.
50. Ilen SJ, Watson JJ, Dawbarn D. The neurotrophins and their role in Alzheimer's disease. *Curr Neuropharmacol*. 2011; 9:559–573.
51. Patterson SL, Pittenger C, Morozov A, Martin KC, Scanlin H, Drake C, Kandel ER. Some forms of cAMP-mediated long-lasting potentiation are associated with release of BDNF and nuclear translocation of phospho-MAP kinase. *Neuron*. 2001 Oct 11;32(1):123-40.
52. Minichiello L, Korte M, Wolfer D, Kühn R, Unsicker K, Cestari V, Rossi-Arnaud C, Lipp HP, Bonhoeffer T, Klein R. Essential role for TrkB receptors in hippocampus-mediated learning. *Neuron*. 1999 Oct;24(2):401-14.
53. Hellweg R, Jockers-Scherubl M. Neurotrophic factors in memory disorders. *Life Sci* .1994; 55:2165–2169.
54. Gottschalk W, Pozzo-Miller LD, Figurov A, Lu B. Presynaptic modulation of synaptic transmission and plasticity by brain-derived neurotrophic factor in the developing hippocampus. *J Neurosci*. 1998; 18:6830–6839.
55. Lu B, Gottschalk W. Modulation of hippocampal synaptic transmission and plasticity by neurotrophins. *Prog Brain Res*. 2000; 128:231–241.

56. Fu W, Lu C, Mattson MP. Telomerase mediates the cell survival-promoting actions of brain-derived neurotrophic factor and secreted amyloid precursor protein in developing hippocampal neurons. *Journal of Neuroscience*. 2002; 22(24):10710–10719.
57. Rohe M, Synowitz M, Glass R, Paul SM, Nykjaer A, Willnow TE. Brain-derived neurotrophic factor reduces amyloidogenic processing through control of SORLA gene expression. *Journal of Neuroscience*. 2009; 29(49):15472–154782009.
58. Erickson KI, Prakash RS, Voss MW, Chaddock L, Heo S, McLaren M, Pence BD, Martin SA, Vieira VJ, Woods JA, McAuley E, Kramer AF. Brain-derived neurotrophic factor is associated with age-related decline in hippocampal volume. *J Neurosci*. 2010 Apr 14;30(15):5368-75. doi: 10.1523/JNEUROSCI.6251-09.2010.
59. Nakahashi T, Fujimura H, Altar CA, Li J, Kambayashi J, Tandon NN, Sun B. Vascular endothelial cells synthesize and secrete brain-derived neurotrophic factor. *FEBS Letters*. 2000; 470(2):113–117.
60. Karege F, Bondolfi G, Gervasoni N, Schwald M, Aubry JM, Bertschy G. Low brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in serum of depressed patients probably results from lowered platelet BDNF release unrelated to platelet reactivity. *Biological Psychiatry*. 2005; 57(9):1068–1072.
61. Fujimura H, Altar CA, Chen R, Nakamura T, Nakahashi T, Kambayashi J, et al. Brain-derived neurotrophic factor is stored in human platelets and released by agonist stimulation. *Thrombosis and Haemostasis*. 2002; 87(4):728–734.

62. Kunugi H, Ueki A, Otsuka M, Isse K, Hirasawa H, Kato N, Nabika T, Kobayashi S, Nanko S. A novel polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene associated with late-onset Alzheimer's disease. *Molecular Psychiatry*. 2001; 6(1):83–86.
63. Tsai SJ, Hong CJ, Liu HC, Liu TY, Hsu LE, Lin CH. Association analysis of brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphisms with Alzheimer's disease and age of onset. *Neuropsychobiology*. 2004; 49(1): 10–12.
64. Tsai SJ, Hong CJ, Liu HC, Liu TY, Liou YJ. The brain-derived neurotrophic factor gene as a possible susceptibility candidate for Alzheimer's disease in a Chinese population. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*. 2006; 21(3):139–143.
65. Akatsu H, Yamagata HD, Kawamata J, Kamino K, Takeda M, Yamamoto T, Miki T, Tooyama I, Shimohama S, Kosaka K.. Variations in the BDNF gene in autopsy-confirmed Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies in Japan. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*. 2006; 22(3):216–222.
66. Vepsäläinen S, Castren E, Helisalmi S, Iivonen S, Mannermaa A, Lehtovirta M, Hänninen T, Soininen H, Hiltunen M. Genetic analysis of BDNF and TrkB gene polymorphisms in Alzheimer's disease. *Journal of Neurology*. 2005; 252(4): 423–428.
67. Bodner SM, Berrettini W, van Deerlin V, Bennett DA, Wilson RS, Trojanowski JQ, Arnold SE. Genetic variation in the brain derived neurotrophic factor gene in Alzheimer's disease. *American Journal of Medical Genetics. Part B: Neuropsychiatric Genetics*. 2005; 134B(1):1–5.

68. Strakowski SM, Adler CM, Almeida J, Altshuler LL, Blumberg HP, Chang KD, DelBello MP, Frangou S, McIntosh A, Phillips ML, Sussman JE, Townsend JD. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a consensus model. *Bipolar Disord.* 2012; 14(4):313-25.
69. Bloch F. Nuclear induction. *Phys Rev.* 1946; 70(7-8):14.
70. Purcell EM, Torrey HC, Pound RV. Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. *Phys Rev.* 1946; 69:1.
71. Mazzola A. Ressonância magnética: princípios e formação da imagem e aplicações em imagem funcional. *Revista Brasileira de Física Médica.* 2009; 3(1):12.
72. Foster MA. *Magnetic resonance in medicine and biology.* New York: Pergamon Press; 1984.
73. Puddephat M. The principles of magnetic resonance imaging. Disponível em: <http://www.voxelcube.com/articles/1/the-principles-of-magnetic-resonance-imaging>. Acessado em 29 de Mar. 2016.
74. Bushong S. *Magnetic Resonance Imaging: Physical and Biological Principles.* St. Louis, MO: Mosby; 2003.
75. Huettal S, Song A, McCarthy G. *Functional magnetic resonance imaging.* Sunderland MA: Sinauer Associates 2003.
76. Panagyres PK. The contribution of the study of neurodegenerative disorders to the understanding of human memory *Q J Med.* 2004; 97:555–567
77. Frisoni GB, Bocchetta M, Chételat G, Rabinovici GD, de Leon MJ, Kaye J, Reiman EM, Scheltens P, Barkhof F, Black SE, Brooks DJ, Carrillo MC, Fox

- NC, Herholz K, Nordberg A, Jack CR Jr, Jagust WJ, Johnson KA, Rowe CC, Sperling RA, Thies W, Wahlund LO, Weiner MW, Pasqualetti P, Decarli C; ISTAART's NeuroImaging Professional Interest Area.. Imaging markers for Alzheimer disease: which vs how. *Neurology*. 2013; 81: 487–500.
78. Braak H, Braak E, Bohl J. Staging of Alzheimer-related cortical destruction. *Eur Neurol*. 1993; 33:403–8.
79. Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer related changes. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1991; 82:329–59
80. Grundman M, Sencakova D, Jack CR Jr, Petersen RC, Kim HT, Schultz A, Weiner MF, DeCarli C, DeKosky ST, van Dyck C, Thomas RG, Thal LJ; Alzheimer's Disease Cooperative Study.. Brain MRI hippocampal volume and prediction of clinical status in a mild cognitive impairment trial. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2002; 19:23–27.
81. Erickson KI, Prakash RS, Voss MW, Chaddock L, Hu L, Morris KS, White SM, Wójcicki TR, McAuley E, Kramer AF. Aerobic fitness is associated with hippocampal volume in elderly humans. *Hippocampus*. 2009; 19:1030–1039.82.
82. Hill DL, Schwarz AJ, Isaac M, Pani L, Vamvakas S, Hemmings R, Carrillo MC, Yu P, Sun J, Beckett L, Boccardi M, Brewer J, Brumfield M, Cantillon M, Cole PE, Fox N, Frisoni GB, Jack C, Kelleher T, Luo F, Novak G, Maguire P, Meibach R, Patterson P, Bain L, Sampaio C, Raunig D, Soares H, Suhy J, Wang H, Wolz R, Stephenson D. Coalition Against Major Diseases/European Medicines Agency biomarker qualification of hippocampal volume for

enrichment of clinical trials in predementia stages of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2014; 10: 421–29.

83. Lang UE, Jockers-Schreubl MC, Helweg R. State of the art of the neurotrophin hypothesis in psychiatric disorders: implications and limitations. *J Neural Transm.* 2004; 111(3):387-411.
84. Schindowski K, Belarbi K, Bue'e L. Neurotrophic factors in Alzheimer's disease: role of axonal transport. *Genes, Brain and Behavior.* 2008; 7(Suppl. 1): 43–56.
85. Curtis C, Gamez JE, Singh U, Sadowsky CH, Villena T, Sabbagh MN, Beach TG, Duara R, Fleisher AS, Frey KA, Walker Z, Hunjan A, Holmes C, Escovar YM, Vera CX, Agronin ME, Ross J, Bozoki A, Akinola M, Shi J, Vandenberghe R, Ikonovic MD, Sherwin PF, Grachev ID, Farrar G, Smith AP, Buckley CJ, McLain R, Salloway S. Phase 3 trial of flutemetamol labeled with radioactive fluorine 18 imaging and neuritic plaque density. *JAMA Neurol.* 2015; 72: 287–94.

7. ARTIGO

BDNF serum levels and hippocampal volume in Mild Cognitive Impairment and Dementia due to Alzheimer's Disease.

Ericksen Mielle Borba^{a,b}, Juliana Avila Duarte^c, Giovana Bristot^d, Ellen Scotton^d, Ana Luiza Camozzato^a, Márcia Lorena Fagundes Chaves^{a,c}

^a Dementia Clinic, Neurology Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brazil; ^b Postgraduate Program in Medical Sciences, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); Porto Alegre, RS, Brazil; ^c Internal Medicine Department, School of Medicine, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil; ^d Bipolar Disorder Program, Laboratory of Molecular Psychiatry, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brazil; ^e Radiology Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil.

Running Title: BDNF and hippocampal volume in Alzheimer's disease.

Key-Words: BDNF; Alzheimer's disease (AD); mild cognitive impairment (MCI); Dementia; hippocampus

Corresponding author:

Márcia L. F. Chaves
Rua Ramiro Barcelos, 2350 – sala 2040
90035-091 Porto Alegre - RS Brasil
Fone: (55 51) 3359.8520 Fax: (55 51) 3388.5085
Email: mchaves@hcpa.edu.br

Manuscript submitted for publication to the journal Dementia and Geriatric Cognitive Disorders.

Abstract

Background/Aims: Hippocampal atrophy is a recognized biomarker of AD pathology. The role of serum BDNF reduction has been associated with neurodegeneration. We aimed to evaluate BDNF serum levels and hippocampal volume in clinical Alzheimer's disease (dementia and MCI). **Methods:** 10 MCI and 13 dementia due to AD, and 10 healthy participants. BDNF serum levels were determined by ELISA and volumetric measures with NeuroQuant®. **Results:** MCI and dementia presented lower BDNF serum levels than healthy participants; dementia patients presented smaller hippocampal volume than MCI and healthy participants. **Discussion:** The findings support the decrease of BDNF might start before the establishment of neuronal injury expressed by the hippocampal reduction.

Introduction

Alzheimer's disease (AD) is associated with hippocampal atrophy and memory decline [1,2]. Memory impairment is one of the most common symptoms in patients in the early stages of AD; it is characterized by explicit memory deficit, particularly episodic and working memory functions [3]. These deficits are reflective of the involvement of the hippocampal formation [4]. Impaired verbal and episodic memory were correlated with reduced volume of the hippocampal formation and entorhinal cortex, which may be reduced by 25% using volumetric scanning [5]. Atrophy was most marked in the entorhinal cortex, superior temporal gyrus and extended to the anterior cingulate [5].

Recently, there was a conceptual shift towards the proposal that Alzheimer's disease exists before the onset of dementia [6]. Therefore, a clinical phenotype of memory/cognitive impairment without significant functional impairment, called mild cognitive impairment (MCI), was included in the diagnostic criteria of the International Working Group [7] and the National Institute of Aging-Alzheimer's Association (NIA-AA) [6]. The NIA-AA criteria also proposed several biomarkers to support this pre-dementia or prodromal Alzheimer's disease diagnosis. Among these biomarkers, structural neuroimaging with atrophy of the medial temporal region as positive diagnostic information was included. Combinations of distinct biomarkers, including hippocampal volumetry, present good predictive value to differentiate Alzheimer's disease from normal aging in patients with mild cognitive impairment [6].

The Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF), a neurotrophin highly expressed in the hippocampus [8], is a vital component of synaptic plasticity and memory formation [9,10]. BDNF has been related to hippocampal plasticity [9,11] and its action plays a central role in the mechanism of long term potentiation – one of the most accepted models for memory formation – resulting in structural synaptic changes [9,10]. However, despite all the available information, there is no consensus about the serum BDNF profile in neurodegenerative diseases, particularly AD. While some studies have reported lower BDNF serum levels in AD patients in comparison with healthy subjects [12-14], other studies demonstrated higher BDNF serum levels in AD individuals [15] or no difference between AD and controls [16].

Likewise, studies on cerebrospinal fluid (CSF) BDNF levels in AD and other dementias report conflicting results. Forlenza et al. (2015) demonstrated decreased

CSF BDNF concentration associated with progression to AD in amnesic MCI patients [17]. Blasko et al. (2006) did not find significant BDNF difference in AD compared to controls [18], and Laske et al. (2007) showed lower CSF BDNF concentrations among AD patients in comparison to healthy controls and non-AD dementia patients [19]. Furthermore, a study with healthy older adults showed association of lower CSF BDNF levels with poorer memory performance and faster cognitive decline [20].

The effect of the BDNF genetic variability or circulating levels of BDNF on memory and hippocampal volume in healthy older adult and in individuals with MCI or early dementia has also been evaluated showing discrepant results. Among individuals with amnesic MCI and high amyloid-beta accumulation, BDNF Val66Met carriers showed significant and larger decline in episodic memory and hippocampal volume [21]. Significant correlation between lower circulating BDNF and memory deficit was demonstrated in a cohort with mild cognitive impairment participants [14]. BDNF serum levels and hippocampal volume were found to positively correlate in a study with healthy older adults [22], but this relation was not further observed [23]. Additionally, no significant BDNF effect, in terms of genotype or plasma, in both hippocampal volume and memory was found in two large independent middle and old-age cohorts of cognitively normal and early-stage dementia [24]. And finally, aging itself is associated with hippocampal reduced volume, lower levels of serum BDNF, and poorer memory performance [22].

Therefore, the objective of the study was the evaluation of BDNF serum levels, hippocampal volume in individuals with mild cognitive impairment and dementia due to Alzheimer's disease, and healthy elderly participants. The relationship between BDNF serum levels and hippocampal volume was also evaluated in the whole sample.

Methods

Participants

The sample was composed of 10 healthy elderly individuals, 10 MCI, and 13 dementia due to AD. Healthy elderly individuals were community-dwelling residents, functionally independent, who presented Mini Mental State Examination (MMSE) score >26, cognitive performance above the cutoffs for this population, and CDR = 0. The NIA-AA core clinical criteria for mild cognitive impairment due AD were used

to identify MCI group: (1) cognitive concern reflecting a change in cognition reported by patient or informant or clinician (i.e., historical or observed evidence of decline over time); (2) objective evidence of impairment in one or more cognitive domains, typically including memory (i.e., formal or bedside testing to establish level of cognitive function in multiple domains); (3) preservation of independence in functional abilities; (4) not demented. In addition vascular, traumatic, medical causes of cognitive decline and autosomal dominant form of AD were ruled out by clinical history [6]. All dementia patients met NIA-AA for probable dementia due to AD criteria [25]. Patients (MCI and dementia) were selected from the Dementia outpatient clinic from Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

All subjects underwent a clinical history and physical examination, Mini Mental State Examination (MMSE) [26,27], Clinical Dementia Rating [28-30], Katz ADL and IADL functional scales [31] and a multidomain cognitive evaluation. This cognitive battery assessed episodic memory, executive function, attentional control, visuospatial skills and language by the Rey Auditory Verbal Learning Test [28], the figure copying and the CERAD word list test [33] the clock drawing test [34], the Trail Making Test [35], the digit span forward [36], and the letter and category fluency [37]. The available age and educational norms were considered to evaluate the scores of each test.

All participants and/or a proxy gave written informed consent and all procedures were approved by the Hospital de Clínicas de Porto Alegre Research Ethics Committee (# 110275).

BDNF measurement

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

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

biotinylated anti-BDNF antibody at 0.2 ug/mL in PBS was added, which was incubated for 2 hours at room temperature. After washing, the incubation with streptavidin-peroxidase conjugate (diluted 1:1000 in sample diluent) for 1 hour at room temperature was performed. Plates were washed and incubated with the substrate for 20 minutes at room temperature. Finally, the stop solution was added and the amount of BDNF was determined by absorbance at 450 nm. The standard curve demonstrated a direct relationship between optical density and BDNF concentration.

MRI Acquisition

Magnetic resonance imaging (MRI) data were obtained in a Philips Achieva 1.5 Tesla scanner (Amsterdam, the Netherlands). T1 high resolution sagittal 3D MPRAGE (Magnetization Prepared Rapid Acquisition Gradient Echo) were acquired with NEX=1, image matrix=256 x 232, flip angle=8 degrees, echo time=4 ms, repetition time=8.63 ms and voxel size 1 x 1 x 1 mm³ yielding 160 slices. Axial Flair (Fluid-Attenuated Inversion Recovery) were acquired with TR= 11000 ms, TE = 140 ms, TI = 2800 ms, Turbo Factor = 55, EPI factor= 1, NEX= 3, slice thickness of 5 mm and matrix of 186 × 512 provided pixel measurements of 1×0.86 mm given the 220×220-mm field of view. Study time for this version of FLAIR was 2 minutes, 56 seconds.

Volumetric analysis

We obtained volumetric measurements from the high-resolution anatomic images using NeuroQuant® (CorTechs Labs Inc., San Diego, CA, USA), which is a fully automated program that has been validated against other segmentation procedures and found sensitivity to volumetric changes in mild AD [38] and MCI [39]. This program provides volumes for two medial temporal lobe regions (hippocampus and inferior lateral ventricles). NeuroQuant automated analyzes 3D MRI scans offering accurate, consistent and reproducible, measures and segmentations of brain subcortical structures comparing with standardized values according to age, sex and cranial volume. The NeuroQuant computer automated analysis routinely provides volume data on 9 brain regions, left and right sides, for a total of 18 volume measurements (<http://www.cortechs.net/products/neuroquant.php>). For the present study we only used the hippocampal and the forebrain parenchyma volumes. The volume of the hippocampus was analyzed as the sum of the right and left hippocampus (total volume), as well as the forebrain parenchyma (total volume).

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using PASW Statistics 18.0 for Windows (SPSS, Chicago IL, USA). Descriptive statistics (mean, SD and frequency) were calculated for demographic, cognitive and MRI data. Chi-square test with Fisher exact for categorical variables, and Spearman non parametric correlation were also performed. ANCOVA was used for the analyses controlling for age as covariate. Bonferroni test was used for the *post hoc* comparisons.

Results

Demographic and clinical data are presented in Table 1. Dementia patients were significantly older than MCI and healthy subjects. Dementia patients presented lower MMSE and higher CDR-SB scores.

Table 2 shows the comparison of BDNF serum levels, hippocampal and forebrain parenchyma volumes among the 3 groups. Healthy participants showed higher BDNF levels ($p < 0.001$) than dementia and MCI patients. The dementia group presented significantly lower total hippocampal volume than MCI and healthy participants ($p < 0.001$), while the two later groups did not differ between them. No significant difference of total forebrain parenchyma volume (cm^3) among groups was observed. All analyses were age-adjusted.

To strengthen the results, the correlation analysis was carried out in the whole sample, allowing higher variability of each variable, and larger sample size. However, no significant correlation of serum BDNF with hippocampus volume was observed (Spearman $\rho = -0.04$; $p = 0.87$).

Discussion

The present study was carried out to evaluate BDNF serum levels and hippocampal volume in healthy elderly participants and in patients with mild cognitive impairment and dementia due to AD with the NIA-AA criteria [6,25]. We also aimed to analyze the correlation of serum BDNF and hippocampal volume in the whole sample. We have hypothesized a decreasing gradient of BDNF serum levels and hippocampal volume from healthy participants toward MCI and dementia due to AD, based on the following assumptions: a) BDNF plays a central role in long term memory potentiation mechanism [9,10]; b) memory impairment is an early, and

typical, clinical phenotype of Alzheimer disease pathology [6,7]; c) episodic memory impairment and hippocampal volume reduction are associated [1-3,40]; and d) hippocampal volumetry was included in the set of biomarkers proposed to differentiate Alzheimer's disease from normal aging in patients with mild cognitive impairment. We also hypothesized a relation of BDNF levels with hippocampus volume, taking into account the high expression of BDNF in hippocampus [8] and its relation with hippocampal plasticity [9,11]. Our main findings are: 1) healthy participants present significantly higher BDNF serum levels than patients with MCI and dementia due to AD; 2) dementia patients present significantly smaller hippocampal volume than MCI and healthy participants, and 3) BDNF serum levels do not correlate with hippocampal volume. Therefore, our prior hypotheses were partially confirmed.

Healthy participants presented higher BDNF serum levels than MCI and dementia patients. MCI and dementia due to AD presented similar levels. Our findings are similar to the group of studies reporting higher BDNF levels in healthy elderly individuals and reduced levels in MCI and AD patients [12,13,14,24,41]. However, there is no consensus on the pattern of serum BDNF in these conditions, because another set of studies reported higher [15,42] or similar BDNF levels [16,43,44] in patients with AD. Nonetheless, our findings support the reduction of serum BDNF in neurodegenerative disease, such as MCI and dementia due to AD. In the study of Forlenza et al. (2015) reduced CSF BDNF concentrations predicted progression of MCI to AD, suggesting the involvement of BDNF in the pathophysiology of neurodegenerative changes in AD [17].

Analyzing brain volumes, we found higher hippocampal than forebrain reduction among dementia patients, but not among MCI and healthy participants, emphasizing the disproportional atrophy of these regions in mild stages of dementia due to AD (according to the CDR-SB distribution). The specific hippocampal atrophy in AD has been already encompassed by the NIA-AA diagnostic criteria recommendation as a structural biomarker of early AD pathology and a predictor of progression [6,25,45]. Looking particularly to the MCI findings, no significant difference of hippocampal volume was found as compared to healthy participants. This could be explained by the use of the NIA-AA MCI core clinical criteria in the present investigation, a syndrome defined by clinical, cognitive, and functional criteria. The NIA-AA group reported that, similar to dementia due to AD, other

etiologies in addition to AD pathophysiological process may coexist in an individual who meets the criteria for MCI due to AD [6]. Such heterogeneity could have impacted the progression of neuronal injury, measured by the volume of the hippocampus, in our MCI patients. Although MCI clinical criteria are recommended to be applied in clinical settings, they are different from MCI research criteria which include a set of neuroimaging and CSF biomarkers [6]. Among these biomarkers, hippocampal volumetry is one of them. Then, starting with the clinical identification of cases we cannot expect full biomarker positivity in all MCI patients. Actually, levels of certainty according to the presence and nature of the biomarker findings were also proposed for the final set of criteria for mild cognitive impairment due to AD [6]. Finally, although the automated program used as segmentation procedure for the volumetric measures is valid and sensitive [38,39], automated hippocampal segmentation algorithms need to be validated against the manual segmentation gold standard [46].

It is accepted that reduced BDNF serum levels may correspond to lack of neurotrophic support due to increased amyloid-B accumulation contributing for the progressive degeneration of specific brain regions affected by Alzheimer pathology [19]. Taking our results together (lower BDNF levels in MCI and dementia due to AD and smaller hippocampal volume in dementia due to AD) we can hypothesize that the decrease of BDNF may start before the establishment of neuronal injury expressed by the hippocampal reduction.

The BDNF can cross the blood-brain barrier in both directions and BDNF in the blood and in the cerebral cortex showed positive correlation in animal studies [47,48]. The hippocampus is one of the main regions of BDNF expression in the cerebral cortex, supporting the *a priori* hypothesis of the present study. However, our findings refute this hypothesis since no relationship of BDNF serum levels with hippocampal volume was found. Therefore, serum BDNF did not seem a consistent marker for hippocampal atrophy.

In agreement with our result, other investigation showed BDNF serum levels reflecting some aspects of neuronal integrity, although no significant relationship between BDNF serum concentrations and any hippocampal brain metabolites were observed [49]. Furthermore, we did not analyze the effect of the variation of the BDNF gene (Val66Met substitution) on the hippocampus volume as already explored. However, these studies are not conclusive since some showed association [50] or no

relation of this genetic variability or of the BDNF circulating levels with the hippocampus volume in healthy and early dementia subjects [24]. An early effect of the reduction of BDNF on hippocampal volume, i.e. neuronal injury, would be another possibility to explain this finding.

The current study has limitations such as the small sample size and the cross sectional design preventing other data approach as well as the longitudinal assessment of these patients. However, some methodological strengths of the study should be emphasized. The comparison of BDNF levels and hippocampal volume in the 3 groups was age-adjusted, since age alone can affect the hippocampal volume, serum BDNF, and memory performance [22]. In addition, the use of neuropsychological tests as the Rey Auditory Verbal Learning test to measure episodic memory impairment (i.e., the ability to acquire and retain new information), which have age and gender norms for the Brazilian population, provided higher reliability in establishing the clinical AD phenotype.

Finally, this is an exploratory investigation that supports the role of reduced BDNF serum levels (easily measurable) in amnesic phenotypes, as well as the established neuronal injury detected by the hippocampal loss in dementia due to AD. The relation of circulating BDNF with hippocampal volume was not observed, but this issue deserves further investigation with larger samples, longitudinal design and BDNF cerebrospinal measures.

Acknowledgement:

This work was supported by Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE) from Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) and by a doctoral scholarship from Coordenação de Desenvolvimento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brazil.

Conflicts of interest: none

References

1. Barnes J, Bartlett JW, van de Pol LA, Loy CT, Schill RI, Frost C, Fox, N. C: A meta-analysis of hippocampal atrophy rates in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2009;30:1711-23. DOI:10.1016/j.neurobiolaging.2008.01.010
2. Jack CR Jr, Bernstein MA, Fox NC, Thompson P, Alexander G, Harvey D, Borowski B, Britson PJ, L Whitwell J, Ward C, Dale AM, Felmlee JP, Gunter JL, Hill

- DL, Killiany R, Schuff N, Fox-Bosetti S, Lin C, Studholme C, DeCarli CS, Krueger G, Ward HA, Metzger GJ, Scott KT, Mallozzi R, Blezek D, Levy J, Debbins JP, Fleisher AS, Albert M, Green R, Bartzokis G, Glover G, Mugler J, Weiner MW: The Alzheimer's disease neuroimaging initiative (ADNI): MRI methods. *J Magn Reson Imaging* 2008;27:685–691. DOI:10.1002/jmri.21049
3. Panagyres PK: The contribution of the study of neurodegenerative disorders to the understanding of human memory. *Q J Med* 2004;97:555–567. DOI: 10.1093/qjmed/hch096
 4. Fox NC, Warrington EK, Seiffer AL, Agnew SK, Rossor MN: Presymptomatic cognitive deficits in individuals at risk of familial Alzheimer's disease. A longitudinal prospective study. *Brain* 1998;121:1631–1639. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/brain/121.9.1631>
 5. Killiany RJ, Gomez-Isla T, Moss M, Kikinis R, Sandor T, Jolesz F, Tanzi R, Jones K, Hyman BT, Albert MS: Use of structural magnetic resonance imaging to predict who will get Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 2000;47:430–439.
 6. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman HH, Fox NC, Gamst A, Holtzman DM, Jagust WJ, Petersen RC, Snyder PJ, Carrillo MC, Thies B, Phelps CH: The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2011;7:270-9. DOI: 10.1016/j.jalz.2011.03.008
 7. Dubois B, Albert ML: Amnestic MCI or prodromal Alzheimer's disease? *Lancet Neurol*. 2004;3:246-248. DOI: 10.1016/S1474-4422(04)00710-0
 8. Murer MG, Yan Q, Raisman-Vozari R: Brain-derived neurotrophic factor in the control human brain, and in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Prog Neurobiol* 2001;63:71–124. DOI:10.1016/S0301-0082(00)00014-9
 9. Tyler WJ, Alonso M, Bramham CR, Pozzo-Miller LD: From acquisition to consolidation: on the role of brain-derived neurotrophic factor signaling in hippocampal-dependent learning. *Learn Mem* 2002;9:5:224-37. DOI: 10.1101/lm.51202
 10. Ilen SJ, Watson JJ, Dawbarn D: The neurotrophins and their role in Alzheimer's disease. *Curr Neuropharmacol* 2011;9:559–573. DOI: 10.2174/157015911798376190

11. Lu B, Gottschalk W: Modulation of hippocampal synaptic transmission and plasticity by neurotrophins. *Prog Brain Res* 2000;128:231-241. DOI:10.1016/S0079-6123(00)28020-5
12. Forlenza OV, Diniz BS, Teixeira AL, Ojopi EB, Talib LL, Mendonça VA, Izzo G, Gattaz WF: Effect of brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and serum levels on the progression of mild cognitive impairment. *World J Biol Psychiatry* 2010;11:6:774-780. doi: 10.3109/15622971003797241
13. Yasutake C, Kuroda K, Yanagawa T, Okamura T, Yoneda, H: Serum BDNF, TNF-alpha and IL-1beta levels in dementia patients: Comparison between Alzheimer's disease and vascular dementia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2006;256:7:402-6. DOI:10.1007/s00406-006-0652-8
14. Yu H, Zhang Z, Shi Y, Bai F, Xie C, Qian Y, Yuan Y, Deng L: Association study of the decreased serum BDNF concentrations in amnesic mild cognitive impairment and the Val66Met polymorphism in Chinese Han. *J Clin Psychiatry* 2008;69:1104-11.
15. Angelucci F, Spalletta G, di Iulio F, Ciaramella A, Salani F, Colantoni L, Varsi AE, Gianni W, Sancesario G, Caltagirone C, Bossù P: Alzheimers disease (AD) and mild cognitive impairment (MCI) patients are characterized by increased BDNF serum levels. *Current Alzheimer Research* 2010;7:15–20. DOI:10.2174/156720510790274473
16. O'Bryant SE, Hobson V, Hall JR, Waring SC, Chan W, Massman P, Lacritz L, Cullum CM, Diaz-Arrastia R; Texas Alzheimer's Research Consortium: Brain-derived neurotrophic factor levels in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2009;17:337–341. DOI:10.3233/JAD-2009-1051
17. Forlenza OV, Diniz BS, Teixeira AL, Radanovic M, Talib LL, Rocha NP, Gattaz WF: Lower Cerebrospinal Fluid Concentration of Brain-Derived Neurotrophic Factor Predicts Progression from Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's Disease. *Neuromolecular Med.* 2015;326-332. DOI: 10.1007/s12017-015-8361-y
18. Blasko I, Lederer W, Oberbauer H, Walch T, Kemmler G, Hinterhuber H, Marksteiner J, Humpel C: Measurement of thirteen biological markers in CSF of patients with Alzheimer's disease and other dementias. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2006;21:9-15. DOI:10.1159/000089137
19. Laske C, Stransky E, Leyhe T, Eschweiler GW, Maetzler W, Wittorf A, Soekadar S, Richartz E, Koehler N, Bartels M, Buchkremer G, Schott K: BDNF serum and CSF

- concentrations in Alzheimer's disease, normal pressure hydrocephalus and healthy controls. *J Psychiatr Res* 2007;41:387–394. DOI:10.1016/j.jpsychires.2006.01.014
20. Li G, Peskind ER, Millard SP, Chi P, Sokal I, Yu CE, Bekris LM, Raskind MA, Galasko DR, Montine TJ: Cerebrospinal fluid concentration of brain-derived neurotrophic factor and cognitive function in non-demented subjects. *PLoS One*. 2009;4:e5424. DOI: 10.1371/journal.pone.0005424
21. Lim YY, Villemagne VL, Laws SM, Ames D, Pietrzak RH, Ellis KA, Harrington K, Bourgeat P, Bush AI, Martins RN, Masters CL, Rowe CC, Maruff P; AIBL Research Group: Effect of BDNF Val66Met on memory decline and hippocampal atrophy in prodromal Alzheimer's disease: a preliminary study. *PLoS One* 2014;9:e86498. DOI: 10.1371/journal.pone.0086498
22. Erickson KI, Prakash RS, Voss MW, Chaddock L, Heo S, McLaren M, Pence BD, Martin SA, Vieira VJ, Woods JA, McAuley E, Kramer AF: Brain-derived neurotrophic factor is associated with age-related decline in hippocampal volume. *J Neurosci* 2010;30:5368–5375. DOI:10.1523/JNEUROSCI.6251-09.2010
23. Driscoll I, Martin B, An Y, Maudsley S, Ferrucci L, Mattson MP, Resnick SM: Plasma BDNF is associated with age-related white matter atrophy but not with cognitive function in older, non-demented adults. *PLoS One* 2012;7: e35217. DOI:10.1371/journal.pone.0035217
24. Kim A, Fagan AM, Goate AM, Benzinger TL, Morris JC, Head D: Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Lack of an association of BDNF Val66Met polymorphism and plasma BDNF with hippocampal volume and memory. *Cogn Affect Behav Neurosci* 2015;15:625-43. DOI: 10.3758/s13415-015-0343-x
25. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR Jr, Kawas CH, Klunk WE, Koroshetz WJ, Manly JJ, Mayeux R, Mohs RC, Morris JC, Rossor MN, Scheltens P, Carrillo MC, Thies B, Weintraub S, Phelps CH: The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2011;3:263-9. DOI: 10.1016/j.jalz.2011.03.005
26. 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;12:3:189-98. DOI:10.1016/0022-3956(75)90026-6

27. Brucki SMD, Nitrini R, Caramelli P, Bertolucci PHF, Okamoto IH: Suggestions for utilization of the mini-mental state examination in Brazil. *Arq Neuropsiquiatr* 2003;61:777-781. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0004-282X2003000500014>
28. Hughes CP, Berg L, Danziger WL, Coben LA, Martin RL: A new clinical scale for the staging of dementia. *Br J Psychiatry* 1982;140:566-72.
29. Chaves ML, Camozzato AL, Godinho C, Kochhann R, Schuh A, de Almeida VL, Kaye J: Validity of the Clinical Dementia Rating Scale for the detection and staging of dementia in Brazilian patients. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2007;21:210-17.
30. O'Bryant SE, Waring SC, Cullum CM, Hall J, Lacritz L, Massman PJ, Lupo PJ, Reisch JS, Doody R; Texas Alzheimer's Research Consortium: Staging dementia using Clinical Dementia Rating Scale Sum of Boxes scores: a Texas Alzheimer's research consortium study. *Arch Neurol* 2008;65:1091-1095. DOI: 10.1001/archneur.65.8.1091
31. Katz S, Ford AB, Moskowitz RW, Jackson BA, Jaffe MW: The index of ADL: a standardized measure of biological and psychosocial function. *JAMA* 1963;185:914-919. DOI:10.1001/jama.1963.03060120024016
32. Malloy-Diniz LF, Lasmar VAP, Gazinelli L de SR, Fuentes D, Salgado JV: The Rey Auditory-Verbal Learning Test: applicability for the Brazilian elderly population. *Rev Bras Psiquiatr* 2007;29:324-29. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-44462006005000053>
33. Bertolucci PH, Okamoto IH, Brucki SMD, Siviero MO, Neto JT, Ramos L R: Applicability of the CERAD neuropsychological battery to Brazilian elderly. *Arq Neuropsiquiatr*. 2001;59:532–536. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0004-282X2001000400009>
34. Fonseca RP, Salles JF, Parente MAMP: Instrumento de Avaliação Neuropsicológica Breve Neupsilin. Porto Alegre, Brasil: Vetor 2009.
35. Hamdan AC, Hamdan E: Effects of age and education level on the Trail Making Test in A healthy Brazilian sample. *Psychol Neurosci* 2009;2:199–203. DOI: <http://dx.doi.org/10.3922/j.psns.2009.2.012>
36. Nascimento E: Adaptação, validação e normatização do WAIS-III para uma amostra brasileira. In Wechsler, D., WAIS III: manual para administração e avaliação. São Paulo, Casa do Psicólogo 2004.
37. Fonseca RP, Parente MAMP, Côté H, Ska B, Joannette Y: Bateria Montreal de Avaliação da Comunicação – Bateria MAC. São Paulo, Pró-Fono 2008.

38. Brewer JB, Magda S, Airriess C, Smith ME: Fully-automated quantification of regional brain volumes for improved detection of focal atrophy in Alzheimer's disease. *Am J Neuroradiol* 2009;30:578–580. DOI: 10.3174/ajnr.A1402
39. England HB, Gillis MM, Hampstead BM: RBANS memory indices are related to medial temporal lobe volumetrics in healthy older adults and those with mild cognitive impairment. *Arch Clin Neuropsychol* 2014;29:322–328. DOI: 10.1093/arclin/acu012
40. Raz N, Ghisletta P, Rodrigue KM, Kennedy KM, Lindenberger U: Trajectories of brain aging in middle-aged and older adults: Regional and individual differences. *NeuroImage* 2010;51:501–511. DOI:10.1016/j.neuroimage.2010.03.020
41. Lee JG, Shin BS, You YS, Kim JE, Yoon SW, Jeon DW, Baek JH, Park SW, Kim YH: Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in elderly Korean with dementia. *Psychiatry Investig* 2009;6:299–305. DOI: 10.4306/pi.2009.6.4.299
42. Faria MC, Gonçalves GS, Rocha NP, Moraes EN, Bicalho MA, Gualberto Cintra MT, Jardim de Paula J, José Ravic de Miranda LF, Clayton de Souza Ferreira A, Teixeira AL, Gomes KB, Carvalho MD, Sousa LP: Increased plasma levels of BDNF and inflammatory markers in Alzheimer's disease. *J Psychiatr Res* 2014;53:166-72. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2014.01.019
43. O'Bryant, SE, Hobson VL, Hall JR, Barber RC, Zhang S, Johnson L, Diaz-Arrastia R: Serum brain-derived neurotrophic factor levels are specifically associated with memory performance among Alzheimer's disease cases. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2001;31:31–36. DOI:10.1159/000321980
44. Nagahara AH, Merrill DA, Coppola G, Tsukada S, Schroeder BE, Shaked GM, Wang L, Blesch A, Kim A, Conner JM, Rockenstein E, Chao MV, Koo EH, Geschwind D, Masliah E, Chiba AA, Tuszynski MH: Neuroprotective effects of brain-derived neurotrophic factor in rodent and primate models of Alzheimer's disease. *Nat Med* 2009;15,331–337. DOI: 10.1038/nm.1912
45. Jack CR Jr, Shiung MM, Weigand SD, O'Brien PC, Gunter JL, Boeve BF, Knopman DS, Smith GE, Ivnik RJ, Tangalos EG, Petersen RC: Brain atrophy rates predict subsequent clinical conversion in normal elderly and amnesic MCI. *Neurology* 2005;65:1227–1231. DOI: 10.1212/01.wnl.0000180958.22678.91
46. Boccardi M, Bocchetta M, Morency FC, Collins DL, Nishikawa M, Ganzola R, Grothe MJ, Wolf D, Redolfi A, Pievani M, Antelmi L, Fellgiebel A, Matsuda H, Teipel S, Duchesne S, Jack CR Jr, Frisoni GB; EADC-ADNI Working Group on The

Harmonized Protocol for Manual Hippocampal Segmentation and for the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative: Training labels for hippocampal segmentation based on the EADC-ADNI harmonized hippocampal protocol. *Alzheimers Dement*

2015;11:175–183. DOI: 10.1016/j.jalz.2014.12.002

47. Poduslo JF, Curran GL: Permeability at the blood-brain and blood nerve barriers of the neurotrophic factors: NGF, CNTF, NT-3, BDNF. *Brain Res Mol Brain Res* 1996;36:280-286. DOI:10.1016/0169-328X(95)00250-V

48. Pan W, Banks WA, Fasold MB, Bluth J, Kastin AJ: Transport of brain derived neurotrophic factor across the blood-brain barrier. *Neuropharmacology* 1998;37:1553-1561. DOI:10.1016/S0028-3908(98)00141-5

49. Lang UE, Hellweg R, Seifert F, Schubert F, Gallinat J: Correlation between serum brain-derived neurotrophic factor level and an in vivo marker of cortical integrity. *Biol Psychiatry* 2007; 62:530–535. DOI:10.1016/j.biopsych.2007.01.002

50. Bueller JA, Aftab M, Sen S, Gomez-Hassan D, Burmeister M, Zubieta JK: BDNF Val(66)Met allele is associated with reduced hippocampal volume in healthy subjects. *Biol Psychiatry* 2006;59:812– 815. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.09.022>

Table 1. Demographic and clinical data of the studied groups

Variables	Healthy participants (N=10)	MCI (N=10)	Dementia (N=13)	P value
Age*	68.60±4.62 ^a	69.20±7.88 ^a	76.08±6.08 ^b	0.012
Female**	6 (60%)	6 (60%)	10 (76.9%)	0.602
Education*	12.20±6.37	9.60±6.07	6.92±6.17	0.145
CDR-SB*	0.24±1.14 ^a	1.39±1.13 ^a	7.43±1.06 ^b	0.001
MMSE*	28.85±1.14 ^a	24.88±1.12 ^b	16.63±1.05 ^c	0.001

*one-way ANOVA with Bonferroni *post hoc*

** chi-square test with Fisher exact

^{a,b,c} Different letters represent statistical significant difference

Table 2. Age controlled comparison of BDNF serum levels and MRI volumetric data among studied groups (ANCOVA with Bonferroni *post hoc*)

Variables	Healthy Participants (N=10)	MCI (N=10)	Dementia (N=13)	F	p
BDNF	26.25±2.90 ^a	20.57±2.93 ^b	14.59±2.75 ^b	3.72	0.036
Forebrain Parenchyma Volume (cm³)	949.80±27.22 ^a	926.40±26.86 ^a	860.55±25.21 ^a	2.73	0.082
Total Hippocampal volume (cm³)	6.48±0.23 ^a	6.29±0.26 ^a	4.91±0.24 ^b	9.74	0.001

BDNF: brain derived neurotrophic factor, MCI: mild cognitive impairment group.
^{a,b,c} Different letters represent statistical significant difference

8. Considerações Finais

A perspectiva atual de envelhecimento global da população mostra uma taxa preocupante de 44 milhões de pessoas no mundo portadoras de demência, com 1 caso novo diagnosticado a cada 4 segundos. Estima-se que esta taxa possa dobrar nos próximos 20 anos. Estes dados fizeram com que as demências tenham sido consideradas problema de saúde pública (2).

Neste sentido, esta tese de doutorado teve como objetivo avaliar a associação dos níveis de BDNF com medidas de volume de hipocampo obtido através de imagem por ressonância magnética em pacientes com Comprometimento Cognitivo Leve, Doença de Alzheimer e idosos saudáveis.

Em nosso trabalho encontramos diferenças nos volumes de hipocampo dos pacientes com CCL e demência devido à DA ao compararmos aos idosos saudáveis. A utilização do volume de hipocampo já foi proposta para os novos critérios como biomarcador por imagem estrutural de lesão neuronal (26).

Para os níveis séricos de BDNF, encontramos diferença nos idosos saudáveis quando comparados aos pacientes com CCL e demência devido à DA. O BDNF está relacionado com uma série de processos do sistema nervoso central, incluindo plasticidade sináptica, e sobrevivência neuronal (49). Com a diminuição do BDNF, ocorreria uma diminuição no suporte relacionado a estes processos do BDNF, e assim as células neuronais acabariam ficando mais vulneráveis à degeneração.

Analisando nossos dois resultados encontrados, podemos dizer que as alterações nos níveis séricos de BDNF são mais anteriores a alterações de

atrofia hipocampal. Estes resultados refletem a uma maior suscetibilidade do BDNF no hipocampo. A fisiopatologia exata deste processo ainda necessita de investigação, para elucidar quais mecanismos estariam envolvidos até chegar no estágio da neurodegeneração.

As perspectivas futuras incluem cada vez mais o uso de biomarcadores para auxílio no diagnóstico dos pacientes. Para isso, são necessários mais estudos com amostras maiores, maior entendimento dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos. Todo este avanço no conhecimento só terá relevância no momento em que os biomarcadores possam ter comprovada efetividade na prática clínica para que terapêuticas potencialmente modificadoras de doença possam ser propostas e testadas em condições pré-clínicas e prodrômicas.

10. Anexos

f.stalder@karger.com <f.stalder@karger.com> Para:
mchaves@hcpa.edu.br

MS: 201606005

Dear Dr. Chaves,

10 de junho de 2016 06:39

Thank you for submitting your Original Research Article entitled 'BDNF serum levels and hippocampal volume in Mild Cognitive Impairment and Dementia due to Alzheimer's Disease' to "Dementia and Geriatric Cognitive Disorders".

It will now be forwarded to the Editor and we will inform you as soon as possible of the decision reached by the editorial board. The manuscript reference number is 201606005. Please use this number on all correspondence about the manuscript, which should be sent to the "Dementia and Geriatric Cognitive Disorders" editorial office at the address listed below.

For information regarding the status of your manuscript and for future submissions to "Dementia and Geriatric Cognitive Disorders", you can access this system by logging into the journal's online peer review system with your login information:

http://oper1.karger.com/xpresstrack/submissions/author_login.cfm?jid=133

Logon Name: mchaves@hcpa.edu.br Password: If you have forgotten your password it can be reset using the following link: http://oper1.karger.com/xpresstrack/submissions/author_login.cfm?jid=133

With kind regards,

Franziska Stalder Editorial Office 'Dementia and Geriatric Cognitive Disorders' t (+)41 61 306 14 37 f.stalder@karger.com

S. Karger AG, Medical and Scientific Publishers, Allschwilerstrasse 10,
4009 Basel, Switzerland t +41 61 306 1111, f +41 61 306 1234,
www.karger.com

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

CONVITE PARA PARTICIPAR DE UM PROJETO DE PESQUISA

Nome do estudo: Associação dos níveis de BDNF (*brain derived neurotrophic factor*) com volume do hipocampo no Comprometimento Cognitivo Leve e na Doença de Alzheimer

Instituição: Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

Pesquisador responsável: Márcia L. F. Chaves

Equipe de Pesquisadores: Ericksen Borba, Juliano Perez, Analuiza Camozato, Flávio Kapzcinski

Telefones para contato com Ericksen Borba: 93288610 - 32598520 (Serviço de Neurologia - HCPA) – Centro de Pesquisa Clínica 32598943

Nome do participante: _____

1. OBJETIVO DESTE ESTUDO

A finalidade deste estudo é avaliar a relação entre os níveis de uma proteína presente no cérebro (BDNF) e o volume de hipocampo que é uma parte do cérebro que está muito relacionada com a memória (se há redução no tamanho). Esta redução também pode ocorrer apenas pela idade e não ter qualquer significado, mas estamos tentando avaliar se a existência desta relação pode ter um significado diferente em algumas situações especiais, como na doença de Alzheimer.

2. EXPLICAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

O(A) senhor(a) será submetido a um exame de imagem do cérebro – que é a Ressonância Magnética. O exame de Ressonância Magnética é um método de diagnóstico por imagem que não utiliza radiação e permite retratar imagens de alta definição dos órgãos de seu corpo. O equipamento que realiza o exame trabalha com campo magnético. Sua participação é voluntária. O fato de o Sr(a) não querer participar, não prejudicará a assistência médica que recebe no HCPA.

3. POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS

Para realizar a Ressonância Magnética do cérebro é preciso ficar quase 1 hora no local do exame e pelo menos uns 30 minutos deitado dentro da máquina do exame. Em geral as pessoas se queixam deste desconforto. No entanto, não há o perigo de exposição a radiação. No caso de usar um complemento (que é chamado de “contraste”) para melhorar a qualidade do exame, pode haver risco de reação alérgica. Sempre será feita verificação para risco de reação alérgica, e a chance de reação com este tipo de substância é baixa.

4. DIREITO DE DESISTÊNCIA

O(A) senhor(a) pode desistir de participar a qualquer momento.

5. SIGILO

Todas as informações obtidas neste estudo poderão ser publicadas com finalidade científica, preservando-se o completo anonimato dos participantes.

6. CONSENTIMENTO

Declaro ter lido – ou me foi lido – as informações acima antes de assinar este formulário. Foi-me dada ampla oportunidade de fazer perguntas, esclarecendo plenamente minhas dúvidas. Por este instrumento, tomo parte, voluntariamente, do presente estudo.

Porto Alegre, _____ de _____ de 201_.

Assinatura do paciente

Assinatura da testemunha

Assinatura do pesquisador responsável

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

CONVITE PARA PARTICIPAR DE UM PROJETO DE PESQUISA - CONTROLE

Nome do estudo: Associação dos níveis de BDNF (*brain derived neurotrophic factor*) com volume do hipocampo no Comprometimento Cognitivo Leve e na Doença de Alzheimer

Instituição: Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

Pesquisador responsável: Márcia L. F. Chaves

Equipe de Pesquisadores: Ericksen Borba, Juliano Perez, Analuiza Camozato, Flávio Kapzcinski

Telefones para contato com Ericksen Borba: 93288610 - 32598520 (Serviço de Neurologia - HCPA) – Centro de Pesquisa Clínica 32598943

Nome do participante: _____

1. OBJETIVO DESTES ESTUDO

A finalidade deste estudo é avaliar a relação entre os níveis de uma proteína presente no cérebro (BDNF) e o volume de hipocampo que é uma parte do cérebro que está muito relacionada com a memória (se há redução no tamanho). Esta redução também pode ocorrer apenas pela idade e não ter qualquer significado, mas estamos tentando avaliar se a existência desta relação pode ter um significado diferente em algumas situações especiais, como na doença de Alzheimer. A participação do(a) senhor(a) terá a finalidade para fins de controle, onde iremos comparar os resultados obtidos com resultados de pacientes com Comprometimento Cognitivo Leve e com Doença de Alzheimer.

2. EXPLICAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

O(A) senhor(a) será submetido a um exame de imagem do cérebro – que é a Ressonância Magnética. O exame de Ressonância Magnética é um método de diagnóstico por imagem que não utiliza radiação e permite retratar imagens de alta definição dos órgãos de seu corpo. O equipamento que realiza o exame trabalha com campo magnético. Sua participação é voluntária. O fato de o Sr(a) não querer participar, não prejudicará a assistência médica que recebe no HCPA.

3. POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS

Para realizar a Ressonância Magnética do cérebro é preciso ficar quase 1 hora no local do exame e pelo menos uns 30 minutos deitado dentro da máquina do exame. Em geral as pessoas se queixam deste desconforto. No entanto, não há o perigo do radiação. No caso de usar um complemento (que é chamado de “contraste”) para melhorar a qualidade do exame, pode haver risco de reação alérgica. Sempre será feita verificação para risco de reação alérgica, e a chance de reação com este tipo de substância é baixa.

4. DIREITO DE DESISTÊNCIA

O(A) senhor(a) pode desistir de participar a qualquer momento.

5. SIGILO

Todas as informações obtidas neste estudo poderão ser publicadas com finalidade científica, preservando-se o completo anonimato dos participantes.

6. CONSENTIMENTO

Declaro ter lido – ou me foi lido – as informações acima antes de assinar este formulário. Foi-me dada ampla oportunidade de fazer perguntas, esclarecendo plenamente minhas dúvidas. Por este instrumento, tomo parte, voluntariamente, do presente estudo.

Porto Alegre, _____ de _____ de 201__.

Assinatura do paciente

Assinatura da testemunha

Assinatura do pesquisador responsável