



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR  
Ciências Sociais e Humanas

**CARACTERIZAÇÃO DAS ALTERAÇÕES COGNITIVAS AO LONGO  
DO ENVELHECIMENTO EM MULHERES: CORRELAÇÃO COM OS  
NÍVEIS DE ESTRADIOL?**

**Marta Sofia Jacinto Ribeiro**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Bioquímica**  
(2º ciclo de estudos)

Orientador: Prof. Doutora Graça Baltazar

Covilhã, Outubro de 2012



# Agradecimentos

Quero agradecer a todos aqueles que contribuíram e me ajudaram na realização deste trabalho:

À Prof. Doutora Graça Baltazar pela orientação, disponibilidade e paciência reveladas, assim como pelas correções, sugestões e ensinamentos importantes que me transmitiu ao longo deste trabalho.

À ULS de Castelo Branco e à Dra. Mariana Martins, Diretora do Serviço de Patologia Clínica, por autorizarem a realização deste trabalho

Aos meus pais e avó, por me apoiarem, por me estimularem a ser sempre melhor e por estarem sempre comigo. O vosso amor e carinho são uma constante na minha vida, amo-vos e agradeço-vos eternamente por isso.

À minha irmã Joana, pelo seu amor incondicional, pelo apoio e amizade constantes e por me agradecer com os seus vastos conhecimentos de inglês, corrigindo o meu abstract. Um obrigada muito especial maninha!

Ao Pedro, o meu namorado, confidente e melhor amigo, que me apoiou e incentivou incondicionalmente. Por todo o interesse manifestado, pelo amor, carinho e atenção com que me presenteia todos os dias, agradeço do fundo e com todo o meu coração.

Às minhas colegas Carla, Sílvia, Raquel e Selma, por me ajudarem nas colheitas, pela partilha de ideias e de ensinamentos e pelo apoio incondicional demonstrado ao longo da realização deste trabalho.

A todas as voluntárias que tornaram possível a concretização deste estudo, com especial destaque à Clarisse por se ter voluntariado a participar mas principalmente por me ter angariado tantas voluntarias.

A todos os meus sinceros agradecimentos!



# Resumo

O aumento exponencial da esperança média de vida tornou a população dos países industrializados cada vez mais envelhecida, aumentando também a incidência das doenças associadas ao envelhecimento. O declínio cognitivo é uma consequência normal do processo de envelhecimento, no entanto este declínio pode evoluir e tornar-se patológico, dando origem a doenças degenerativas como as demências.

O estradiol é uma hormona sexual com conhecida ação neuroprotetora, que pode retardar ou atenuar os efeitos do declínio da capacidade cognitiva, existindo vários estudos a demonstrar a sua ação benéfica na função cognitiva das mulheres.

Neste estudo pretendeu-se perceber como se caracterizam as alterações cognitivas ao longo do envelhecimento e a partir de que idade se manifestam as alterações nos diferentes parâmetros avaliados, e também verificar se o nível sanguíneo de estradiol se relaciona com o desempenho cognitivo nas mulheres. Para isso foram avaliadas 162 mulheres com o Mini Exame do Estado Mental e foi doseado o seu nível de estradiol sérico.

Com os resultados obtidos verificou-se que o declínio da capacidade cognitiva ocorre principalmente a partir dos 66 anos. Também se verificou neste estudo uma dispersão dos resultados obtidos no Mini Exame do Estado Mental pelos grupos de mulheres com mais de 65 anos, parecendo indicar que existem mulheres que apesar de cronologicamente idosas apresentam um desempenho cognitivo semelhante ao de mulheres mais jovens, enquanto outras mostram alterações evidentes a esse nível.

De acordo com o expectável observou-se uma diminuição significativa dos níveis de estradiol nos grupos acima dos 56 anos, idade correspondente à entrada na menopausa. No entanto não foi possível relacionar o nível sérico de estradiol com o desempenho cognitivo, sendo necessária a realização de novos estudos com um número de amostras mais significativo.

## Palavras-chave

Declínio cognitivo, Mini Exame do Estado Mental, Estradiol, Neuroprotecção.



# Abstract

The exponential increase in the average life expectancy, especially in industrialized countries, resulted in a boost of elderly population which also enhanced all diseases that are related to the aging process. Cognitive decline is an ordinary outcome of the aging process itself. Nevertheless this outcome may actually evolve and become pathological, originating degenerative diseases such as dementia.

Estradiol is a sexual hormone with a well known neuroprotective action which can ease or delay the diminished cognitive abilities. Several studies have demonstrated its beneficial action in the cognitive function in women.

This essay has in its purpose to comprehend how cognitive changes are characterized throughout the aging process. This study also intends to answer the question of what is the age marker from which alterations can be perceived in the several parameters under scrutiny, as well as assess if the estradiol blood level can be related to the cognitive performance in women. In order to obtain such information 162 women were evaluated with the Mini Mental Status Examination and their serum estradiol level was measured.

The results obtained with this dissertation clearly demonstrate that the declination of cognitive ability occurs mainly after 66 years old. It was also verified scattered results in the Mini Mental Status Examination by the group of women over 65 years old, seemingly indicating that there are women that even though are chronological elderly can present a cognitive performance as those of younger women, while others show unambiguous changes at that stage.

According to what was expected a significant reduction in estradiol levels was observed in groups over 56 years old, which has an obvious correlation to the beginning of menopause. However, it was not possible to associate the serum estradiol level with the cognitive performance, stating that further studies are required with a more significant number of samples in order to obtain an answer.

## Keywords

Cognitive decline, Mini Mental State Examination, Estradiol, Neuroprotection.



# Índice

Agradecimentos	iii
Resumo	v
Palavras-chave	v
Abstract	vii
Keywords	vii
Lista de Figuras	xi
Lista de Tabelas	xiii
Lista de Acrónimos	xv
<b>Capítulo 1 - Introdução</b>	<b>1</b>
1.1 - Comprometimento Cognitivo Leve e Demência	2
1.2 - Memória Episódica	3
1.3 - Reserva Cognitiva	3
1.4 - Avaliação das funções cognitivas	5
1.5 - Os Esteróides, os Estrogénios e o Estradiol	6
1.6 - Estrogénios e os seus recetores	7
1.7 - Vias de ação do Estradiol	8
1.8 - Estradiol, neuroprotecção e capacidade cognitiva	8
1.9 - Estradiol e o seu efeito no cérebro	12
1.10 - Estradiol e a Doença de Alzheimer	13
1.11 - Efeito do Estradiol dependente do género	13
<b>Capítulo 2 - Objetivos</b>	<b>15</b>
<b>Capítulo 3 - Materiais e Métodos</b>	<b>16</b>
3.1 - Definição dos grupos de estudo	16
3.2 - Avaliação da capacidade cognitiva	16
3.3 - Colheita de sangue venoso e armazenamento das amostras	16
3.4 - Determinação do valor de Estradiol	16
3.5 - Análise de dados e Estatística	17
<b>Capítulo 4 - Resultados</b>	<b>18</b>
4.1 - Relação entre o resultado final do MMSE e a idade	18
4.2 - Relação entre o grau de escolaridade nos diferentes grupos etários e a nota final do MMSE	19
4.3 - Análise da relação entre os diferentes parâmetros avaliados no MMSE e a idade	22
4.3.1 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Orientação nos diferentes grupos etários	22
4.3.2 - Análise dos resultados obtido no parâmetro Retenção nos diferentes grupos etários	23

4.3.3 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Atenção e Cálculo nos diferentes grupos etários	23
4.3.4 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Evocação nos diferentes grupos etários	24
4.3.5 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Linguagem nos diferentes grupos etários	25
4.3.6 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Habilidade Construtiva nos diferentes grupos etários	26
4.4 - Variação do nível sanguíneo de estradiol ao longo da idade	27
4.5 - Relação entre o resultado dos diferentes parâmetros avaliados no MMSE, a idade e os níveis de Estradiol	28
4.5.1 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Orientação nos diferentes grupos etários: relação com o E2	28
4.5.2 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Atenção e Cálculo nos diferentes grupos etários: relação com o E2	30
4.5.3 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Evocação nos diferentes grupos etários: relação com o E2	31
4.5.4 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Linguagem nos diferentes grupos etários: relação com o E2	33
4.5.5 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Habilidade Construtiva nos diferentes grupos etários: relação com o E2	35
<b>Capítulo 5 - Discussão</b>	<b>37</b>
<b>Capítulo 6 - Conclusão e Perspetivas Futuras</b>	<b>41</b>
<b>Capítulo 7 - Referências Bibliográficas</b>	<b>42</b>
<b>Anexo I</b>	<b>45</b>
<b>Anexo II</b>	<b>46</b>

# Lista de Figuras

<b>Figura 1</b> - Estrutura química do 17 $\beta$ -estradiol	6
<b>Figura 2</b> - Mecanismos envolvidos na neuroprotecção mediada pelo estradiol	9
<b>Figura 3</b> - Comparação do resultado final do MMSE entre os diferentes grupos etários	18
<b>Figura 4</b> - Relação entre o resultado final do MMSE e o grau de escolaridade nos diferentes grupos etários	21
<b>Figura 5</b> - Percentagem de indivíduos por pontuação obtida no parâmetro Orientação do MMSE em cada grupo etário	22
<b>Figura 6</b> - Percentagem de indivíduos por pontuação obtida no parâmetro Retenção do MMSE em cada grupo etário	23
<b>Figura 7</b> - Percentagem de indivíduos por pontuação obtida no parâmetro Atenção e Cálculo do MMSE em cada grupo etário	24
<b>Figura 8</b> - Percentagem de indivíduos por pontuação obtida na secção Evocação do MMSE em cada grupo etário	25
<b>Figura 9</b> - Percentagem de indivíduos por pontuação obtida na secção Linguagem do MMSE em cada grupo etário	26
<b>Figura 10</b> - Percentagem de indivíduos por pontuação obtida na secção Habilidade Construtiva do MMSE em cada grupo etário	26
<b>Figura 11</b> - Relação entre os diferentes grupos etários e os níveis de Estradiol	27
<b>Figura 12</b> - Percentagem de indivíduos por pontuação obtida no parâmetro Orientação do MMSE em cada grupo etário	29
<b>Figura 13</b> - Percentagem de indivíduos por pontuação obtida no parâmetro Atenção e Cálculo do MMSE em cada grupo etário	31
<b>Figura 14</b> - Percentagem de indivíduos por pontuação obtida no parâmetro Evocação do MMSE em cada grupo etário	32
<b>Figura 15</b> - Percentagem de indivíduos por pontuação obtida no parâmetro Linguagem do MMSE em cada grupo etário	34
<b>Figura 16</b> - Percentagem de indivíduos por pontuação obtida no parâmetro Habilidade Construtiva do MMSE em cada grupo etário	35



# Lista de Tabelas

<b>Tabela 1</b> - Valor da mediana e do coeficiente de variação nos vários graus de escolaridade dos diferentes grupos etários	21
<b>Tabela 2</b> - Valor da mediana e do coeficiente de variação do nível de estradiol nos vários grupos etários	28



# Lista de Acrónimos

BDNF	Factor Neurotrófico Derivado do Cérebro (Brain-Derived Neurotrophic Factor)
CCL	Comprometimento Cognitivo Leve
CREB	Proteína de Ligação ao Elemento de Resposta ao AMP Cíclico (Cyclic AMP-Response Element Binding Protein)
cv	Coeficiente de Variação
DA	Doença de Alzheimer
GPER	Recetor de estrogénio acoplado à proteína G (G protein-coupled estrogen receptor)
GPR30	Recetor 30 acoplado à proteína G (G protein-coupled receptor 30)
E2	17 $\beta$ -estradiol
ER $\alpha$	Recetor Alfa do Estrogénio (Estrogen Receptor Alpha)
ERB	Recetor Beta do Estrogénio (Estrogen Receptor Beta)
ERK	Cinase Regulada por sinal Extracelular (Extracellular-Regulated Kinase)
ER-X	Recetor X do Estrogénio (Estrogen Receptor X)
GDNF	Factor Neurotrófico derivado de uma linha de Células da Glia (Glial Cell Line Derived Neurotrophic Factor)
IGF1	Fator de Crescimento semelhante à Insulina 1 (Insuline like Growth Factor 1)
MAPK	Proteína Cinase Ativada por Mitógenos (Mitogen Activated Protein Kinase)
MMSE	Mini Exame do Estado Mental (Mini Mental State Examination)
PI <sub>3</sub> K	Fosfatidil Inositol - 3 - Cinase
SHBG	Globulina de Ligação às Hormonas Sexuais (Sex Hormone Binding Globulin)
WHIMS	Estudo sobre a Memória da Iniciativa Saúde da Mulher (Women's Health Initiative Memory Study)



# Capítulo 1

## Introdução

O envelhecimento da população é um fenómeno mundial importante, que se deve em grande parte à melhoria das condições gerais e a uma evolução e desenvolvimento crescentes da medicina. Nas últimas décadas, a proporção de pessoas com mais de 60 anos tem crescido exponencialmente em praticamente todos os países, tornando obrigatório um conhecimento mais aprofundado relativamente à base molecular do envelhecimento e das doenças associadas (Charchat-Fichman, Caramelli et al., 2005).

O processo de envelhecimento está associado a alterações degenerativas em vários órgãos, levando a transformações tanto a nível físico como cognitivo (Zhang and Ju, 2010). A velocidade e a extensão com que isto ocorre em cada indivíduo vão depender da genética, da presença de outras patologias, do estilo de vida, das condições socioeconómicas e de fatores ambientais (Araujo and Wittert, 2011).

Este interesse crescente na etiologia e na prevenção de doenças degenerativas associadas ao envelhecimento deve-se ao aumento drástico da esperança média de vida em países industrializados provocado por uma diminuição da morte materna e infantil, o acesso a vacinas de controlo de doenças infecciosas, o desenvolvimento de antibióticos e de outros fármacos para o tratamento de doenças crónicas e infecciosas, e o melhoramento do estilo de vida (Sherwin and Henry, 2008).

Os benefícios destes avanços médicos e sociais tornaram possível que nos países industrializados as pessoas vivam com qualidade até aos 80 ou mais anos. No entanto este aumento da esperança média de vida não está acompanhado de uma diminuição das doenças incapacitantes, e por isso cada vez mais pessoas vivem com alguma incapacidade até ao fim da vida, causando sofrimento para o indivíduo e para a família. Das doenças degenerativas mais comuns nos idosos estão aquelas que afetam a capacidade cognitiva (revisto por Sherwin and Henry, 2008).

O comprometimento cognitivo em idosos afeta múltiplos domínios, incluindo a memória e a velocidade de processamento de informação, e é uma preocupação crescente a nível da saúde pública por estar associada com o declínio funcional, a depressão na terceira idade e a diminuição da qualidade de vida (Zimmerman, Lipton et al., 2011). Algumas capacidades cognitivas parecem ser mais vulneráveis aos efeitos do envelhecimento que outras, mas o declínio da memória é uma característica comum que se torna evidente por volta dos 70 anos e que piora rapidamente com o avançar da idade (Carlson, Xue et al. 2009; James, Wilson et

al., 2011). É a partir desta idade que o risco de desenvolver demência aumenta drasticamente (Carlson, Xue et al., 2009).

## 1.1- Comprometimento Cognitivo Leve e Demência

Ao longo do envelhecimento o cérebro sofre alterações pois, ao contrário de outras células do organismo, as células neuronais não se dividem. Estas alterações e manifestações neuropsicológicas só são consideradas patológicas se evoluírem para demência. Desta forma, a incidência e a prevalência da demência aumentam com a idade, não sendo, no entanto, necessariamente uma consequência do envelhecimento. (Azambuja, 2007)

As demências representam um problema de saúde pública crescente, sendo por isso importante a distinção entre envelhecimento normal e patológico por parte dos profissionais de saúde. (Azambuja, 2007) Os défices cognitivos podem ser detetados mais de uma década antes do desenvolvimento da demência, julga-se inclusivamente que ocorrem alterações patológicas nas porções mediais dos lobos temporais muito antes de surgirem as manifestações clínicas (Singh-Manoux, Marmot et al., 2011). É por isso importante, tanto a nível clínico como a nível de saúde pública, a caracterização das alterações cognitivas pré-clínicas que progridem para Comprometimento Cognitivo Leve e para demência, como a doença de Alzheimer (DA) (Carlson, Xue et al., 2009).

O Comprometimento Cognitivo Leve, do inglês *Mild Cognitive Impairment*, refere-se a um declínio cognitivo maior do que o esperado para a idade e escolaridade do indivíduo, mas que não interfere notoriamente com as atividades diárias (Gauthier, Reisberg et al. 2006).

Verifica-se uma grande diversidade de informação nos ensaios sobre o CCL, mas após o estudo de 2003 em Estocolmo (Winblad, Palmer et al., 2004), estabeleceram-se três categorias diagnósticas:

- 1ª- o CCL amnésico com maior probabilidade de desenvolver DA;
- 2ª -o CCL com comprometimento leve de vários domínios cognitivos com maior risco de desenvolver outras demências, sendo a DA uma patologia possível;
- 3ª -o CCL com comprometimento de uma única função cognitiva diferente da memória com um risco elevado de desenvolver demência fronto-temporal e/ou afasia progressiva primária (Winblad, Palmer et al., 2004; Charchat-Fichman, Caramelli et al., 2005).

Alguns estudos comprovaram que idosos com CCL exibem défices relativamente seletivos da memória episódica e apresentam um maior risco de desenvolver algum tipo de demência, como a doença de Alzheimer (Carlson, Xue et al., 2009; Henderson, 2009).

## 1.2 - Memória Episódica

A memória é fundamental para o conhecimento e refere-se à mudança de comportamento resultante de uma experiência anterior ou de uma exposição, originando uma alteração no cérebro (Henderson, 2009).

Existem dois tipos de memória: a declarativa e a não declarativa, sendo apenas a primeira responsável pela consciência e descrição. Uma forma de memória declarativa é a *memória episódica* que se refere ao processo de recordar episódios ou eventos. Quando esses eventos são recordados após um longo período de tempo designa-se por *memória a longo prazo*. Os clínicos usualmente avaliam a memória a longo termo apresentando uma nova informação para ser aprendida e, após alguns minutos, pedindo ao avaliado para se lembrar dessa informação (Henderson, 2009).

Também se pode distinguir entre memória episódica envolvendo informação que pode ser verbalmente fornecida ou recordada (*memória verbal*) e memória episódica para informação que não pode ser facilmente descrita em palavras (*memória visual ou não-verbal*). A memória episódica não pode ser avaliada isoladamente de outros processos cognitivos. Para a memória episódica verbal, por exemplo, um déficit na semântica teria impacto negativo na sua avaliação. A atenção, motivação, velocidade de processamento e a execução também iriam influenciar no desempenho da maioria das tarefas de memória episódica (Henderson, 2009).

Este é o tipo de memória clinicamente mais relevante e é o domínio cognitivo mais comumente avaliado nos estudos clínicos. Durante o envelhecimento normal o declínio no desempenho da memória episódica começa na meia-idade e progride gradualmente a partir daí. Este é o domínio mais afetado na demência relacionada com a DA, principalmente durante as fases iniciais da doença (Henderson, 2009).

## 1.3 - Reserva Cognitiva

Existe uma variabilidade considerável no envelhecimento cognitivo uma vez que alguns indivíduos apresentam um declínio cognitivo mais lento que outros. Esta variabilidade também é evidente na relação inconsistente entre a severidade clínica e anatomopatológica da demência. Autópsias realizadas em idosos com envelhecimento cerebral "normal", onde a capacidade cognitiva do indivíduo permanece intacta, revelaram quase tantos emaranhados neurofibrilares e placas amiloides como as observadas em indivíduos com a DA (Singh-Manoux, Marmot et al., 2011).

Estas descobertas deram origem ao conceito de *reserva cognitiva*, definida como a capacidade que permite um retardamento entre a patologia e a expressão clínica da demência. Esta teoria refere que indivíduos idosos com um passado mais recheado em experiências de vida exibem um melhor desempenho cognitivo e são capazes de tolerar níveis

mais elevados de patologia cerebral antes de apresentarem sintomas clínicos (Daffner, 2010; Singh-Manoux, Marmot et al., 2011). A *reserva cognitiva* inclui ainda a possibilidade de usar a capacidade cerebral mais eficazmente em resposta à execução de tarefas, e também a capacidade de utilizar estratégias cognitivas alternativas em resposta a lesão cerebral ou declínio. Esta característica da capacidade cognitiva acaba por ser parcialmente um reflexo do quociente de inteligência e por isso tem um forte componente genético (Daffner, 2010).

No entanto existem evidências de que a educação, a experiência ocupacional e a participação em atividades intelectualmente estimulantes ajudam a estabelecer esta reserva e atenuam o declínio cognitivo em indivíduos idosos não dementes (Daffner, 2010; Singh-Manoux, Marmot et al., 2011). Estes dados validam a hipótese da *reserva cognitiva ativa* na qual a educação promove um desempenho cognitivo mais eficiente e um uso mais eficaz da neuroplasticidade, resultando num abrandamento do declínio cognitivo derivado do envelhecimento. No entanto existem outros estudos que defendem a hipótese da *reserva cognitiva passiva*, na qual os indivíduos com maior escolaridade têm um desempenho superior ao dos indivíduos da mesma idade com menor grau educacional, mas sofrem declínio cognitivo na mesma proporção (Zahodne, Glymour et al., 2011).

Outros estudos ainda mostraram que o elevado grau de escolaridade acelera o declínio cognitivo em indivíduos com a DA, dando ênfase à hipótese da *compensação* na qual os domínios intactos compensam o declínio de outras capacidades cognitivas até começarem também a deteriorar-se, levando depois a um declínio mais rápido (Zahodne, Glymour et al., 2011).

O processo de envelhecimento está associado a um declínio heterogêneo na capacidade cognitiva seja em indivíduos com capacidade cognitiva normal, em indivíduos com Comprometimento Cognitivo Leve, ou em indivíduos com demência. A identificação dos fatores percursoros da alteração cognitiva é um passo vital no melhoramento da qualidade de vida da crescente população idosa. Apesar das causas biológicas responsáveis pelas diferenças na função cognitiva e no declínio entre os indivíduos serem multifatoriais, as hormonas endógenas podem ter um importante papel no desempenho cognitivo dos idosos (Zimmerman, Lipton et al., 2011).

Assim, pode-se concluir que a promoção de um envelhecimento cognitivo com sucesso depende do aumento da reserva cognitiva e da prevenção da perda da capacidade de processar informação, capacidade esta que reflete a eficiência de um indivíduo em executar um conjunto de tarefas cognitivas, emocionais e funcionais (Daffner, 2010).

## 1.4 - Avaliação das funções cognitivas

A avaliação neuropsicológica das funções cognitivas inclui a avaliação de seis importantes domínios: a memória, a orientação, a linguagem, a capacidade visuo-motora e funções executivas. Assim, para o diagnóstico diferencial entre o envelhecimento normal e o patológico, foram desenvolvidos vários testes (Azambuja, 2007).

Desde a sua publicação em 1975 por Folstein et al. (Folstein, Folstein et al., 1975), o *Mini Mental State Examination* (MMSE) tornou-se um importante instrumento de rastreio de comprometimento cognitivo. Este teste tem sido desde então usado mundialmente e citado em vários estudos. Atualmente está a ser desenvolvido uma nova versão deste teste, o MMSE-II (Mitchell, 2009).

Como instrumento clínico pode ser utilizado na deteção de declínio cognitivo, no seguimento de patologias, na monitorização do tratamento aplicado e em estudos epidemiológicos (Mitchell, 2009; Scazufca, Almeida et al., 2009).

Os testes de avaliação da capacidade cognitiva que existiam antes do MMSE eram muito longos, como o de Withers and Hinton's que incluía 33 perguntas e demorava cerca de 30 minutos para ser efetuado, ou o de WAIS que demorava ainda mais tempo. Assim, o MMSE teve como intuito simplificar e diminuir o tempo de inquérito. É considerado "mini" porque se foca apenas nos aspetos cognitivos das funções mentais e exclui questões sobre o humor ou formas de pensar (Folstein, Folstein et al., 1975).

O MMSE pode ser efetuado por um profissional de saúde ou por um voluntário devidamente instruído para deixar o avaliado confortável, para estabelecer empatia e não pressionar o avaliado nos parâmetros em que ele sinta dificuldade (Folstein, Folstein et al., 1975). Vários ensaios realizados demonstram este teste cognitivo tornou-se no mais utilizado, sendo aplicado aproximadamente por 9 em cada 10 especialistas (Mitchell, 2009).

O MMSE é dividido em duas secções, a primeira que requer resposta verbal e que avalia a orientação no tempo e espaço, a memória e a atenção; a segunda parte avalia a capacidade de nomear, de seguir instruções verbais e escritas, de escrever uma frase espontânea e de copiar um polígono complexo (Folstein, Folstein et al., 1975).

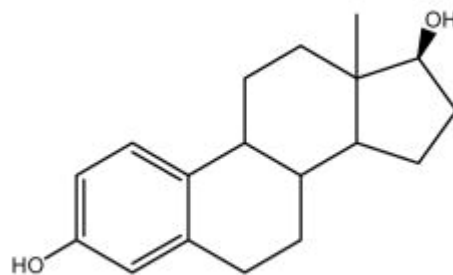
Vários estudos ao longo dos anos têm demonstrado que este teste é influenciado por variáveis não-cognitivas, como a idade, a educação e o sexo (Rosselli, Tappen et al., 2006; Scazufca, Almeida et al., 2009). Foi recomendada a introdução de diferentes valores de avaliação tendo em conta o grau educacional do avaliado, de modo a ser mais objetivo na determinação de comprometimento cognitivo, mas os resultados desta abordagem ainda são incertos. Folstein et al. recomendaram um valor mínimo de avaliação de 23 pontos para indivíduos com pelo

menos 8 anos de escolaridade (Folstein, Folstein et al., 1975). No entanto, já foram calculados inúmeros valores limite tendo em conta populações específicas e com ajustamentos para a idade e a educação (Mitchell, 2009).

## 1.5 - Os Esteróides, os Estrogénios e o Estradiol

As hormonas esteróides partilham uma base molecular semelhante, com três anéis de hexano e um ciclopentano. Os esteróides sexuais incluem os estrogénios, os androgénios e os progestogénios, e todos têm um grande efeito na fisiologia reprodutiva. Apesar dos estrogénios, como o 17 $\beta$ -estradiol, e os progestogénios, como a progesterona, serem classificados como hormonas sexuais femininas e os androgénios, como a testosterona, serem classificados como hormonas sexuais masculinas, esta caracterização é enganadora. Os estrogénios, por exemplo, são produzidos noutros tecidos que não só os ovários e também são encontrados nos homens (Henderson, 2009).

Os estrogénios são produzidos primariamente pelos folículos ovarianos em desenvolvimento, assim como pelo corpo lúteo e pela placenta. Alguns estrogénios também são produzidos em pequenas quantidades por outros órgãos, como o fígado e as glândulas adrenais. Esta fonte secundária de estrogénio é importante na produção de estradiol endógeno na mulher pós-menopáusia (Janicki and Schupf, 2010). A produção de estradiol endógeno também pode ocorrer no hipocampo e noutras partes do cérebro, onde provavelmente atua como mediador local da transmissão ou plasticidade sináptica (Henderson, 2009).



**17- $\beta$ -Estradiol (2)**

Figura 1: Estrutura química do 17 $\beta$ -estradiol.

O estradiol interage com diferentes recetores para exercer a sua função, tais como os recetores de estrogénio  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) e os recetores de estrogénio  $\beta$  (ER $\beta$ ). Ambos os recetores são

altamente expressos no cérebro embora os ER $\alpha$  estejam presentes em maior concentração no hipotálamo e os ER $\beta$  no córtex cerebral (Janicki and Schupf, 2010).

A estrona, cuja afinidade para os recetores  $\alpha$  e  $\beta$  é menor que a do estradiol, é derivada do estradiol e do precursor androgénico androstenediona, e circula em menor quantidade durante os anos reprodutores da mulher. Após a menopausa o nível total de estrogénio diminui drasticamente, mas as concentrações de estrona são relativamente maiores que as concentrações de estradiol (Henderson, 2009).

## 1.6 - Estrogénios e os seus recetores

Os estrogénios são moléculas lipofílicas que atravessam facilmente a barreira hematoencefálica. Uma vez no cérebro eles vão modular a função neuronal e das células da glia pela ação de recetores (revisto por De Nicola, Pietranera et al., 2009).

Foram identificados dois tipos de recetores de estrogénio, o ER- $\alpha$  e o ER- $\beta$ , e existem no hipotálamo, na glândula pituitária, no hipocampo e nos neurónios colinérgicos do prósencefalo (revisto por Sherwin, 2005).

Dentro do núcleo, dímeros de recetores de estrogénio funcionam como fatores de transcrição ligando-se a elementos dependentes do estrogénio no genoma para controlar a expressão génica. Os efeitos rápidos do estradiol, como alterações nos canais iónicos, sinalização de cinases e libertação de neurotransmissores, são mediados por outros recetores localizados nas membranas celulares e não envolvem a ativação genómica direta (revisto por De Nicola, Pietranera et al., 2009; Henderson, 2009).

Em estudo efetuados em ratos para os recetores de estrogénio  $\alpha$  e  $\beta$  (ER $\alpha^{-/-}$ /ER $\beta^{-/-}$ ) verificaram que os efeitos dos estrogénios não eram eliminados e que a transmissão sináptica mediada pelo estradiol continuava a ocorrer, sugerindo a existência de outras proteínas recetoras de estrogénio não codificadas pelos genes do ER $\alpha$  ou ER $\beta$ . Foi descoberta a proteína ER-X, um novo recetor de estrogénio membranar observado no córtex cerebral, no útero e nos pulmões (Micevych and Dominguez, 2009). A expressão deste recetor atinge a concentração máxima 7 a 10 dias após o nascimento e diminui gradualmente ao longo de mês seguinte. Nos adultos a sua expressão é praticamente indetectável mas aumenta em casos de lesão isquémica ou em modelos animais de DA (Micevych and Dominguez, 2009).

Nos últimos anos foi também descoberto um outro recetor de estrogénio, o GPR30 (recetor 30 acoplado à proteína G), uma proteína integral de membrana com sete domínios transmembranares detectada no coração, pulmões, fígado, intestino, ovários, próstata, rins e cérebro (Micevych and Dominguez, 2009; Rago, Romeo et al., 2011). Esta proteína tem a capacidade de mediar eventos da transdução de sinal pelo estrogénio, tais como a

mobilização de cálcio, a ativação das cinases e a ativação de genes precoces (Rago, Romeo et al., 2011). Desde o seu reconhecimento como um recetor de estrogénio, a União Internacional de Farmacologia Básica e Clínica renomeou esta proteína com um novo acrónimo: GPER, recetor de estrogénio acoplado à proteína G (Meyer, Prossnitz et al., 2011; Rago, Romeo et al., 2011).

## 1.7 - Vias de ação do Estradiol

A nível molecular, a neuroprotecção do estradiol é multifacetada. Em diferentes situações experimentais verificou-se que os estrogénios previnem a morte celular, aumentam a sobrevivência neuronal, regulam a sinaptogénese e a neurotransmissão e inibem a neuroinflamação (revisto por De Nicola, Pietranera et al., 2009).

Os efeitos cerebrais do estradiol são mediados em parte pela interação com fatores de crescimento como a IGF-1 (Fator de Crescimento semelhante à Insulina 1) e BDNF (Factor Neurotrófico Derivado do Cérebro). Tal como os fatores de crescimento, o estradiol ativa a MAPK (Proteína Cinase Ativada por Mitógenos), a ERK (Cinase Regula por sinal Extracelular), a PI<sub>3</sub>K (fosfatidilinositol-3-cinase) e aumenta a fosforilação da CREB (Proteína de Ligação ao Elemento de Resposta AMP Cíclico) (revisto por De Nicola, Pietranera et al., 2009).

A proteção promovida pelo estradiol em modelos da lesão isquémica cerebral envolve a regulação da expressão do gene *bcl-2*. Um efeito específico para a *bcl-2* e que não afeta outros elementos da família *bcl-2* como *bax*, *bcl-x<sub>L</sub>*, *bcl-x<sub>S</sub>*, *bad* e *bim*, que não foram afetados pelo tratamento com estradiol (revisto por Wise, Dubal et al., 2005).

É interessante constatar que o estradiol influencia o gene *bcl-2* só do lado do enfarte, enquanto regula a expressão do *c-fos* dos dois lados do cérebro o que pode significar que mesmo o lado que não foi lesado pode estar envolvido em aspectos de protecção e reparação (revisto por Wise, Dubal et al., 2005).

Para além destas vias de ação, nos neurónios do hipocampo em cultura, o estradiol protege contra a toxicidade do glutamato, a privação de glucose, a toxicidade de FeSO<sub>4</sub> e a toxicidade do péptido β-amilóide, tem propriedades antioxidantes e promove o metabolismo não-amiloidogénico da proteína precursora amiloide. Nenhum destes efeitos é exclusivo e é provável que muitos estejam relacionados (revisto por De Nicola, Pietranera et al., 2009; Janicki and Schupf, 2010).

## 1.8 - Estradiol, neuroprotecção e capacidade cognitiva

O interesse sobre os mecanismos de modulação da memória pelo estradiol tem aumentado substancialmente nos últimos anos devido às evidências que indicam que a terapia de reposição hormonal é capaz de atrasar a progressão da DA e reduzir o declínio da memória

observados durante o envelhecimento normal e a menopausa. Alguns estudos indicam que o estradiol influencia a fisiologia e a anatomia do hipocampo, levando à hipótese de que pode influenciar a memória dependente do hipocampo (Foster, Sharrow et al., 2003).

O estradiol regula eventos reprodutivos e neuroendócrinos e, para além disso, apresenta efeitos benéficos na neuroprotecção, mielinização, comportamento, humor, aprendizagem e memória. As evidências que relacionam melhor os efeitos do estradiol com a capacidade cognitiva nas mulheres incluem a sua capacidade em aumentar a densidade dendrítica nos neurónios piramidais CA1 no hipocampo, a capacidade de aumentar a concentração da colina acetiltransferase que é a enzima sintética para a acetilcolina, e os seus inúmeros efeitos neurotróficos (revisto por Sherwin, 2005).

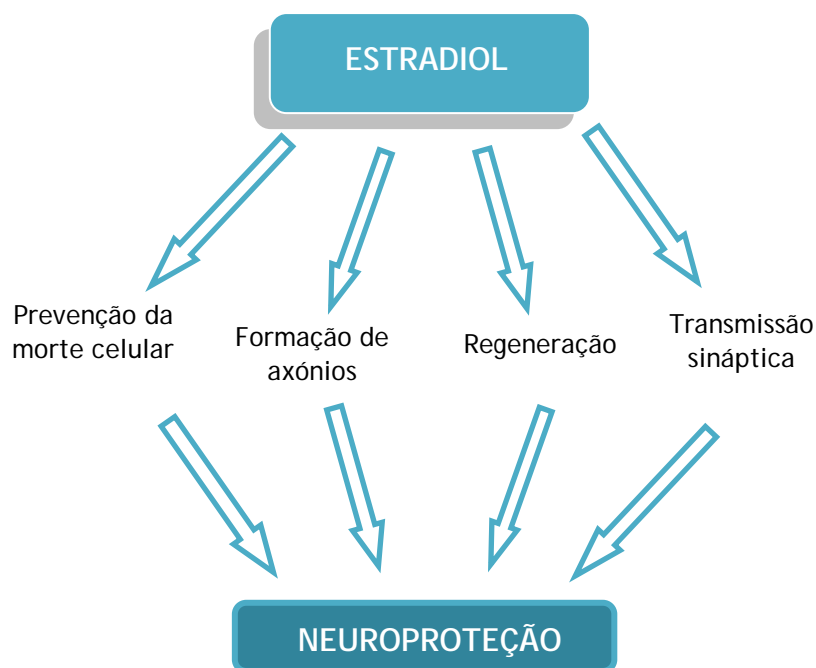


Figura 2: Mecanismos envolvidos na neuroprotecção mediada pelo estradiol.

Existem várias provas relativamente ao papel do estradiol na memória e na capacidade cognitiva que provêm de estudos sobre as diferenças do género na função cognitiva, as flutuações do ciclo menstrual na performance cognitiva, estudos aleatórios controlados e observacionais sobre o efeito da eliminação de estradiol e a terapia de reposição em mulheres pós-menopáusicas (Smith, McCleary et al., 1999).

Apesar de não existirem diferenças qualitativas nas capacidades cognitivas entre os homens e as mulheres, quantitativamente a mulher tende a superar em tarefas verbais e de memória, em velocidade de perceção e precisão e em tarefas motoras delicadas. Adicionalmente, uma memória verbal melhorada foi observada em períodos de nível mais elevados de estrogénio no ciclo menstrual (revisto por Brann, Dhandapani et al., 2007).

Testes controlo aleatórios, apesar de não serem totalmente consistentes, demonstraram que a performance em 47% das avaliações da memória foi melhor em mulheres pós-menopáusicas que receberam tratamento de reposição hormonal. Da mesma forma, estudos longitudinais e observacionais também demonstraram que as mulheres sujeitas a terapia com estrogénio tiveram melhor desempenho nos testes cognitivos. Considerando a totalidade dos ensaios, 71% dos estudos que avaliaram a ação do estrogénio na função cognitiva verificaram efeitos benéficos significativos em um ou mais testes neurofisiológicos da capacidade cognitiva (revisto por Brann, Dhandapani et al., 2007).

No entanto, existem estudos, como o Women's Health Initiative Memory Study (WHIMS), que obtiveram dados diferentes e inconsistentes com capacidade benéfica do estradiol na função cognitiva e que culminaram no fim do estudo e na recomendação do uso de terapia de reposição com estrogénios para prevenir a demência ou o declínio cognitivo apenas em mulheres com menos de 65 anos (Gillies and McArthur, 2010; Rosario, Chang et al., 2011).

Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos em modelos animais com ratos e primatas, em que verificaram que o início do tratamento de reposição de estradiol na altura da menopausa ou logo após a remoção dos ovários permitia a preservação da memória nas fêmeas, enquanto que a administração de estradiol algum tempo após a remoção dos ovários tinha pouco ou até mesmo nenhum benefício na capacidade cognitiva (revisto por Sherwin, 2005).

Isto pode ser explicado com a hipótese de que a eliminação abrupta de estradiol endógeno na menopausa possa causar um efeito mais profundo nos neurónios, que pode ser prevenido com a terapia de reposição hormonal quando os ovários deixam de funcionar. Também é possível que os neurónios deixem de ser tão sensíveis ao estradiol após um longo período sem estarem expostos à hormona, ou então, que neurónios velhos são menos reativos à hormona, existindo assim um período crítico nos anos seguintes à menopausa para o efeito neuroprotector do estrogénio (revisto por Sherwin, 2005; revisto por Brann, Dhandapani et al., 2007).

Na realidade há estudos que mostram que ratos adultos jovens respondem ao estrogénio aumentando a expressão do fator BDNF, o qual é de extrema importância para a manutenção da neuroplasticidade em cérebros envelhecidos. No entanto, o estrogénio aplicado em ratos senescentes diminuiu a expressão de BDNF no bulbo olfativo sugerindo que existe um declínio geral na capacidade de resposta dos recetores neurotróficos e dos ligandos às hormonas em animais velhos e reprodutivamente senescentes quando comparados a animais novos. Se isto também ocorrer nos humanos poderia explicar o motivo pelo qual mulheres de 72 anos que começam a fazer terapia de reposição hormonal no estudo WHIMS não ficaram protegidas contra o declínio cognitivo ou a DA (revisto por Sherwin, 2005).

Também parece que o tratamento com estradiol tem um efeito mais protetor da memória quando é iniciado logo após a cirurgia de mulheres que eram pré-menopáusicas antes de fazer a remoção dos ovários. Estas mulheres são prematuramente e abruptamente privadas da produção endógena de estradiol comparando com mulheres que passam pela menopausa naturalmente numa idade média de 52 anos (revisto por Sherwin, 2005).

Resta saber se a privação de estradiol durante muito tempo nas mulheres que passam pela menopausa precoce tem consequências na função cerebral. Já se sabe que as mulheres que entram na menopausa precoce devido a uma cirurgia têm uma maior probabilidade de desenvolver doença cardíaca, têm função endotelial comprometida, aterosclerose subclínica, pressão arterial elevada e baixa densidade óssea quando comparadas com mulheres que entraram na menopausa naturalmente. Embora não haja evidência direta de que haja algum comprometimento neuronal quando ambos os ovários são removidos nas mulheres antes da menopausa natural, a informação de que outros órgãos passam por um envelhecimento acelerado aquando da privação de estrogénios, permite colocar a hipótese que isto também ocorra no cérebro (revisto por Sherwin, 2005).

Em suma, se os neurónios estão saudáveis na altura do tratamento com estradiol, e se não foram privados do efeito dos estrogénios durante um longo período de tempo, o tratamento de reposição hormonal tem efeitos benéficos na função neurológica e na sobrevivência dos neurónios. No entanto uma terapia em mulheres sem doença neurológica vários anos após de entrar na menopausa não demonstrou qualquer efeito benéfico, e se o tratamento for prologando por mais de 5 anos o risco de desenvolver demência aumenta consideravelmente, exacerbando o processo de lesão neurológica (Gillies and McArthur, 2010; Rosario, Chang et al., 2011).

Na avaliação do impacto do estradiol endógeno é também importante determinar o nível de hormona bio-disponível, que pode ser diferente do nível total de estradiol. Cerca de 37% do estradiol em mulheres idosas circula ligado à globulina de ligação às hormonas sexuais (SHBG, *Sex Hormone Binding Globulin*) e só a fração não ligada é que atravessa a barreira hematoencefálica (Yaffe, Lui et al., 2000).

Vários estudos observacionais descobriram uma associação entre a SHBG e o declínio cognitivo ou a DA, pois verificaram que mulheres com elevados níveis de estradiol livre tinham uma probabilidade menor de apresentar comprometimento cognitivo seis anos depois do que as mulheres com níveis mais baixos. Este estudo sugere que níveis baixos de estradiol bio-disponível associado com elevada SHBG após a menopausa podem acelerar o desenvolvimento de DA. No entanto, mais uma vez, os dados de vários estudos efetuados são contraditórios pois o *Rancho Bernardo Study* (Laughlin, Kritz-Silverstein et al., 2010) e o *Rotterdam Study* (Janicki and Schupf, 2010) não obtiveram uma associação entre o estradiol livre e a

capacidade cognitiva ou então demonstraram que as mulheres com níveis mais elevados de estradiol bio-disponível tiveram resultados mais fracos na memória a longo prazo. Estas inconsistências podem ser devidas aos vários procedimentos na determinação do valor de estradiol ou pode ser devido à dificuldade em medir o estradiol sérico em mulheres idosas que já se encontram na menopausa há vários anos (Janicki and Schupf, 2010).

Em conjunto os resultados mostram que o estrogénio nem sempre é benéfico e que em certas circunstâncias o 17 $\beta$ -estradiol ou não tem efeito protetor ou inclusive prejudica o cérebro. É possível que quando o grau da lesão cerebral é muito elevado, a ação do estradiol não consiga superar o dano e não seja suficiente para evitar a morte celular. Noutros casos o estradiol pode ser prejudicial para a função neural. Em modelos animais com epilepsia, o estradiol diminuiu o intervalo dos ataques mas facilitou a indução e duração dos disparos dos neurónios excitatórios (revisto por Wise, Dubal et al., 2005).

## **1.9 - Estradiol e o seu efeito no cérebro**

No cérebro adulto, o estradiol mostra efeitos de ativação que envolvem a estrutura, a função e a bioquímica de regiões específicas do cérebro, incluindo o hipocampo. Esta área do cérebro torna-se extremamente vulnerável com o envelhecimento. Estudos experimentais mostraram que o envelhecimento do hipocampo é caracterizado por défice na aprendizagem, memória e neurogénese, alterações da neurotransmissão (principalmente colinérgica), dos canais iónicos e da actividade elétrica, expressão alterada de neuropéptidos, dos fatores de crescimento e dos seus recetores, alterações na expressão de genes, de fatores de transcrição e recetores esteróides, vasculopatia aumentada, stress oxidativo aumentado, perda e atrofia neuronal, desmielinização dos astrócitos e aumento da produção de mediadores inflamatórios. Estudos de Ressonância Magnética feitos com idosos revelaram uma redução do volume do hipocampo que se torna mais notável em doentes com DA (revisto por De Nicola, Pietranera et al., 2009).

Por tudo isto, o estradiol é um importante fator de neuroprotecção e de mielinização quando a degeneração, a isquémia ou o envelhecimento danificam o Sistema Nervoso Central (SNC). De acordo com a hipótese de Behl (Behl, 2002) o estradiol pode promover a neuroprotecção na doença de Alzheimer e na doença de Parkinson, na esquizofrenia, depressão, acidente vascular cerebral, isquémia cerebral e nas alterações da memória e conhecimento (revisto por De Nicola, Pietranera et al., 2009).

Como o estradiol aumenta o fluxo sanguíneo cerebral, vários investigadores examinaram o fluxo sanguíneo em partes do cérebro durante a realização de provas de memória. Num estudo efetuado com mulheres em idade reprodutiva foi encontrada uma correlação positiva entre os níveis séricos de estradiol e o grau de ativação na porção inferior esquerda do giro frontal durante a codificação positiva de informação verbal. Noutro estudo comparativo entre

mulheres pós-menopáusicas que faziam terapia de reposição hormonal e mulheres que não faziam, verificou-se que durante a avaliação da memória verbal existiam interações significativas baseadas no uso de estradiol em várias partes do cérebro, incluindo a porção direita do giro para-hipocampal, o precuneus direito do lóbulo parietal, a região frontal direita e o lado esquerdo do hipotálamo. Durante a avaliação da memória visual foram observadas interações significativas nas regiões para-hipocampal direita e parietal inferior e nas regiões de associação visual esquerda e do tálamo anterior (Henderson, 2009).

## **1.10 - Estradiol e a Doença de Alzheimer**

A Doença de Alzheimer é uma patologia multifactorial que afeta principalmente as mulheres. Uma justificação sugerida para este facto é o das mulheres terem uma esperança média de vida superior aos homens mas é evidente que o género também tem importância no desenvolvimento da DA. A perda dramática de estrogénios na menopausa é conhecida como um fator de risco nas mulheres no desenvolvimento de DA. Apesar de não haver consenso na diferença de níveis de estradiol no sangue periférico de mulheres controlo e mulheres com DA, a nível cerebral o nível de estrogénios está abaixo do normal em mulheres com DA (Gillies and McArthur, 2010; Rosario, Chang et al., 2011).

## **1.11 - Efeito do Estradiol dependente do Género**

Em contraste com os dados extensivos de ensaios em mulheres, há menos estudos realizados em homens, provavelmente devido à perda de esteróides sexuais endógenos no envelhecimento do homem não ser tão severa como na mulher. Nos homens a testosterona é convertida em estradiol pela enzima aromatase que esta localizada periféricamente e em todo o cérebro masculino. Apesar de existirem estudos que sugerem que a conversão de testosterona em estradiol ocorre em baixa quantidade, é a fonte primária de estradiol plasmático no homem. Como a secreção testicular de testosterona nunca cessa completamente, os níveis séricos de estradiol em homens idosos são superiores aos das mulheres pós-menopáusicas (Janicki and Schupf, 2010).

O declínio de testosterona no homem também está associado com o risco de declínio cognitivo e DA, sendo sugerido que o aumento do nível circulatório de estradiol e não a diminuição da testosterona constitui o fator de risco. Assim coloca-se a hipótese de que os estrogénios podem não ter um efeito protetor universal (Gillies and McArthur, 2010).

Os estrogénios aparentam ser importantes em alguns aspetos da memória em homens idosos, mas não na memória espacial que é potenciada pela ação dos androgénios. No entanto, o tratamento com estradiol em homens idosos com terapia de bloqueio de androgénios para o cancro da próstata não melhorou a memória nem a curto nem a longo prazo (Gillies and McArthur, 2010).

Estudos efetuados sobre a relação entre os níveis de estradiol endógeno e de testosterona e a capacidade cognitiva são contraditórios. Um número limitado de estudos demonstrou que homens idosos com níveis elevados de estradiol no sangue tiveram uma melhor performance ou tiveram um declínio mais lento nos testes de memória verbal, memória visual, manipulação da memória e funcionamento cognitivo global. Outros estudos não conseguiram demonstrar uma relação positiva entre os níveis de estradiol e a memória verbal nos homens, ou mostraram que níveis elevados de estradiol aumentavam o risco de desenvolver DA. Estas discrepâncias de resultados podem dever-se ao facto de os níveis de estradiol nos homens serem baixos e diminuírem com o avançar da idade, podendo limitar a sensibilidade na avaliação do efeito de pequenas alterações na capacidade cognitiva. No entanto, devido à aromatização, se o homem fizer tratamento com suplementação de testosterona tanto o nível de estradiol como o de testosterona aumentam significativamente (Janicki and Schupf, 2010).

Deve-se ter em conta que os níveis circulatórios das hormonas não serão os únicos fatores influentes no declínio cognitivo uma vez que nas mulheres, níveis baixos de estradiol no cérebro estão associados com a DA. Mas, nos homens são os níveis baixos de androgénios, e não de estrogénios, que estão associados à DA, sugerindo que o perfil das hormonas sexuais cerebrais na DA é dependente do género. Juntando isto ao conhecimento de que os estrogénios nas mulheres e os androgénios nos homens estão usualmente relacionados positivamente com a capacidade cognitiva, surge a hipótese de que a contribuição hormonal no desenvolvimento da DA pode ser específica do género (Gillies and McArthur, 2010).

Apesar de estar bem estabelecida a capacidade da testosterona em melhorar a memória espacial no homem e do estradiol melhorar a memória verbal na mulher, ainda não se sabe se isto se deve às diferenças nos níveis destas hormonas em homens e mulheres ou se há uma base molecular para estas diferenças (Gillies and McArthur, 2010). Uma teoria explicativa para estas diferenças dos efeitos das hormonas sexuais na capacidade cognitiva é a de que o feto estaria exposto a diferentes níveis dessas hormonas durante a vida fetal e esta exposição alteraria permanentemente a estrutura e/ ou a função de zonas específicas do cérebro. Após a puberdade estas alterações poderiam manifestar-se devido à influência de níveis sanguíneos elevados dessa hormona (revisto por Sherwin and Henry, 2008).

Assim, perceber a contribuição das hormonas sexuais para as diferenças cognitivas entre géneros e perceber o porquê da patologias como a doença de Alzheimer e outras demências diferirem entre homens e mulheres, poderá permitir desenvolver novas abordagens terapêuticas e/ ou estratégias de prevenção específicas para cada género (revisto por De Nicola, Pietranera et al., 2009; Gillies and McArthur, 2010).

## Capítulo 2

### Objetivos

Tendo em conta que a população mundial está cada vez mais envelhecida e que o declínio da capacidade cognitiva é uma consequência natural do processo de envelhecimento que pode posteriormente evoluir para CCL ou demência, é importante avaliar estas alterações na nossa sociedade.

Assim, o trabalho apresentado nesta dissertação, que teve como população alvo mulheres com mais de 18 anos utentes do serviço de Patologia Clínica da ULS de Castelo Branco, teve como objetivos específicos:

- Caracterizar défice cognitivo ao longo do envelhecimento;
- Verificar se o nível sanguíneo de estradiol se correlaciona com o desempenho cognitivo nas mulheres.

# Capítulo 3

## Materiais e Métodos

### 3.1 - Definição dos grupos de estudo

Foram estudadas 162 mulheres não grávidas, sem fazerem terapia de reposição hormonal e sem patologia oncológica ou neurológica diagnosticada.

Dividiram-se as mulheres por seis grupos consoante a idade: o primeiro grupo foi formado por 28 mulheres com idades compreendidas entre os 18 e os 35 anos; o segundo grupo engloba 19 mulheres dos 36 aos 45 anos; o terceiro grupo corresponde a 28 mulheres dos 46 aos 55 anos; o quarto grupo foi formado por 33 mulheres com idades entre os 56 e os 65 anos; o quinto grupo foi constituído por 38 mulheres dos 66 aos 79 anos e o sexto grupo apresentou 16 mulheres com idades superiores aos 80 anos.

Todas as mulheres foram devidamente informadas sobre estudo e consentiram a realização do Mini Mental State Examination e a colheita de sangue periférico (Anexo I e II).

### 3.2 - Avaliação da capacidade cognitiva

A cada elemento em estudo foi realizado um Mini Mental State Examination (MMSE, Mini exame do estado mental) onde é avaliada a orientação, a retenção, a atenção e cálculo, a evocação, a linguagem e a habilidade construtiva, tendo em conta o grau de instrução de cada indivíduo.

### 3.3 - Colheita de sangue venoso e armazenamento das amostras

A cada elemento em estudo foi colhido um tubo de sangue sem anticoagulante, designado por tubo seco, que possui um gel quimicamente inerte formado por acrilamida e dióxido de silicone, formando uma barreira efetiva entre o coágulo e o soro após a centrifugação.

Após a retenção do coágulo, o tubo seco foi centrifugado a 3500 rpm durante 5 minutos para permitir a separação do soro. O soro foi posteriormente separado em alíquotas devidamente identificadas e congelado a - 20°C.

### 3.4 - Determinação do valor de Estradiol

O Estradiol foi doseado no aparelho ADVIA Centaur, usando a amostra de soro e o kit Enhanced Estradiol (eE2) da Siemens.

Este teste tem um limite de detecção entre 11,8 e 3000 pg/ml e actua por competição. O estradiol endógeno na amostra é libertado das suas proteínas de ligação por um agente libertador e, de seguida, é adicionado um anticorpo monoclonal anti-estradiol marcado com éster de acridina para ligar o estradiol disponível. Posteriormente é adicionada à reacção uma fase sólida de captação do derivado de estradiol para competir com o estradiol pela ligação do anticorpo marcado com acridina e, após a lavagem, os reagentes ácido e base são distribuídos para iniciar a reacção quimioluminescente.

O valor de estradiol é determinado pela relação inversa entre a quantidade de estradiol presente na amostra do doente e a quantidade de unidades relativas de luz (RLUs) detectadas pelo sistema.

### **3.5 - Análise de dados e Estatística**

Os dados foram apresentados em percentagem relativamente ao número total de amostras por grupo. A análise dos dados foi realizada utilizando o software GraphPad Prism versão 3.00. A análise estatística foi efetuada usando o teste não paramétrico one-way ANOVA seguida do teste Kruskal-Wallis, e o t test não paramétrico seguido do teste Mann-Whitney. Os valores de  $P < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

# Capítulo 4

## Resultados

### 4.1 - Relação entre o resultado final do MMSE e a idade

Foi avaliada a performance de cada grupo etário na realização do MMSE e o resultado final foi comparado entre os diferentes grupos etários. Neste exame o valor máximo possível de se obter é de 30 valores.

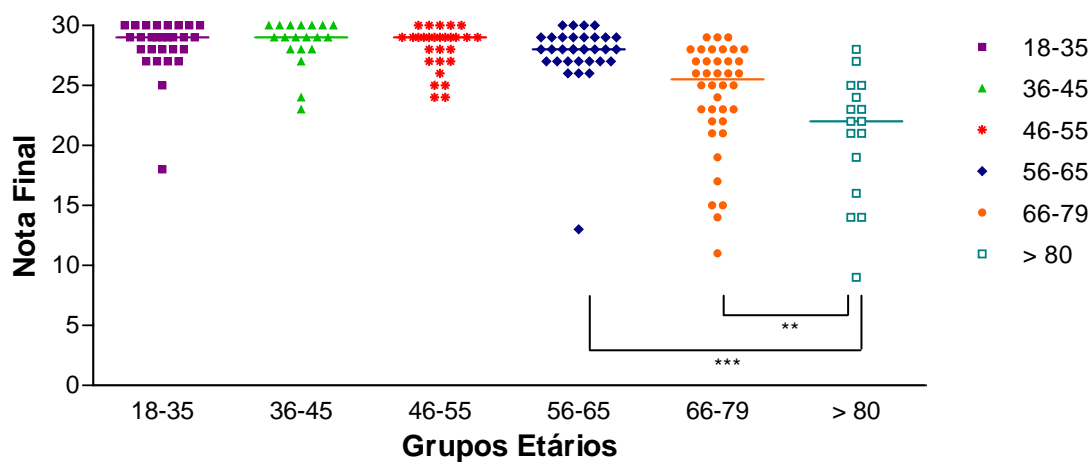


Figura 3: Comparação do resultado final do MMSE entre os diferentes grupos etários.  
\*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$

Após a comparação da nota final do MMSE nos vários grupos etários, verifica-se que os primeiros quatro grupos, que abrangem as idades dos 18 aos 65 anos, apresentam uma performance similar, com uma mediana de 29 para os 3 grupos mais jovens e de 28 para o grupo 56-65 anos. No grupo 66-79 anos o valor da mediana desceu para 25,5, e no grupo com idades superiores aos 80 anos, onde se verificam piores resultados no MMSE, atingiu-se uma mediana de 22.

É também notória a diferença na dispersão dos valores obtidos entre os grupos etários mais jovens em que os coeficientes de variação (cv) são inferiores a 10 (grupo 18-35 anos  $cv=8\%$ , grupo 36-45 anos  $cv=6,95\%$ , grupo 46-55 anos  $cv=6,45\%$ ). No grupo etário 56-65 anos o cv obtido teve um pequeno aumento para  $10,39\%$ . Mas, foi nos dois grupos mais idosos que a dispersão de resultados obtidos foi mais acentuada tendo o valor de cv quase duplicado no

grupo etário dos 66 aos 79 anos ( $cv=19,05\%$ ) e atingindo o máximo no grupo mais idoso com um valor de 25,01%.

Estes resultados mostram que nos grupos mais idosos ocorre um declínio acentuado na performance cognitiva, o que se traduz na diminuição dos valores da mediana. No entanto o aumento do coeficiente de variação nos dois grupos mais idosos indica que nestes grupos etários há mulheres com um perfil cognitivo semelhante ao de mulheres mais jovens enquanto outras mulheres mostram já um acentuado declínio das funções cognitivas.

Há que referir que a organização da amostra das 162 mulheres em seis grupos etários levou a que cada grupo fosse formado por um número relativamente reduzido de elementos por grupo (entre 38 mulheres no grupo 66-79 anos e 16 mulheres no grupo com mais de 80 anos), o que dificulta a obtenção de resultados significativos.

## **4.2 - Relação entre o grau de escolaridade nos diferentes grupos etários e a nota final do MMSE**

Uma vez que é conhecido que a escolaridade é um dos fatores que pode afetar o desempenho no MMSE fomos averiguar se o grau de escolaridade tem influência na execução do MMSE. Para isso em cada grupo etário comparámos a nota final do teste nas mulheres com diferentes anos de escolaridade. Foram considerados os níveis mais frequentes de escolaridade em Portugal, correspondentes aos diferentes níveis de ensino: 0 anos (sem formação académica formal), 4 anos (ensino primário), 9 anos (ensino básico), 12 anos (ensino secundário) e superior a 12 anos (com formação universitária).

Dadas as acentuadas alterações na formação académica da população portuguesa ocorridas nas últimas décadas os grupos etários em estudo não se distribuem de forma equitativa entre os diferentes níveis de escolaridade. Assim, o grupo mais jovem, dos 18 aos 35 anos, apresenta maioritariamente elementos com o Ensino Superior; no grupo dos 36 aos 45 anos os elementos distribuem-se entre o Ensino Básico, o Secundário e o Superior tendo, no entanto, maior incidência no Ensino Secundário. O grupo dos 46 aos 55 anos exibe uma distribuição uniforme entre os 4 anos de escolaridade, o Ensino Básico e o Ensino Secundário, tendo apenas dois elementos com o Ensino Superior. No grupo dos 56 aos 65 anos a maioria dos elementos apresenta 4 anos de escolaridade, existindo pouco elementos nos restantes graus de escolaridade. Também se verifica que só a partir dos 56 anos é que existem elementos sem instrução escolar, sendo que no grupo dos 56 aos 65 anos há apenas um elemento, enquanto nos grupos dos 66 aos 79 anos e com mais de 80 anos o número de elementos sem instrução aumenta acentuadamente.

Relativamente aos resultados obtidos no MMSE, da análise das medianas podemos verificar que no grupo mais jovem (18-35 anos) se observou pouca variabilidade nos resultados obtidos para cada grau de escolaridade com cv entre 2,58% e 6,05% (Tabela I). No entanto, as mulheres com apenas 9 anos de formação académica mostraram um desempenho pior que as mulheres com 12 anos de formação ( $p < 0,05$ ).

Pelo contrário, os grupos etários 36-45 anos e 46-55 anos foram aqueles em que se registou mais dispersão nos resultados obtidos havendo para cada nível de escolaridade mulheres com desempenhos muito díspares e não se verificando uma relação direta entre os resultados obtidos no MMSE e os níveis de escolaridade.

O grupo etário dos 56 aos 65 anos foi aquele em que os resultados obtidos foram mais homogêneos, com uma dispersão muito baixa entre os valores obtidos no MMSE. No entanto, também neste grupo não foi possível verificar uma correlação entre o grau de escolaridade e o desempenho no MMSE.

Os resultados obtidos nos dois grupos mais idosos parecem indicar que as mulheres sem qualquer instrução têm um pior desempenho no MMSE que as mulheres que frequentaram a escola primária, uma vez que se registou um aumento da mediana de 21 para 26,5 no grupo de 66 a 79 anos, e de 15 para 23,5 no grupo mais idoso.

Assim, estes resultados parecem sugerir que o número de anos de escolaridade não tem correlação com os resultados obtidos no MMSE, mas que a existência de escolaridade, independentemente do número de anos, determina uma melhor performance no teste.

No entanto, a interpretação destes resultados tem que ser feita com cautela uma vez que a dificuldade na compreensão do teste a realizar por mulheres sem qualquer instrução pode condicionar os resultados obtidos e, por outro lado, não havendo na população estudada mulheres que não tenham frequentado o ensino primário nos grupos mais jovens não é possível avaliar se esta relação se estende aos restantes grupos etários.

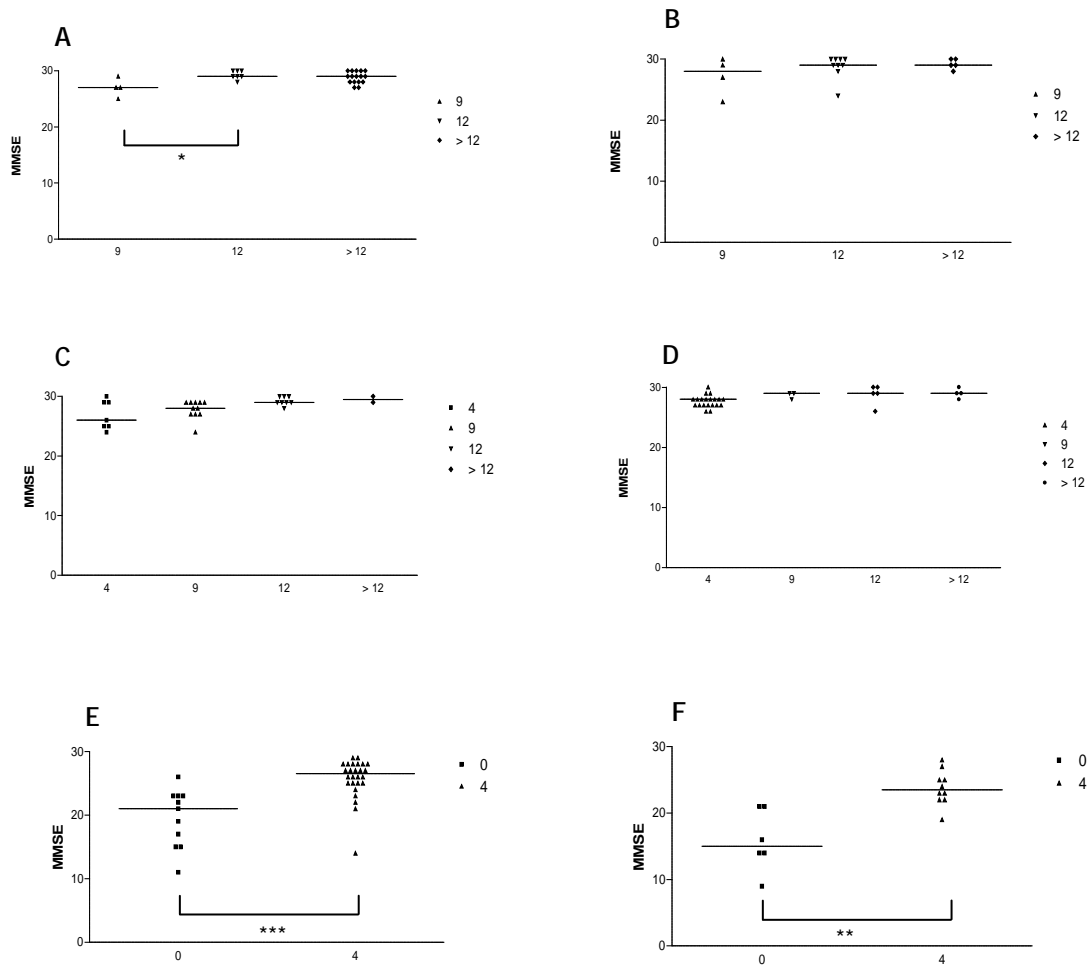


Figura 4: Relação entre o resultado final do MMSE e o grau de escolaridade nos diferentes grupos etários. A) Grupo dos 18 aos 35 anos; B) Grupo dos 36 aos 45 anos; C) Grupo dos 46 aos 55 anos; D) Grupo dos 56 aos 65 anos; E) Grupo dos 66 aos 79 anos; F) Grupo com mais de 80 anos. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

Tabela 1: Valor da mediana e do coeficiente de variação nos vários graus de escolaridade dos diferentes grupos etários

Grupos Etários (anos)	Valor da Mediana / Coeficiente de Variação				
	Sem Instrução	4 anos	Ensino Básico	Ensino Secundário	Ensino Superior
18 - 35	-	-	27,00/ 6,05%	29,00/ 2,58%	29,00/ 3,63%
36 - 45	-	-	28,00/ 11,36%	29,00/ 6,68%	29,00/ 2,87%
46 - 55	-	26,00/ 8,97%	28,00/ 5,53%	29,00/ 2,42%	29,50/ 2,40%
56 - 65	-	28,00/ 3,57%	29,00/ 2,01%	29,00/ 5,71%	29,00/ 2,82%
66 - 79	21,00/ 23,26%	26,50/ 12,22%	-	-	-
> 80	15,00/ 29,19%	23,50/ 10,99%	-	-	-

### 4.3 - Análise da relação entre os diferentes parâmetros avaliados no MMSE e a idade

O MMSE avalia seis parâmetros: Orientação, Retenção, Atenção e Cálculo, Evocação, Linguagem e Habilidade Construtiva. Procedeu-se à análise dos resultados obtidos em cada parâmetro por cada grupo etário sendo calculada a percentagem de mulheres que obteve determinada pontuação.

#### 4.3.1 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Orientação nos diferentes grupos etários

Neste parâmetro avalia-se a capacidade de orientação no tempo e no espaço, a pontuação máxima que pode ser obtida neste parâmetro é de 10 valores e a mínima de zero. Como nenhum elemento ficou classificado com zero ou com 1 valores, por uma questão de simplificação esses valores foram excluídos da representação gráfica.

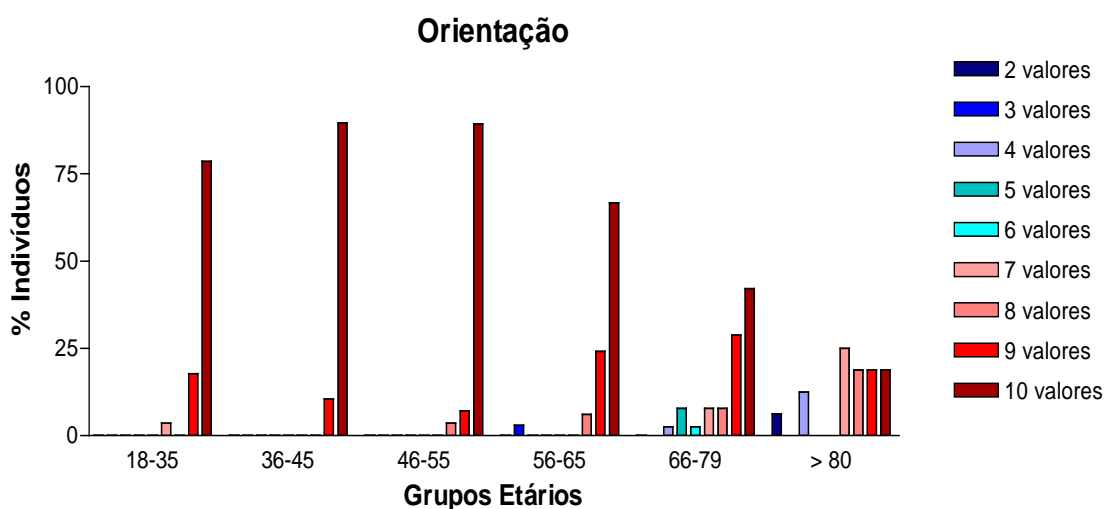


Figura 5: Percentagem de indivíduos por pontuação obtida no parâmetro Orientação do MMSE em cada grupo etário.

Como se pode observar na Figura 5, com o aumento da idade ocorre uma diminuição nos valores obtidos.

A partir dos 56 anos observou-se uma pequena percentagem de mulheres que obtiveram menos de 8 valores e uma diminuição da percentagem de mulheres com 10 valores. A partir dos 66 anos a diminuição na pontuação obtida torna-se mais acentuada, tornando-se esse decréscimo ainda mais evidente no grupo com mais de 80 anos.

#### 4.3.2 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Retenção nos diferentes grupos etários

Neste parâmetro avalia-se a capacidade de reter informação, correspondendo a pontuação máxima a 3 valores e a mínima a zero valores. Nesta avaliação não se observou nenhuma diferença significativa entre os diferentes grupos etários.

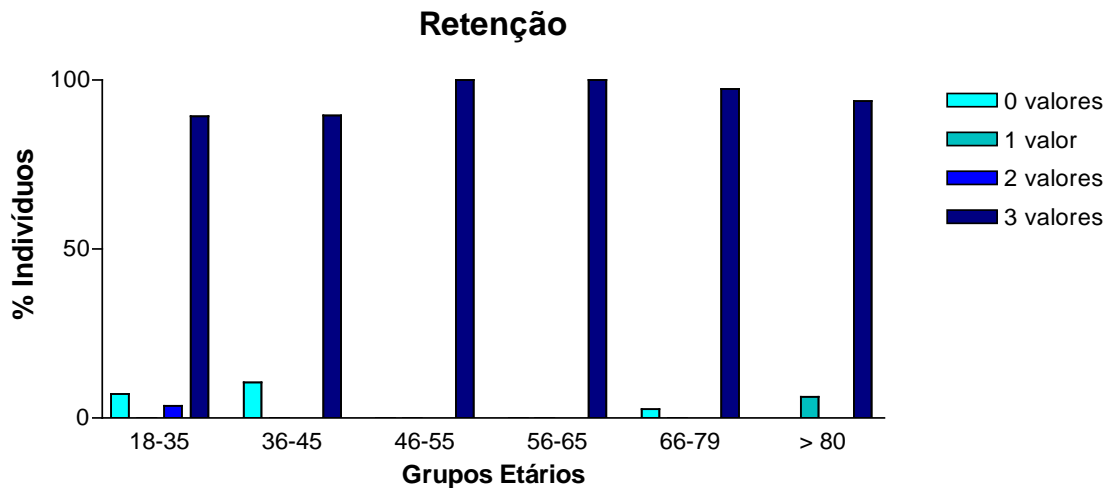


Figura 6: Percentagem de indivíduos por pontuação obtida no parâmetro Retenção do MMSE em cada grupo etário.

Como se pode observar na Figura 6, os grupos dos 46 aos 55 anos e dos 56 aos 65 anos tiveram 100% das mulheres com a pontuação máxima de 3 valores. Nos restantes grupos etários a maioria das mulheres também obteve a pontuação máxima, apresentando contudo pequenas percentagens de mulheres com valores inferiores a 3. No entanto estas diferenças entre os vários grupos etários não são significativas.

#### 4.3.3 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Atenção e Cálculo nos diferentes grupos etários

Este parâmetro consiste em avaliar a capacidade de efetuar várias subtrações sucessivas. Para este parâmetro a pontuação máxima é de 5 valores e a mínima de zero. Nesta avaliação verificou-se uma performance bastante inferior em mulheres com idade superior a 65 anos comparativamente a mulheres mais novas.

## Atenção e Cálculo

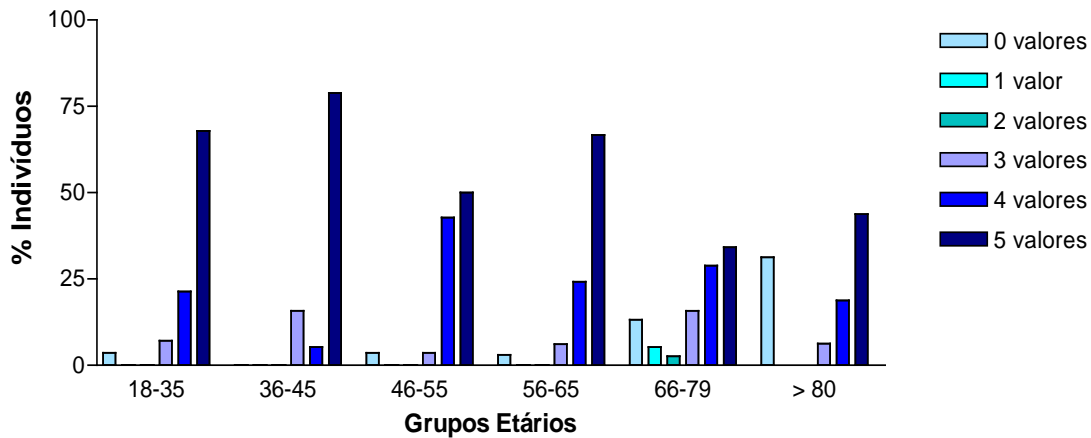


Figura 7: Percentagem de indivíduos por pontuação obtida no parâmetro Atenção e Cálculo do MMSE em cada grupo etário.

Como se pode observar na Figura 7, nos grupos mais jovens a maioria das mulheres obteve a pontuação máxima, enquanto nos grupos com mais de 65 anos ocorre uma diminuição acentuada na percentagem de mulheres com 5 valores e um aumento significativo da percentagem de mulheres que não acertou nenhuma questão.

Curiosamente o grupo dos 56 aos 65 anos obteve melhores resultados que o grupo dos 46 aos 55 anos, apresentando uma percentagem superior de mulheres com 5 valores e uma percentagem menor de mulheres com 4 valores.

Apesar de podermos dizer que de uma forma geral houve um pior desempenho nos grupos mais idosos, não se observou uma relação muito marcada entre o aumento de idade e a diminuição da pontuação obtida no teste. É possível que neste parâmetro fatores como a formação académica ou a ocupação profissional influenciem o resultado e alterem a tendência geral.

### 4.3.4 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Evocação nos diferentes grupos etários

Neste parâmetro avalia-se a capacidade de lembrar um grupo de palavras previamente memorizadas. Obtém-se 1 valor por resposta certa, sendo a pontuação máxima de 3 valores e a mínima de zero valores.

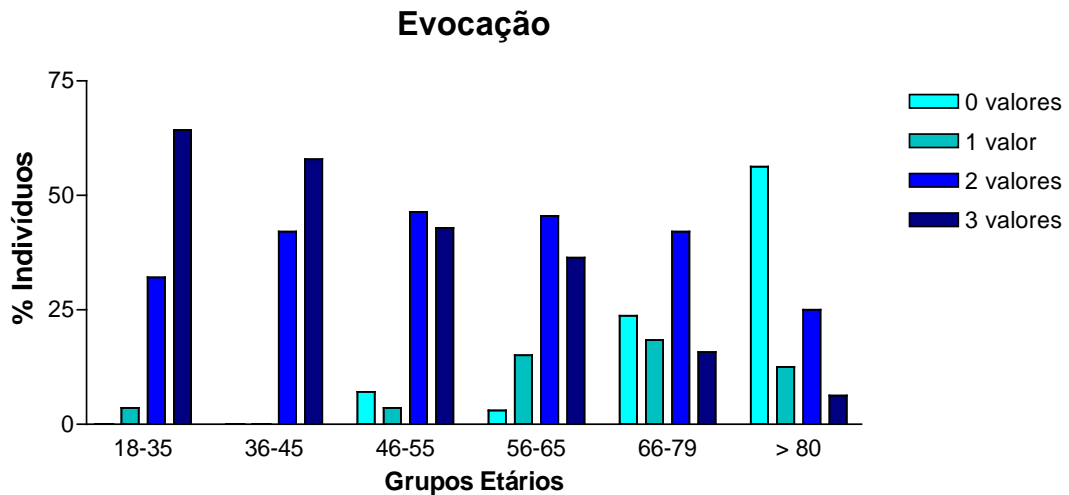


Figura 8: Percentagem de indivíduos por pontuação obtida na secção Evocação do MMSE em cada grupo etário.

Neste parâmetro verificámos que o desempenho vai piorando de forma gradual com o aumento da idade, ou seja, a percentagem de mulheres que obteve 3 valores é mais elevada no grupo dos 18 aos 35 anos e diminui gradualmente até ao grupo mais idoso.

De forma inversa, a percentagem de mulheres que não acertou em nenhuma questão ocorre apenas a partir dos 46 anos, aumenta drasticamente no grupo dos 66 aos 79 anos e no grupo com mais de 80 anos essa percentagem praticamente duplica em relação ao grupo anterior. Assim, podemos dizer que as alterações no parâmetro Evocação começam a ocorrer precocemente, sendo observadas já no grupo dos 36 aos 45 anos.

#### 4.3.5 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Linguagem nos diferentes grupos etários

Este parâmetro tem por objetivo avaliar a capacidade de nomeação e a fluência verbal. A pontuação máxima possível é de 8 valores e a mínima de zero valores. Como nenhuma mulher ficou classificada com zero, um ou dois valores, essa pontuação foi excluída da representação gráfica.

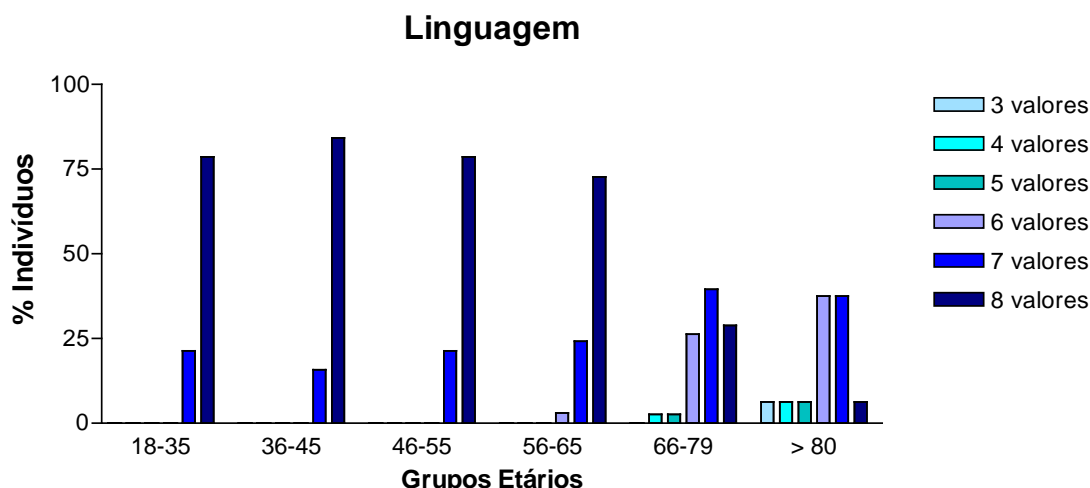


Figura 9: Percentagem de indivíduos por pontuação obtida na secção Linguagem do MMSE em cada grupo etário.

Nos grupos etários mais jovens, até aos 55 anos foram obtidos resultados bastante semelhantes, com todas as mulheres a obterem entre 7 e 8 valores. Uma percentagem elevada de mulheres obteve 8 valores e uma percentagem inferior a 25% obteve 7 valores.

No grupo dos 56 aos 65 anos observou-se que cerca de 3% das mulheres obteve 6 valores, mas é a partir dos 66 anos que a performance piora acentuadamente. No grupo de mulheres com mais de 80 anos apenas 6,25% das mulheres obtiveram a pontuação máxima, 75% das mulheres obtiveram entre 7 e 6 valores e 18,75% tiveram menos de 6 valores.

#### 4.3.6 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Habilidade Construtiva nos diferentes grupos etários

Este parâmetro avalia a capacidade de reproduzir corretamente objetos simples, como dois polígonos intersectados. A pontuação máxima possível de obter é 1 valor e a mínima de zero valores.

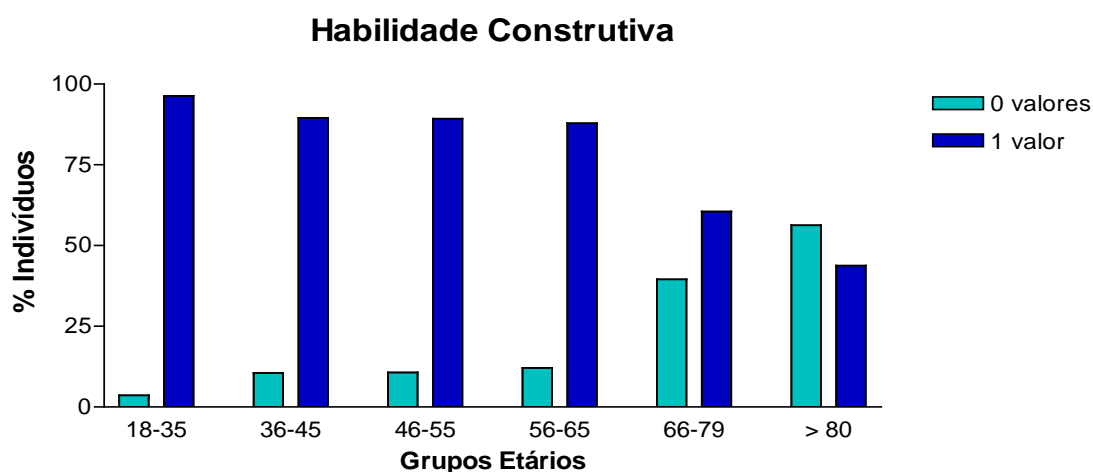


Figura 10: Percentagem de indivíduos por pontuação obtida na secção Habilidade Construtiva do MMSE em cada grupo etário.

Analisando a Figura 10 verifica-se que os grupos etários dos 18 aos 65 anos apresentam um desempenho semelhante, com a maioria das mulheres a apresentar 1 valor. A alteração mais significativa verifica-se entre o grupo dos 56-65 anos e o grupo dos 66 aos 79 anos, grupo em que 39,5% das mulheres obtiveram 0 valores. No grupo com mais de 80 anos aumentou o número de mulheres que obtiveram 0 valores, no entanto este aumento foi menos acentuado que o verificado entre os dois grupos anteriores.

#### 4.4 - Variação do nível sanguíneo de estradiol ao longo da idade

Tendo em conta a amplamente reportada ação neuroprotetora do estradiol, nesta parte do trabalho pretendeu-se avaliar a existência de uma relação entre os níveis séricos de estradiol e as alterações cognitivas associadas à idade. Começámos por avaliar os níveis desta hormona em amostras de soro de cada uma das mulheres que participaram neste estudo.

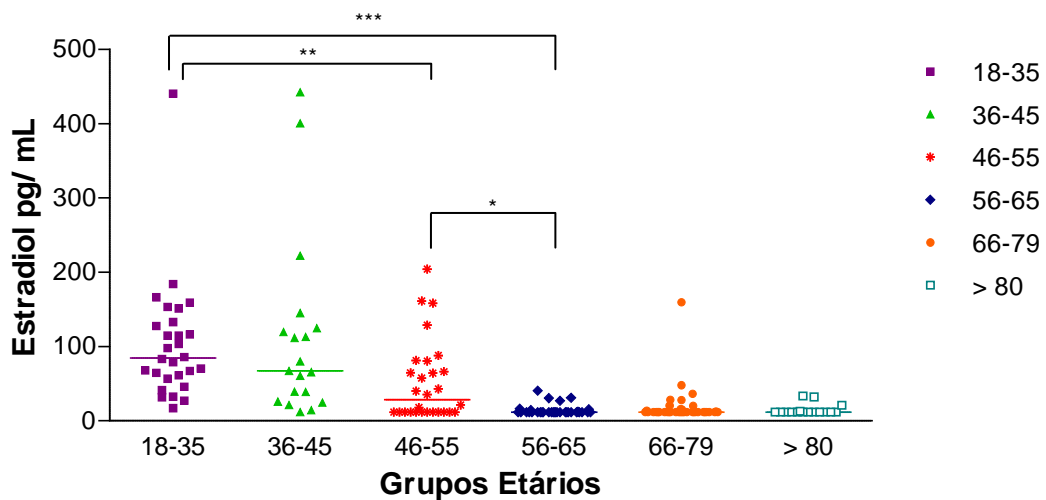


Figura 11: Relação entre os diferentes grupos etários e os níveis de Estradiol. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

A Figura 11 mostra que, tal como seria de esperar, no grupo etário de 56-65 anos 75,8% das mulheres já não têm níveis de estradiol que sejam detectáveis pelo método usado neste projeto. Nos grupos etários seguintes apenas 27,8% das mulheres com idade igual ou superior a 66 anos ainda apresenta níveis detectáveis de estradiol.

Ao se efetuar a análise estatística calculou-se a mediana e o coeficiente de variação do valor de estradiol em todos os grupos etários, como se pode constatar na Tabela 2.

Tabela 2: Valor da mediana e do coeficiente de variação do nível de estradiol nos vários grupos etários.

Grupos Etários (anos)	Valor da Mediana	Coeficiente de Variação
18 - 35	84,71	77,76%
36 - 45	67,39	108,60%
46 - 55	28,51	103,32%
56 - 65	11,80*	47,64%
66 - 79	11,80*	131,10%
> 80	11,80*	48,52%

\* Valor igual ou inferior ao limite de detecção do método usado.

#### 4.5 - Relação entre o resultado dos diferentes parâmetros avaliados no MMSE, a idade e os níveis de Estradiol

As mulheres em estudo nas diferentes faixas etárias foram divididas em dois grupos: um grupo com o nível de E2 superior ao limite de detecção do método usado (> 11,8 pg/ml), e um grupo com o nível de E2 inferior ao limite de detecção do método usado (< 11,8 pg/ml).

Assim compararam-se os resultados obtidos nos diferentes parâmetros avaliados no MMSE tendo em conta os níveis de estradiol e a idade. O único parâmetro em que não foi feita esta comparação foi na Retenção uma vez que não se observaram diferenças significativas no desempenho dos diferentes grupos etários.

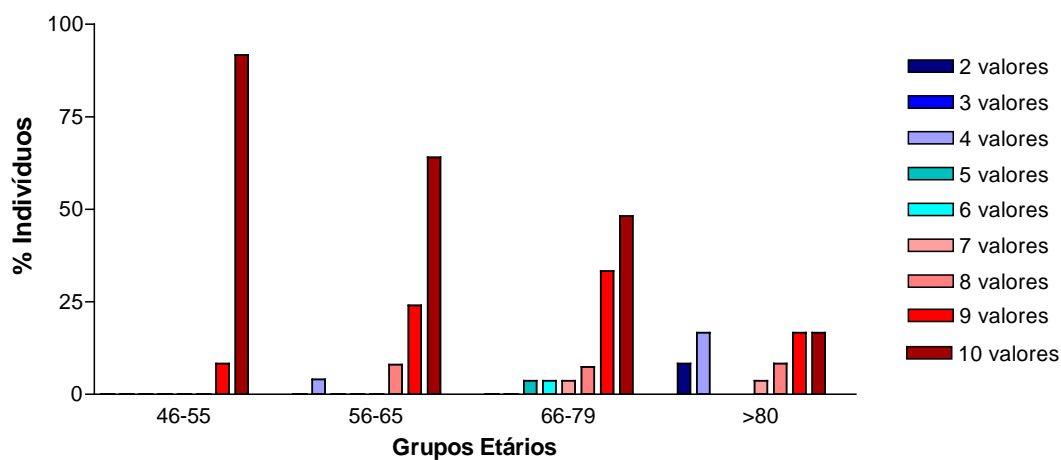
Como no grupo dos 18 aos 35 anos não existia nenhuma mulher com o nível de estradiol baixo e no grupo dos 36 aos 45 anos existia apenas uma, estes dois grupos etários foram excluídos desta avaliação.

É necessário ter em atenção que esta análise de dados implica uma nova divisão das 162 mulheres pelos seis grupos etários e pelo valor de estradiol doseado, o que torna o número de elementos por grupo ainda mais reduzido, podendo assim influenciar os resultados obtidos.

##### 4.5.1 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Orientação nos diferentes grupos etários: relação com o E2

No grupo com níveis de E2 não detectável nenhum elemento ficou classificado com zero ou com 1 valores, e no grupo com níveis detectáveis de E2 nenhum elemento ficou classificado com zero, 1, 2 ou 3 valores. Por este motivo, esses valores foram excluídos das respetivas representações gráficas.

A



B

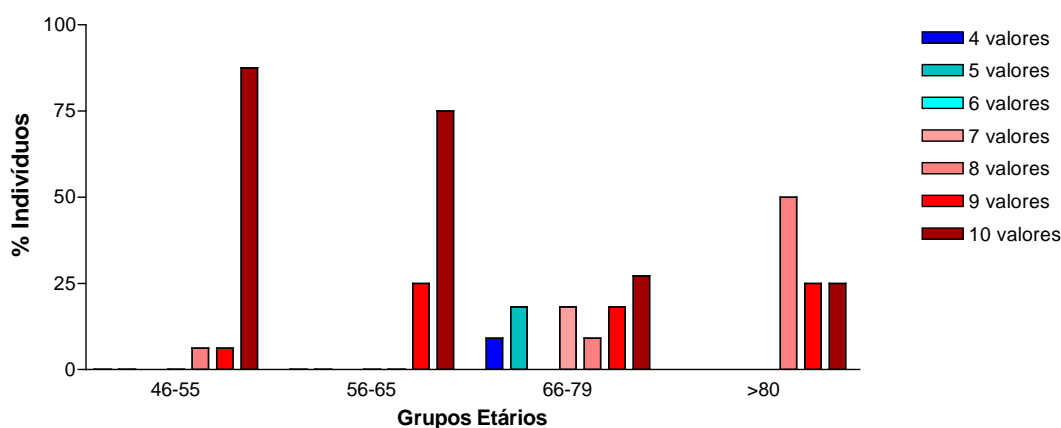


Figura 12: Percentagem de indivíduos por pontuação obtida no parâmetro Orientação do MMSE em cada grupo etário. A) Mulheres com nível de E2 não detectável; B) Mulheres com nível de E2 detectável.

Observando a Figura 12 verifica-se que, de uma forma geral e com exceção do grupo dos 66 aos 79 anos, as mulheres com níveis de E2 detectáveis tiveram uma melhor performance que as mulheres com níveis não detectáveis.

Para os grupos até 65 anos mais de 95% das mulheres obtiveram entre 7 e 10 valores, independentemente dos níveis de E2. No grupo dos 66 aos 79 anos 72,7% das mulheres com níveis detectáveis de E2 obtiveram entre 7 e 10 valores enquanto a percentagem de mulheres com níveis de E2 abaixo do nível mínimo detectável que obtiveram entre 7 e 10 valores foi de 92,6%. Contudo, este melhor desempenho das mulheres com níveis mais baixos de E2 já não se observou para o grupo com idade superior a 80 anos. Neste caso todas as mulheres com

níveis detectáveis de E2 obtiveram entre 7 e 10 valores enquanto apenas 75% das mulheres com níveis baixos de E2 obtiveram entre 7 a 10 valores. Estas diferenças devem no entanto ser consideradas com cautela dado o reduzido tamanho da amostra. Nos grupos etários mais idosos o número de mulheres com níveis detectáveis de estradiol é extremamente reduzido (11 amostras no grupo 66-79 anos e 4 amostras no grupo com mais de 80 anos).

#### **4.5.2 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Atenção e Cálculo nos diferentes grupos etários: relação com o E2**

Neste parâmetro a pontuação máxima é de 5 valores e a mínima de zero. Mas, como no grupo de mulheres com nível elevado de estradiol nenhuma ficou classificada com um ou dois valores, essa pontuação foi excluída nessa representação gráfica.

Analisando a Figura 13, a seguir apresentada, verifica-se que de uma forma geral as mulheres com níveis detectáveis de E2 tiveram um melhor desempenho que as mulheres com níveis não detectáveis de E2, com a exceção novamente do grupo dos 66 aos 79 anos.

Nas faixas etárias até aos 65 anos 100% das mulheres com níveis detectáveis de E2 obtiveram entre 3 a 5 valores. As mulheres com nível não detectável de E2 obtiveram resultados ligeiramente piores com 91,7% das mulheres do grupo 45-56 anos a obter entre 3 a 5 valores e 96,0% das mulheres do grupo 56-65 anos a obter essa pontuação.

No caso das mulheres com mais de 80 anos também se registaram melhores resultados nas mulheres com níveis detectáveis de E2, com 100% a pontuar entre 3 a 5 valores enquanto apenas 75% com E2 não detectável obtiveram pontuação entre 3 a 5 valores.

No caso do grupo dos 66 aos 79 a percentagem de mulheres que obtiveram pontuação entre 3 a 5 valores foi superior no grupo com níveis baixos de E2 (81,5%) que no grupo com níveis detectáveis desta hormona (72,8%).

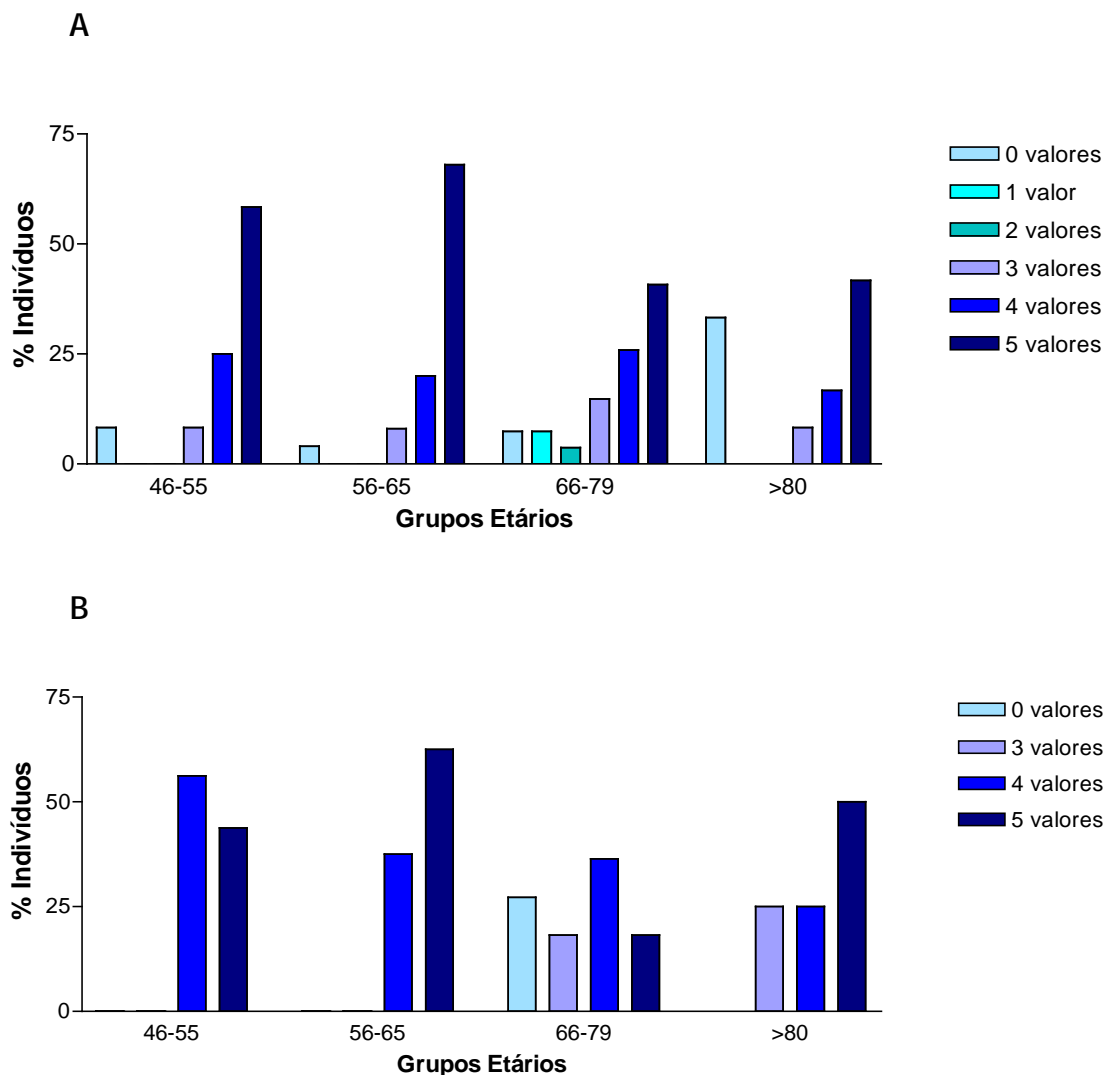


Figura 13: Percentagem de indivíduos por pontuação obtida no parâmetro Atenção e Cálculo do MMSE em cada grupo etário. A) Mulheres com nível de E2 não detectável; B) Mulheres com nível de E2 detectável.

#### 4.5.3 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Evocação nos diferentes grupos etários: relação com o E2

Ao efetuar-se a comparação do resultado deste parâmetro do MMSE entre as mulheres de diferentes idades não se observaram diferenças significativas de desempenho entre mulheres com níveis detectáveis de E2 e mulheres com níveis abaixo do valor mínimo detectável (Figura 14).

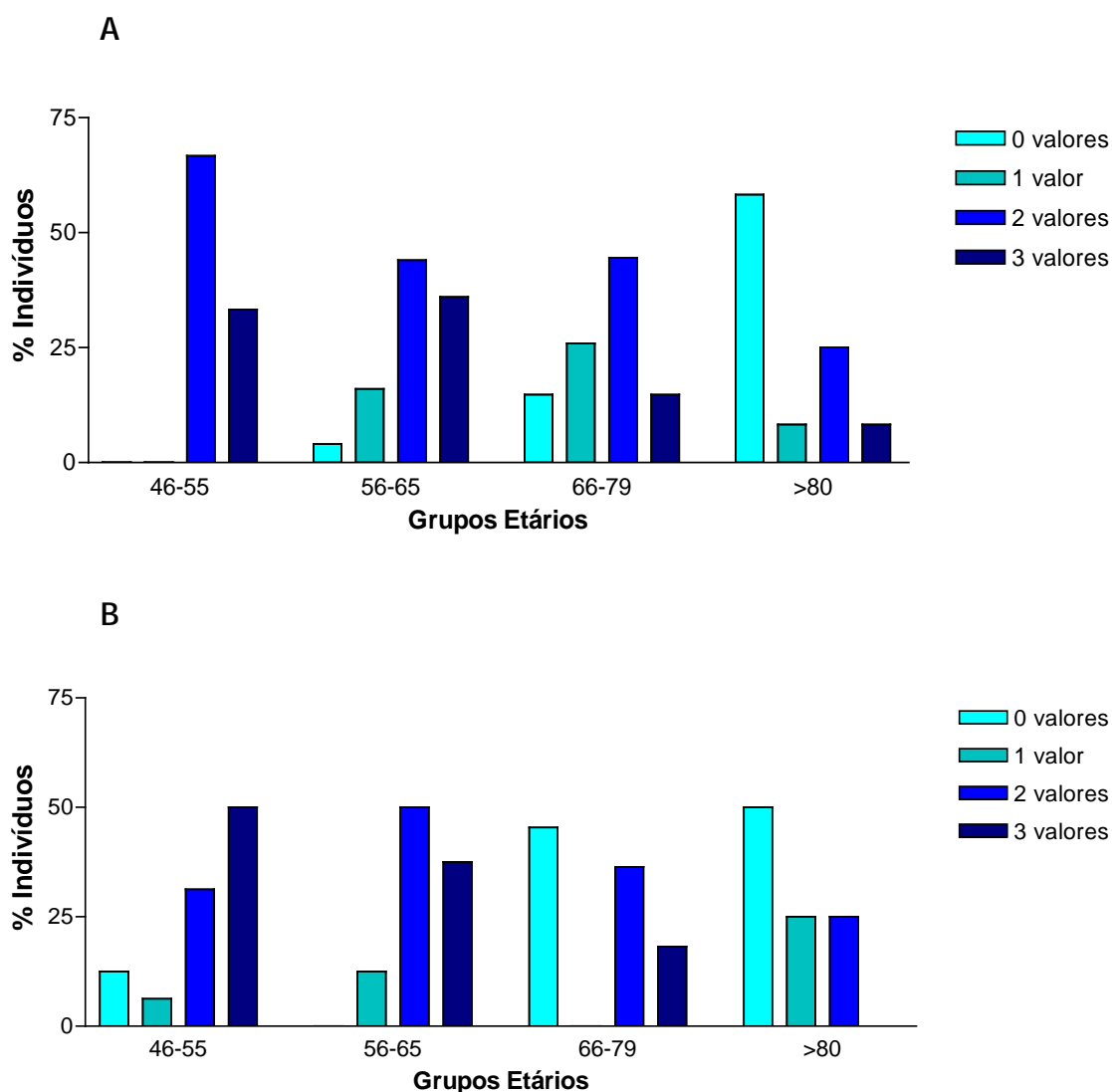


Figura 14: Percentagem de indivíduos por pontuação obtida no parâmetro Evocação do MMSE em cada grupo etário. A) Mulheres com níveis de E2 não detectável; B) Mulheres com níveis de E2 detectável.

Tal como nos parâmetros analisados anteriormente, foram determinadas as percentagens de mulheres que obtiveram 0 e 1 valores e a percentagem que obtiveram 2 e 3 valores em ambos os grupos de estradiol de maneira a poder compará-los de forma mais objetiva. Assim, verificou-se que:

- No grupo dos 46 aos 55 anos 81,25% das mulheres com E2 níveis detectáveis de E2 obtiveram entre 2 e 3 valores, enquanto 100% das mulheres com níveis não detectáveis de E2 pontuaram entre 2 e 3 valores;
- No grupo dos 56 aos 65 anos 87,54% das mulheres com níveis detectáveis de E2 obtiveram entre 2 e 3 valores, enquanto no grupo das mulheres com níveis baixos de E2 80% pontuaram entre 2 e 3 valores;

- No grupo dos 66 aos 79 anos 54,6% das mulheres com níveis detectáveis de E2 obtiveram entre 3 a 5 valores, enquanto 59,3% das mulheres com níveis de E2 abaixo do limite de deteção obtiveram entre 2 e 3 valores;
- No grupo com idade superior a 80 anos 25% das mulheres com níveis detectáveis de E2 pontuaram entre 2 e 3 valores, por sua vez 33,3% das mulheres com níveis de E2 não detectável obtiveram entre 2 e 3 valores.

Neste parâmetro verifica-se que no grupo dos 56-65 anos as mulheres com níveis detectáveis de estradiol tiveram um melhor desempenho do que as mulheres com estradiol baixo. Nas restantes faixas etárias os resultados são ligeiramente melhores no grupo de mulheres com estradiol baixo.

#### **4.5.4 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro da Linguagem nos diferentes grupos etários: relação com o E2**

Neste parâmetro a pontuação máxima é de 8 valores e a mínima de zero valores. No entanto, como no grupo de mulheres com níveis não detectáveis de E2 nenhuma ficou classificada com zero, 1 ou 2 valores, e no grupo com níveis detectáveis de E2 nenhuma mulher ficou classificada com zero, 1, 2 ou 3 valores, essa pontuação foi excluída da representação de ambos os gráficos.

Observando a Figura 15 verifica-se que as mulheres com níveis detectáveis de E2 apresentam um desempenho semelhante ou ligeiramente melhor que as mulheres com nível baixo, com a exceção novamente do grupo dos 66 aos 79 anos. Este grupo etário apresenta um desempenho muito similar nos dois grupos em análise, mas ainda assim as mulheres com estradiol baixo têm uma performance ligeiramente melhor.

De maneira a comprovar estes factos de forma mais objetiva determinaram-se as percentagens de mulheres que obtiveram entre 3 a 5 valores e a percentagem das mulheres que pontuaram entre 6 a 8 valores.

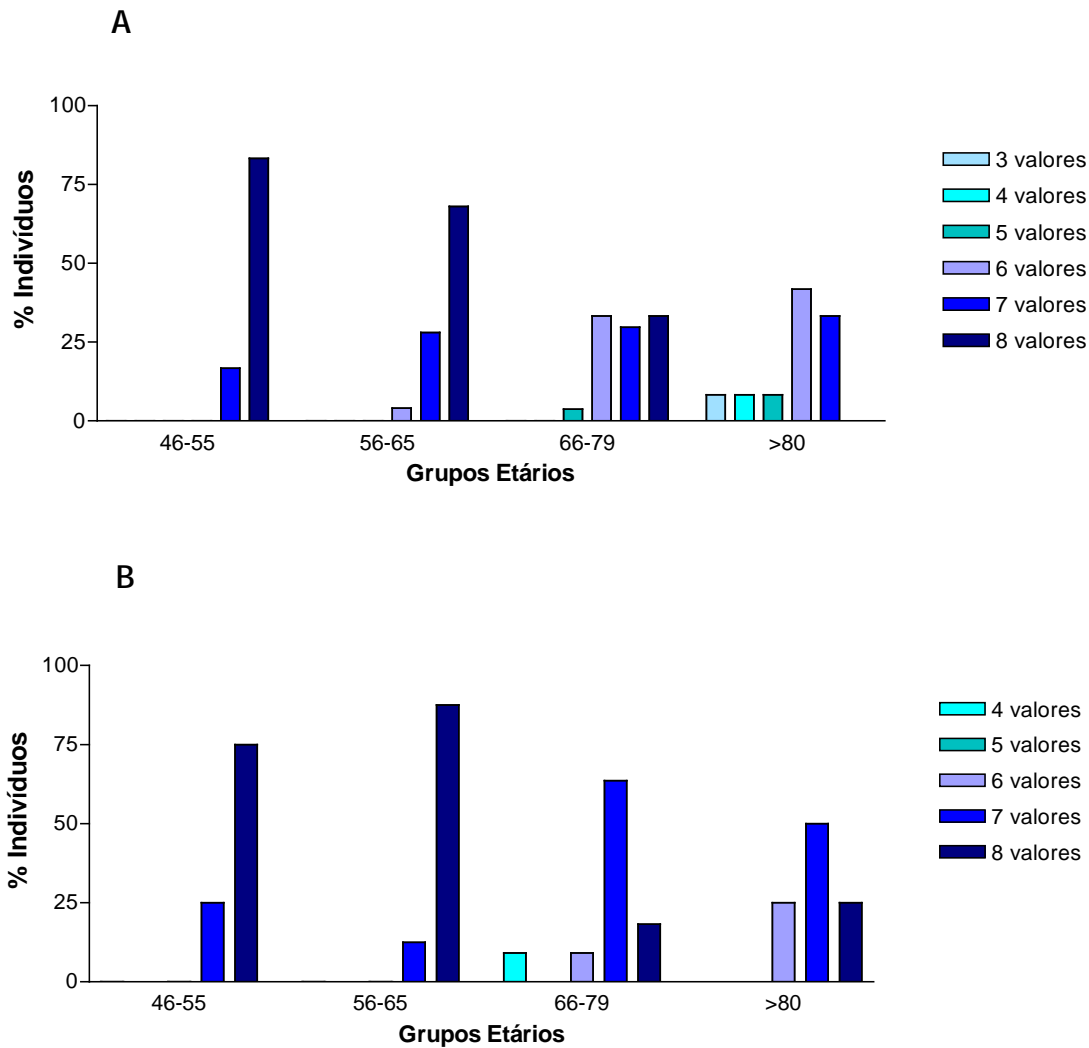


Figura 15: Percentagem de indivíduos por pontuação obtida no parâmetro Linguagem do MMSE em cada grupo etário. A) Mulheres com níveis não detectáveis; B) Mulheres com níveis detectáveis de E2.

Com esta análise constatou-se:

- No grupo dos 46 aos 55 anos e dos 56 aos 65 anos, 100% das mulheres obtiveram entre 6 a 8 valores, tanto no grupo com níveis de E2 não detectáveis como no grupo com níveis de E2 detectáveis;
- No grupo dos 66 aos 79 anos 90,9% das mulheres com níveis de E2 detectáveis obtiveram entre 6 a 8 valores, enquanto 96,3% das mulheres com níveis não detectáveis de E2 obtiveram entre 6 a 8 valores;
- No grupo com idade superior a 80 anos 100% das mulheres com níveis detectáveis de E2 pontuaram entre 6 a 8 valores, enquanto apenas 75% das mulheres com níveis não detectáveis de E2 obtiveram entre 6 a 8 valores.

Desta análise não parece indicar qualquer relação entre os resultados obtidos para o parâmetro Linguagem e a presença de níveis mais ou menos elevados de estradiol. Mas, mais

uma vez, no grupo com mais de 80 anos são as mulheres com estradiol elevado que apresentam a melhor performance.

#### 4.5.5 - Análise dos resultados obtidos no parâmetro Habilidade Construtiva nos diferentes grupos etários: relação com o E2

Ao comparar o resultado deste parâmetro do MMSE entre os dois grupos de estradiol verificou-se que a partir dos 66 anos as mulheres com baixo nível de E2 tiveram uma performance melhor, como pode ser constatado na Figura 17.

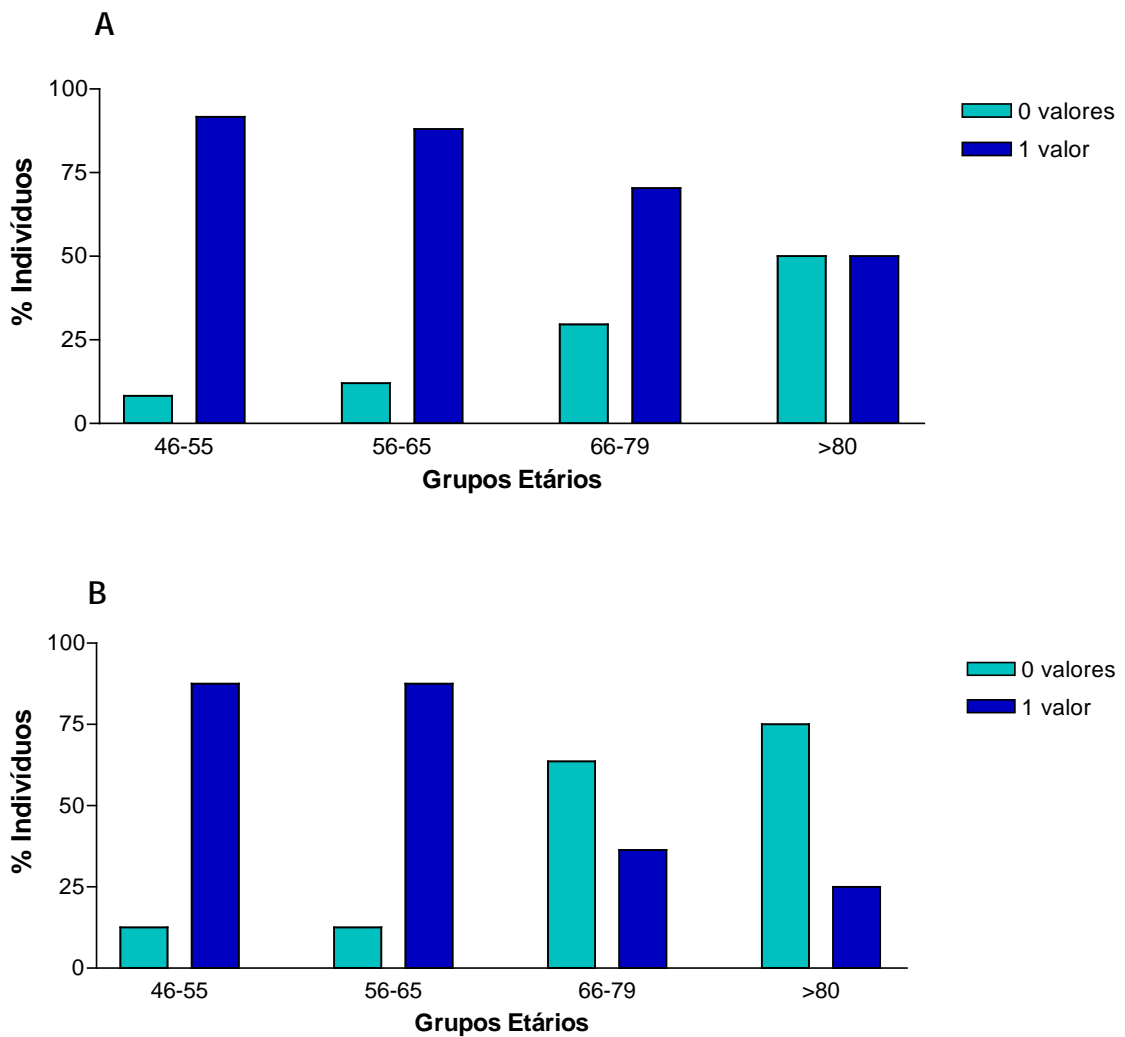


Figura 16: Percentagem de indivíduos por pontuação obtida no parâmetro Habilidade Construtiva do MMSE em cada grupo etário. A) Mulheres com níveis não detectáveis de E2; B) Mulheres com níveis detectáveis de E2.

Ao analisar os gráficos verifica-se que as mulheres dos 46 aos 55 e dos 56 aos 65 anos apresentam um desempenho muito semelhante independentemente do valor de estradiol

enquanto a partir dos 66 anos a percentagem de mulheres que não conseguem reproduzir os dois polígonos intersectados é superior no grupo com níveis detectáveis de estradiol.

Na faixa etária dos 66-79 anos 36,4% das mulheres com níveis detectáveis de estradiol obtiveram 1 valor enquanto no grupo de estradiol baixo foram 70,4% as mulheres a obterem 1 valor.

No grupo de mulheres com mais de 80 anos 25% das que têm níveis de E2 detectáveis obtiveram 1 valor, enquanto no grupo com estradiol não detectável 50% das mulheres obtiveram um valor.

Assim, verifica-se que neste parâmetro os grupos mais idosos com nível de E2 não detectável tiveram resultados substancialmente melhores que os grupos com nível detectável de E2. O mesmo não se verificou nos grupos de mulheres que abrangem dos 45 aos 65 anos, onde parece não existir relação entre o valor do estradiol e o seu desempenho neste parâmetro.

A realização desta parte do estudo permite-nos verificar que o grupo dos 66 aos 79 anos com níveis não detectáveis de E2 teve um desempenho superior ou semelhante ao grupo com níveis detectáveis de E2 em todos os parâmetros do MMSE. Mas o grupo com mais de 80 anos e com níveis não detectáveis de E2 só teve uma performance melhor apenas nos parâmetros Evocação e Habilidade Construtiva.

Com a realização deste trabalho foi possível observar que a partir dos 66 anos existe uma diminuição da capacidade cognitiva e que o nível sérico de estradiol diminui severamente a partir dos 56 anos, que corresponde à idade média em que a mulher na menopausa.

# Capítulo 5

## Discussão

Com a realização deste trabalho pretendeu-se caracterizar o declínio cognitivo na população feminina e determinar a partir de que idade são afetados cada um dos parâmetros em estudo.

Nos resultados obtidos no MMSE verificou-se um declínio da capacidade cognitiva estatisticamente significativo a partir dos 66 anos ( $p < 0,01$ ) e mais agravado ainda a partir dos 80 anos ( $p < 0,001$ ). Estes resultados são concordantes com a literatura descrita uma vez que existem inúmeras evidências de que ocorrem modificações da capacidade cognitiva com o envelhecimento “normal” (James, Wilson et al., 2011). Os vários estudos efetuados constataram que nos grupos entre os 20 e os 60 anos não ocorriam alterações na capacidade cognitiva ou então não eram significativas, e que só a partir dos 60 anos se verificava declínio cognitivo (revisto por Sherwin and Henry, 2008), estando de acordo com os resultados deste estudo.

Para averiguar se o desempenho no MMSE estava relacionado com o nível educacional das mulheres avaliadas comparou-se a nota final do teste com o grau de escolaridade em cada grupo etário. Estudos realizados anteriormente, como o estudo de Alex Mitchell (Mitchell, 2009) e o de Scazufca et al. (Scazufca, Almeida et al., 2009), verificaram que o MMSE pode ser influenciado pelo grau de escolaridade dos avaliados e concluíram que esta limitação só é importante se os avaliados não tiverem qualquer instrução escolar. Neste caso, o resultado do teste pode erradamente indiciar um diagnóstico de CCL ou demência (Mitchell, 2009; Scazufca, Almeida et al., 2009).

Neste estudo também verificámos que não o número de anos de escolaridade e sim a presença de alguma instrução escolar determina um melhor desempenho no MMSE.

No grupo dos 18 aos 35 anos existia uma diferença estatisticamente significativa entre o desempenho das mulheres com o Ensino Básico e com o Ensino Secundário ( $p < 0,05$ ), e nos grupos dos 66 aos 79 anos e com mais de 80 anos existia uma diferença estatisticamente significativa entre as mulheres Sem Instrução e com 4 anos de escolaridade ( $p < 0,001$  no grupo 66-79 anos;  $p < 0,01$  no grupo com mais de 80 anos). Nos restantes grupos não existiram diferenças estatísticas significativas entre os vários graus de escolaridade e a performance no MMSE.

Estes resultados podem ser explicados através da teoria da reserva cognitiva passiva, na qual os indivíduos com maior grau educacional têm um melhor desempenho na avaliação cognitiva

que os indivíduos de igual idade com menor instrução, mas sofrem declínio cognitivo na mesma proporção (Zahodne, Glymour et al., 2011).

Vários estudos recentes obtiveram resultados concordantes com estes, em que não observaram nenhum efeito moderador da escolaridade no declínio cognitivo ao longo do envelhecimento. Nestes estudos concluíram que os indivíduos com maior grau educacional tinham constantemente um desempenho melhor e por isso, apesar de sofrerem uma diminuição da capacidade cognitiva proporcional aos indivíduos com pouca ou nenhuma escolaridade, levariam mais tempo a demonstrar o comprometimento cognitivo (Zahodne, Glymour et al., 2011).

O MMSE está dividido em seis parâmetros e cada um deles foi analisado separadamente para observar a performance dos diferentes grupos etários e verificar se alguns dos parâmetros é mais afetado pelo declínio da capacidade cognitiva.

Na avaliação de cada parâmetro do MMSE verificou-se que, com exceção do parâmetro da Retenção em que todos os grupos tiveram um desempenho positivo e semelhante, a idade a partir da qual se inicia o declínio cognitivo varia um pouco entre os parâmetros avaliados. O parâmetro onde mais precocemente são detectadas alterações é o da Atenção e Cálculo onde o grupo dos 36-45 anos já exibiu piores resultados que o grupo etário mais jovem. No parâmetro Evocação detectaram-se alterações a partir dos 46 anos enquanto que os restantes parâmetros só foram visíveis alterações a partir dos 66 anos.

No parâmetro Orientação observou-se um ligeiro declínio na performance do grupo dos 56 aos 65 anos mas só a partir dos 66 anos é que esse declínio é acentuado. Na Evocação houve um decréscimo gradual em todos os grupos mas que também agravou a partir dos 66 anos e piorou bastante a partir dos 80 anos. Na Linguagem e na Habilidade Construtiva observou-se que dos 18 aos 65 anos a performance não varia muito e só mesmo a partir dos 66 anos é que o desempenho piora, sofrendo um declínio mais severo a partir dos 80 anos.

Estes resultados são novamente consistentes com os dados obtidos em estudos anteriores, comprovando que no envelhecimento ocorre declínio cognitivo e que esse declínio nas mulheres afeta principalmente a memória verbal e a função executiva (Carlson, Xue et al., 2009).

No entanto, deve ter-se em conta que o MMSE é fortemente influenciado pela educação e pela situação socioeconómica (Rosselli, Tappen et al., 2006). O trabalho de Scazufca et al. (Scazufca, Almeida et al., 2009), mostrou que os avaliados sem qualquer demência e sem nenhum grau de instrução obtinham pontuações semelhantes aos indivíduos com alguma demência, mesmo usando diferentes valores de avaliação consoante o grau educacional do avaliado (Scazufca, Almeida et al., 2009). É preciso ter em conta que a população de Castelo

Branco com mais de 65 anos é maioritariamente rural, não tendo por isso atividades intelectualmente estimulantes, e que no grupo em estudo os avaliados ou não têm qualquer instrução ou possuem apenas 4 anos de escolaridade. Desta forma, estes fatores também podem ter alguma influência no declínio agravado que se verifica nos grupos com mais de 65 anos.

No parâmetro Atenção e Cálculo o desempenho dos vários grupos etários não sofre um declínio linear: o grupo dos 36 aos 45 anos tem um melhor desempenho que o grupo dos 18 aos 35 anos, e o grupo dos 56 aos 65 anos tem um desempenho melhor que o grupo dos 46 aos 55 anos. A partir dos 66 anos a performance das mulheres piora drasticamente tal como nos parâmetros discutidos anteriormente. Apesar das diferenças entre os grupos dos 18 aos 65 anos não serem muito acentuadas, não era esperado que os grupos dos 18 aos 35 anos e dos 46 aos 55 anos tivessem uma performance pior que o grupo etário posterior. Talvez a formação académica e a ocupação escolar tenham alguma influência neste resultado mas como o número de avaliadas por grupo etário é reduzido, seria desejável aumentar o número de mulheres em cada grupo para se verificar se os resultados deste parâmetro se mantinham.

Outro objetivo deste estudo era verificar se o nível sanguíneo de estradiol se altera durante o envelhecimento e se essa alteração se associa com o desempenho cognitivo nas mulheres.

Na avaliação dos valores de estradiol nos diferentes grupos etários também se obtiveram resultados dentro do espectável pois verificou-se uma diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) a partir dos 56 anos que corresponde aproximadamente à idade média em que a mulher entra na menopausa, provocando um decréscimo abrupto na produção de estrogénios e, conseqüentemente, de estradiol (revisto por Sherwin, 2005).

Para verificar a influência do valor de estradiol no desempenho cognitivo das mulheres, compararam-se os resultados nos diferentes grupos etários entre as mulheres com níveis detectáveis de estradiol sérico e as mulheres com níveis de estradiol abaixo do mínimo detectável.

De uma forma geral, os grupos com níveis detectáveis de estradiol dos 46-55 anos e dos 56 aos 65 anos tiveram um melhor desempenho, com exceção dos parâmetros Linguagem e Habilidade Construtiva onde não se verifica relação entre o valor de estradiol e os resultados obtidos. No parâmetro Evocação as mulheres de 45-56 anos com níveis não detectáveis apresentaram um desempenho ligeiramente melhor que as mulheres com estradiol detectável.

No grupo dos 66 aos 79 anos foram as mulheres com níveis não detectáveis de E2 que apresentaram uma performance superior ou semelhante ao grupo com níveis detectáveis de E2 em todos os parâmetros do MMSE, enquanto que as mulheres do grupo com mais de 80 anos

e com níveis não detectáveis de E2 só nos parâmetros Evocação e Habilidade Construtiva é apresentaram um melhor desempenho.

Uma vez que a ação neuroprotetora do estradiol está comprovada em vários estudos e que o estradiol doseado nestes grupos é endógeno, pois nenhuma fazia terapia de reposição hormonal e por isso não há o risco de estarem a ser afetadas pela terapia, era de se esperar que os grupos com níveis elevados de estradiol sérico apresentassem um desempenho melhor nos parâmetros do MMSE.

Alguns dos estudos em que não obtiveram associação entre o valor de estradiol e a capacidade cognitiva em mulheres idosas verificaram que isto se devia ao fato de o doseamento da concentração de estradiol total não corresponder à concentração de estradiol biologicamente ativo (Yaffe, Lui et al., 2000; Muller, Schupf et al., 2010). Isto deve-se à Globulina de Ligação às Hormonas Sexuais (SHBG), uma vez que esta é a proteína major de ligação às hormonas sexuais no plasma, evitando que elas se liguem aos recetores intracelulares dos estrogénios ou androgénios (Muller, Schupf et al., 2010). O estradiol livre ou fracamente ligado à SHBG, e por isso biodisponível, é que tem a capacidade de atravessar a barreira hemato-encefálica e por isso é esta forma de estradiol que se relacionar com a capacidade cognitiva (Yaffe, Lui et al., 2000; Janicki and Schupf, 2010).

Neste caso seria interessante dosear nas mulheres dos 66 aos 79 anos a concentração da proteína SHBG e a concentração de estradiol livre para verificar se existiam diferenças entre os dois grupos de estradiol previamente formados e se estas diferenças poderiam justificar o melhor desempenho por parte das mulheres com níveis baixos de estradiol.

É preciso enfatizar que o número de mulheres com mais de 66 anos com nível detectável de estradiol é bastante reduzido, principalmente acima dos 80 anos, o que pode influenciar os resultados obtidos. Isto ocorre porque as mulheres em menopausa há tantos anos têm níveis muito baixos de estradiol sérico, e são por isso inferiores ao limite de deteção pela técnica usada.

## Capítulo 6

### Conclusão e Perspetivas Futuras

Com este trabalho não foi possível demonstrar uma associação positiva entre o valor de estradiol e o desempenho na avaliação cognitiva, não podendo assim concluir que o estradiol tem uma ação neuroprotetora. Para obter dados mais conclusivos seria necessário a realização de mais estudos, como o doseamento de estradiol livre e da proteína SHBG, e com uma população em estudo maior.

Também se verificou neste estudo uma dispersão dos resultados obtidos no MMSE pelos grupos de mulheres com mais de 65 anos, parecendo indicar que existem mulheres que apesar de cronologicamente idosas apresentam um desempenho cognitivo semelhante ao de mulheres mais jovens, enquanto outras mostram alterações evidentes a esse nível.

Assim, seria importante aumentar o tamanho da amostra em estudo nos dois grupos mais idosos de modo a ter mais mulheres com claras diferenças de desempenho cognitivo e tentar perceber a razão dessas diferenças através, por exemplo, do doseamento dos fatores neurotróficos BDNF e GDNF que possuem uma ação neuroprotetora e facilitadora do processo de memória e aprendizagem. (Numakawa, Matsumoto et al., 2011).

Também existem vários estudos recentes que indicam a senescência celular como um dos eventos capaz de contribuir para o envelhecimento e para a ocorrência das doenças associadas à velhice, como as demências. Assim, também seria útil o doseamento das proteínas p14<sup>ARF</sup> e p16<sup>INK4a</sup> em extrato leucocitário pois têm uma relevância especial na senescência celular (Bringold and Serrano, 2000; Kudchadkar, 2010) e poderiam informar acerca do envelhecimento celular geral nestas mulheres.

# Capítulo 7

## Referências Bibliográficas

Araujo, A. B. and G. A. Wittert (2011). "Endocrinology of the aging male." Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 25(2): 303-319.

Azambuja, L. S. (2007). "Avaliação neuropsicológica do idoso." Revista Brasileira do Envelhecimento Humano 4 (2): 40-45.

Behl, C. (2002). "Oestrogen as a neuroprotective hormone." Nat Rev Neurosci 3(6): 433-442.

Brann, D. W., K. Dhandapani, et al. (2007). "Neurotrophic and neuroprotective actions of estrogen: basic mechanisms and clinical implications." Steroids 72(5): 381-405.

Bringold, F. and M. Serrano (2000). "Tumor suppressors and oncogenes in cellular senescence." Exp Gerontol 35(3): 317-329.

Carlson, M. C., Q. L. Xue, et al. (2009). "Executive decline and dysfunction precedes declines in memory: the Women's Health and Aging Study II." J Gerontol A Biol Sci Med Sci 64(1): 110-117.

Charchat-Fichman, H., P. Caramelli, et al. (2005). "[Decline of cognitive capacity during aging]." Rev Bras Psiquiatr 27(1): 79-82.

Daffner, K. R. (2010). "Promoting successful cognitive aging: a comprehensive review." J Alzheimers Dis 19(4): 1101-1122.

De Nicola, A. F., L. Pietranera, et al. (2009). "Steroid protection in aging and age-associated diseases." Exp Gerontol 44(1-2): 34-40.

Folstein, M. F., S. E. Folstein, et al. (1975). "'Mini-mental state'. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician." J Psychiatr Res 12(3): 189-198.

Foster, T. C., K. M. Sharrow, et al. (2003). "Interaction of age and chronic estradiol replacement on memory and markers of brain aging." Neurobiol Aging 24(6): 839-852.

Gauthier, S., B. Reisberg, et al. (2006). "Mild cognitive impairment." Lancet 367(9518): 1262-1270.

- Gillies, G. E. and S. McArthur (2010). "Estrogen actions in the brain and the basis for differential action in men and women: a case for sex-specific medicines." Pharmacol Rev 62(2): 155-198.
- Henderson, V. W. (2009). "Aging, estrogens, and episodic memory in women." Cogn Behav Neurol 22(4): 205-214.
- James, B. D., R. S. Wilson, et al. (2011). "Late-life social activity and cognitive decline in old age." J Int Neuropsychol Soc 17(6): 998-1005.
- Janicki, S. C. and N. Schupf (2010). "Hormonal influences on cognition and risk for Alzheimer's disease." Curr Neurol Neurosci Rep 10(5): 359-366.
- Kudchadkar, R. (2010). "Novel targeted therapies for the treatment of metastatic melanoma." Ochsner J 10(2): 117-124.
- Laughlin, G. A., D. Kritz-Silverstein, et al. (2010). "Endogenous oestrogens predict 4-year decline in verbal fluency in postmenopausal women: the Rancho Bernardo Study." Clin Endocrinol (Oxf) 72(1): 99-106.
- Meyer, M. R., E. R. Prossnitz, et al. (2011). "The G protein-coupled estrogen receptor GPER/GPR30 as a regulator of cardiovascular function." Vascul Pharmacol 55(1-3): 17-25.
- Micevych, P. and R. Dominguez (2009). "Membrane estradiol signaling in the brain." Front Neuroendocrinol 30(3): 315-327.
- Mitchell, A. J. (2009). "A meta-analysis of the accuracy of the mini-mental state examination in the detection of dementia and mild cognitive impairment." J Psychiatr Res 43(4): 411-431.
- Muller, M., N. Schupf, et al. (2010). "Sex hormone binding globulin and incident Alzheimer's disease in elderly men and women." Neurobiol Aging 31(10): 1758-1765.
- Numakawa, T., T. Matsumoto, et al. (2011). "Protective Action of Neurotrophic Factors and Estrogen against Oxidative Stress-Mediated Neurodegeneration." J Toxicol 2011: 405194.
- Rago, V., F. Romeo, et al. (2011). "Identification of the estrogen receptor GPER in neoplastic and non-neoplastic human testes." Reprod Biol Endocrinol 9: 135.
- Rosario, E. R., L. Chang, et al. (2011). "Brain levels of sex steroid hormones in men and women during normal aging and in Alzheimer's disease." Neurobiol Aging 32(4): 604-613.

Rosselli, M., R. Tappen, et al. (2006). "The relation of education and gender on the attention items of the Mini-Mental State Examination in Spanish speaking Hispanic elders." Arch Clin Neuropsychol 21(7): 677-686.

Sczufca, M., O. P. Almeida, et al. (2009). "Limitations of the Mini-Mental State Examination for screening dementia in a community with low socioeconomic status: results from the Sao Paulo Ageing & Health Study." Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 259(1): 8-15.

Sherwin, B. B. (2005). "Estrogen and memory in women: how can we reconcile the findings?" Horm Behav 47(3): 371-375.

Sherwin, B. B. and J. F. Henry (2008). "Brain aging modulates the neuroprotective effects of estrogen on selective aspects of cognition in women: a critical review." Front Neuroendocrinol 29(1): 88-113.

Singh-Manoux, A., M. G. Marmot, et al. (2011). "Does cognitive reserve shape cognitive decline?" Ann Neurol 70(2): 296-304.

Smith, C. A., C. A. McCleary, et al. (1999). "Lifelong estrogen exposure and cognitive performance in elderly women." Brain Cogn 39(3): 203-218.

Winblad, B., K. Palmer, et al. (2004). "Mild cognitive impairment--beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment." J Intern Med 256(3): 240-246.

Wise, P. M., D. B. Dubal, et al. (2005). "Are estrogens protective or risk factors in brain injury and neurodegeneration? Reevaluation after the Women's health initiative." Endocr Rev 26(3): 308-312.

Yaffe, K., L. Y. Lui, et al. (2000). "Cognitive decline in women in relation to non-protein-bound oestradiol concentrations." Lancet 356(9231): 708-712.

Zahodne, L. B., M. M. Glymour, et al. (2011). "Education does not slow cognitive decline with aging: 12-year evidence from the victoria longitudinal study." J Int Neuropsychol Soc 17(6): 1039-1046.

Zhang, J. and Z. Ju (2010). "Telomere, DNA damage, and oxidative stress in stem cell aging." Birth Defects Res C Embryo Today 90(4): 297-307.

Zimmerman, M. E., R. B. Lipton, et al. (2011). "Endogenous estradiol is associated with verbal memory in nondemented older men." Brain Cogn 76(1): 158-165.

# Anexo I



## **UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR**

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

(Nome) ....., consente, após devidamente informado, a realização do mini exame do estado mental e do inquérito à sua pessoa e a utilização do seu sangue periférico colhido no Hospital Amato Lusitano em Castelo Branco, para uso em experiências de investigação científica no Centro de Investigação em Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior e no Hospital Amato Lusitano. Essas experiências servirão para o estudo da relação entre alterações cognitivas, envelhecimento celular e os níveis de GDNF, BDNF e estradiol no sangue periférico.

Tomei conhecimento e consinto,

-----  
Castelo Branco, de ..... de 20...

# Anexo II

## Mini mental State Examination(MMSE) (Mini exame do estado mental)

Nº da amostra

\_\_\_\_\_

Data

\_\_\_\_-\_\_\_\_-\_\_\_\_

### 1. Grau de instrução:

sem instrução\_\_\_\_ 4 anos de escolaridade\_\_\_\_ ensino básico\_\_\_\_ ensino secundário\_\_\_\_ ensino superior\_\_\_\_

### 2. Orientação (1 ponto por cada resposta correcta)

- 2.1. Em que ano estamos? \_\_\_\_\_
- 2.2. Em que mês estamos? \_\_\_\_\_
- 2.3. Em que dia do mês estamos? \_\_\_\_\_
- 2.4. Em que dia da semana estamos? \_\_\_\_\_
- 2.5. Em que estação do ano estamos? \_\_\_\_\_

nota: \_\_\_\_\_

- 2.6. Em que país estamos? \_\_\_\_\_
- 2.7. Em que distrito vive? \_\_\_\_\_
- 2.8. Em que terra vive? \_\_\_\_\_
- 2.9. Em que edifício/casa estamos? \_\_\_\_\_
- 2.10. Em que andar estamos? \_\_\_\_\_

nota: \_\_\_\_\_

### 3. Retenção (1 ponto por cada palavra correctamente repetida)

``Vou dizer 3 palavras. Queria que as repetisse, mas só depois de eu as dizer todas. Procure ficar a sabe-las de cor``

- 3.1. Pêra \_\_\_\_\_
- 3.2. Gato \_\_\_\_\_
- 3.3. Bola \_\_\_\_\_

nota: \_\_\_\_\_

**4. Atenção e Cálculo** (1 ponto por cada resposta correcta. Se der 1 resposta errada mas depois continuar a subtrair bem, consideram-se as seguintes como correctas. Parar ao fim de 5 respostas)

``Agora peço-lhe que me diga quantos são 30 – 3 e depois ao nº encontrado volta a tirar 3. Repete assim até eu lhe dizer para parar``

27 \_\_\_\_ 24 \_\_\_\_ 21 \_\_\_\_ 18 \_\_\_\_ 15 \_\_\_\_

nota: \_\_\_\_\_

### 5. Evocação (1 ponto por cada resposta correcta)

``Veja se consegue dizer as três palavras que pedi há pouco para decorar``

- 5.1. Pêra \_\_\_\_\_
- 5.2. Gato \_\_\_\_\_
- 5.3. Bola \_\_\_\_\_

nota: \_\_\_\_\_

### 6. Linguagem (1 ponto por cada resposta correcta)

6.1. ``Como se chama isto?`` Mostrar os objectos

- 6.1.1. Relógio \_\_\_\_\_
- 6.1.2. Lápis \_\_\_\_\_

nota: \_\_\_\_\_

6.2. ``Repita a frase que eu vou dizer: **O rato roeu a rolha**``

nota: \_\_\_\_

6.3. ``Quando eu lhe der esta folha de papel, pegue nela com a **mão direita**, **dobre-a ao meio** e ponha sobre a **mesa**.`` (Dar a folha segurando com as duas mãos.)

6.3.1. Pegar com a mão direita \_\_\_\_

6.3.2. Dobrar ao meio \_\_\_\_

6.3.3. Colocar na mesa \_\_\_\_

nota: \_\_\_\_

6.4. ``Leia o que está neste cartão e faça o que lá diz``. (Mostrar o cartão com a frase bem legível: **Feche os olhos**. Sendo analfabeto lê-se a frase.)

6.4.1. Fechar os olhos \_\_\_\_

nota: \_\_\_\_

6.5. ``Escreva uma frase inteira aqui``. (Deve ter sujeito e verbo e fazer sentido. Os erros gramaticais não prejudicam a pontuação)

6.5.1. Frase

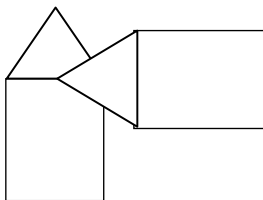
---

nota: \_\_\_\_

**7. Habilidade construtiva** (1 ponto pela cópia correcta)

Deve copiar o desenho. Dois pentágonos parcialmente sobrepostos, cada um com 5 lados, dois dos quais intersectados. Não valorizar tremor ou rotação.

7.1. Cópia



nota: \_\_\_\_

---

**TOTAL** (máximo 30 pontos): \_\_\_\_

### Resultados:

Considera-se com defeito cognitivo:

- Para analfabetos:  $\leq 15$  pontos
- Para indivíduos com escolaridades até 11 anos:  $\leq 22$  pontos
- Para indivíduos com mais de 11 anos de escolaridade:  $\leq 27$  pontos