



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA**  
**PROGRAMA PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS**  
**FARMACÊUTICAS (PPGFARMA)**

**GLESELEY VITO LIMA LEMOS**

**CITOCINAS INFLAMATÓRIAS E O PERFIL INFECTO-CONTAGIOSO:**  
**POSSÍVEL RELAÇÃO COM A DOENÇA DE ALZHEIMER**

**Salvador**

**2021**

**GLESELY VITO LIMA LEMOS**

**CITOCINAS INFLAMATÓRIAS E O PERFIL INFECTO-CONTAGIOSO:  
POSSÍVEL RELAÇÃO COM A DOENÇA DE ALZHEIMER**

Dissertação apresentada ao Programa Pós-Graduação *Stricto Sensu* Em Ciências Farmacêuticas (PPGFARMA), da Universidade do Estado da Bahia (UNEB) como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Veloso Cerqueira

Co-Orientador: Prof. Dr. Aníbal Júnior

Linha de Pesquisa: Linha 02 – Avaliação de Fármacos, Biomarcadores, Produtos Naturais e Sintéticos

**Salvador**

**2021**

FICHA CATALOGRÁFICA  
Sistemas de Bibliotecas da UNEB  
Dados fornecidos pelo autor

Lemos, Glesley Vito Lima

Citocinas inflamatórias e o perfil infecto-contagioso: possível correlação com a Doença de Alzheimer / Glesley Vito Lima Lemos – Salvador, 2020.

65 fls : il.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Antônio Veloso Cerqueira

Inlcui referências

Dissertação (Mestrado Acadêmico) – Universidade do Estado da Bahia.  
Departamento de Ciências da Vida. Campus I. Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Ciências Farmacêuticas – PPGFARMA, 2020.

1. Doença de Alzheimer. 2. Citocinas inflamatórias. 3. Doenças infecciosas.

CDD :

## **FOLHA DE APROVAÇÃO**

### **“CITOCINAS INFLAMATÓRIAS E O PERFIL INFECTO-CONTAGIOSO: POSSÍVEL RELAÇÃO COM A DOENÇA DE ALZHEIMER”**

**GLESLLEY VITO LIMA LEMOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação Stricto sensu em Ciências Farmacêuticas – PPGFARMA, em 14 de janeiro de 2021, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade do Estado da Bahia, conforme avaliação da Banca Examinadora.

Professor Dr. Bruno Antônio Veloso Cerqueira  
Orientador. Vice-Presidente do PPGFARMA–UNEB.  
Doutorado em Patologia  
Universidade Federal da Bahia – UFBA

Professor Dr. Anibal de Freitas Santos Junior  
Co-orientador. Presidente do PPGFARMA–UNEB.  
Doutorado em Química  
Universidade Federal da Bahia – UFBA

Professor Dr. Dr Fernando de Mello Almada Giuffrida  
Instituição de atuação (Membro Interno)  
Doutorado em Ciências  
Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP

Professor(a) Dr(a). Paulo Roberto Santana de Melo (Membro Externo)  
Universidade Estadual de Santa Cruz (Membro Externo)  
Doutorado em Patologia Humana  
Universidade Federal da Bahia – UFBA

Dedico aos meus filhos Pedro e Joaquim, ao meu irmão e  
minha esposa.

## **Agradecimentos**

Agradeço a todo o colegiado do PPGFARMA, em especial aos Prof. Dr. Aníbal de Freitas Santos Júnior, pela sua organização e respeito ao processo ensino-aprendizagem; e ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Bruno Antônio Veloso Cerqueira, pelo empenho, companheirismo, altruísmo e capacidade de transformar essas ideias em fatos e dados.

Agradeço a todos os docentes do curso de Mestrado em Ciências Farmacêuticas do PPGFARMA pela contribuição e especialmente a secretária Leila Omena, por toda dedicação, paciência infalível e acolhimento a nossa turma.

Agradeço aos colegas do PPGFARMA, em especial aqueles da primeira turma. Conviver com vocês por todos esses dias fez eu aprender muito mais sobre mim, entender minhas limitações e perceber que juntos podemos ter um horizonte mais promissor.

Agradeço aos membros da banca avaliadora, por prestarem seu precioso tempo, no intuito de promover a ciência e nos guiar com passos mais firmes e encorajados.

Agradeço carinhosamente ao meu amigo e colega Leidson Rodrigo, mestrando e neurologista de um coração e mente brilhantes. Que sua alegria e sua sabedoria te levem a caminhos iluminados.

Agradeço a minha família pelos ensinamentos, pela minha formação e pelo amor que temos um ao outro, mesmo quando a presença se fez vencida. Que meu irmão se sinta abraçado, todas as minhas vitórias têm um pouco do seu suor.

Agradeço a Universidade do Estado da Bahia, pela oportunidade de me qualificar e me promover profissionalmente. Espero, em breve, poder retribuir.

## Resumo

LEMOS, G. V. L. Citocinas inflamatórias e o perfil infecto-contagioso: possível relação com a Doença de Alzheimer (DA). Dissertação do Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Salvador: Departamento de Ciências da Vida, Universidade do Estado da Bahia, 2020; 65p.

**Introdução:** A doença de Alzheimer (DA) figura-se entre as principais doenças neurodegenerativas do mundo, sendo caracterizada por declínio progressivo de habilidades cognitivas. Ela se caracteriza pela formação de placas neuríticas de peptídeo A $\beta$  e pelo acúmulo intracelular de emaranhados neurofibrilares (NFT). A etiologia da neurodegeneração pode ter como gatilho o processo oxidativo decorrente da neuro-inflamação, bem como o contágio de doenças infecciosas. Muitas são as evidências que sinalizam a relação entre o agravamento da DA e a elevação da concentração de citocinas inflamatórias. É possível que a neuro-inflamação tenha relação com doenças infecciosas, as quais intensificam a resposta imuno-inflamatória. **Objetivos:** Analisar o perfil sociodemográfico dos pacientes em análise, relacionar a etiologia da DA às doenças infecciosas, analisar o papel das citocinas inflamatórias e relação com progressão da DA. **Materiais e Métodos:** Este estudo está desenhado em corte transversal com análise retrospectiva dos prontuários médicos e variáveis envolvidas, seguido de uma revisão sistemática sobre a relação das citocinas inflamatórias de maior prevalência na DA, usando modelo de fluxograma PRISMA. **Resultados:** Nossa população foi composta por 27 homens (52,9%) e 24 mulheres (47,1%), com mediana de idade de 73 anos ( $\pm$  10,14). Foi encontrada alta prevalência (19/51) de pacientes com IgG positivo para *Toxoplasma gondii*. Quanto as citocinas inflamatórias com potencial de interferir na progressão da DA, Interleucinas e Fator de Necrose Tumoral (TNF-alfa) aparecem com maior frequência na literatura. **Discussão:** Evidências sugerem que as doenças infecciosas podem contribuir para o caráter insidioso da DA; neste estudo, apesar de não apresentar correlação, a infecção por *Toxoplasma gondii* aparece com alta prevalência em pacientes com DA; diversas citocinas de caráter pró-inflamatório são relatadas como potenciais gatilhos neuro-inflamação e neurodegeneração, favorecendo a progressão da DA. Dentre as principais citocinas, tem-se o Fator de Necrose Tumoral (TNF-alfa) e algumas interleucinas, como IL-1 e IL-6. **Considerações finais:** apesar de não haver correlação positiva, doenças infecciosas podem contribuir com o processo inflamatório e oxidativo no cérebro de pacientes com DA, elevando a concentração de citocinas inflamatórias e contribuindo negativamente com a progressão da doença.

**Palavras-chave:** Doença de Alzheimer; neuro-inflamação; neurodegeneração; citocinas inflamatórias; doenças infecciosas.

## Abstract

LEMOS, G. V. L. Inflammatory cytokines and the infectious profile: possible relationship with Alzheimer's Disease (AD). Master's Dissertation in Pharmaceutical Sciences. Salvador: Department of Life Sciences, State University of Bahia, 2020, 65p.

**Introduction:** Alzheimer's disease (AD) is among the main neurodegenerative diseases in the world, being characterized by a progressive decline in cognitive skills. It is characterized by the formation of neuritic plaques of A $\beta$  peptide and the intracellular accumulation of neurofibrillary tangles (NFT). The etiology of neurodegeneration can be triggered by the oxidative process resulting from neuroinflammation, as well as the contagion of infectious diseases. There is much evidence that indicates the relationship between the worsening of AD and the increase in the concentration of inflammatory cytokines. It is possible that neuroinflammation is related to infectious diseases, which intensify the immune-inflammatory response. **Objectives:** To analyze the sociodemographic profile of the patients under analysis, relate the etiology of AD to infectious diseases, analyze the role of inflammatory cytokines and the relationship with progression of AD. **Materials and Methods:** This study is cross-sectional with retrospective analysis of medical records and variables involved, followed by a systematic review of the relationship of the most prevalent inflammatory cytokines in AD, using a PRISMA flowchart model. **Results:** Our population consisted of 27 men (52.9%) and 24 women (47.1%), with a median age of 73 years ( $\pm$  10.14). A high prevalence (19/51) of patients with IgG positive for *Toxoplasma gondii* was found. As for inflammatory cytokines with the potential to interfere in the progression of AD, Interleukins and Tumor Necrosis Factor (TNF-alpha) appear more frequently in the literature. **Discussion:** Evidence suggests that infectious diseases may contribute to the insidious character of AD; in this study, despite not showing a correlation, *Toxoplasma gondii* infection appears to be highly prevalent in patients with AD; several pro-inflammatory cytokines are reported as potential triggers for neuroinflammation and neurodegeneration, favoring the progression of AD. Among the main cytokines, there is the Tumor Necrosis Factor (TNF-alpha) and some interleukins, such as IL-1 and IL-6. **Final considerations:** although there is no positive correlation, infectious diseases can contribute to the inflammatory and oxidative process in the brain of patients with AD, increasing the concentration of inflammatory cytokines and contributing negatively to the progression of the disease.

**Keywords:** Alzheimer's disease; neuro-inflammation; neurodegeneration; inflammatory cytokines; infectious diseases.

## **Lista de Figuras e Quadros**

|                 |                                                                              |    |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> | Projeção do número de pessoas com DA nos EUA entre 2010 e 2050               | 18 |
| <b>Figura 2</b> | APP catabolizada por diferentes secretases                                   | 22 |
| <b>Figura 3</b> | Hiperfosforilação de t-Tau e a sinapse colinérgica                           | 22 |
| <b>Figura 4</b> | Ilustração comparativa do cérebro normal versus Alzheimer                    | 23 |
| <b>Figura 5</b> | Ilustração da micróglia e astrócitos saudáveis e em desordem                 | 25 |
| <b>Figura 6</b> | Da ativação da micróglia à neurodegeneração                                  | 26 |
| <b>Figura 7</b> | Atividade imune central e o início da DA                                     | 27 |
| <b>Figura 8</b> | Interleucinas anti e pró-inflamatórias na DA                                 | 28 |
| <b>Figura 9</b> | Diagrama de fluxo PRISMA para inclusão de estudos sobre neuroinflamação e DA | 42 |
| <b>Quadro 1</b> | Citocinas inflamatórias e sua participação na DA                             | 32 |

## **Lista de Abreviaturas**

AINE – anti-inflamatório não esteroideal  
APOE – apolipoproteína E  
APP – precursor de peptídeo amiloide  
A $\beta$  – peptídeo beta amiloide  
BHE – barreira hematoencefálica  
CEP – Comitê de Ética em Pesquisa  
CMV – citomegalovírus  
CNPQ – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico  
COX – ciclooxigenase  
DA – Doença de Alzheimer  
DCL – declínio cognitivo leve  
DSM-V – Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders  
DCV – Departamento de Ciências da Vida  
EUA – Estados Unidos da América  
FAPESB – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia  
HSV-1 – vírus do herpes simples 1  
IL – interleucina  
LCR – líquido cefalorraquidiano  
MMSE – minimental  
MoCA – Avaliação Cognitiva de Montreal  
NIA-AA – National National Institute on Aging-Alzheimer's Association (NIA-AA)  
NF- $\kappa$ B – fator nuclear kappa B  
NFTs – emaranhados neurofibrilares  
NMDA – N-metil-D-aspartato  
OMS – Organização Mundial de Saúde  
PET – tomografia por emissão de pósitrons  
PCR – proteína C-reativa  
PSEN1 – presenilina 1  
PSEN2 – presenilina 2  
p-Tau – proteína Tau  
t-Tau – proteína Tau fosforilada  
RNM – ressonância nuclear magnética

SNC – Sistema Nervoso Central

TCLE – termo de consentimento livre e esclarecido

TNF- $\alpha$  – Fator de Necrose Tumoral alfa

UNEB – Universidade do Estado da Bahia

## Lista de Tabelas

|                 |                                                                                                                           |    |
|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1</b> | Agentes infecciosos com possível relação causal com DA                                                                    | 33 |
| <b>Tabela 2</b> | Beta amiloide 40, Proteína TAU e Proteína Tau Fosforilada em LCR no grupo de pacientes com comprometimento cognitivo leve | 38 |
| <b>Tabela 3</b> | Características imuno-inflamatórias do grupo de pacientes com comprometimento cognitivo leve                              | 39 |
| <b>Tabela 4</b> | Características sociodemográficas, perfil celular e infecciosas do grupo de pacientes com comprometimento cognitivo       | 40 |
| <b>Tabela 5</b> | Relação de estudos que correlacionam os níveis e a interferência de citocinas inflamatórias com a progressão da DA        | 43 |

## Sumário

|                                                                  |      |
|------------------------------------------------------------------|------|
| <b>RESUMO</b>                                                    | vii  |
| <b>ABSTRACT</b>                                                  | viii |
| <b>LISTA DE FIGURAS</b>                                          | ix   |
| <b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>                                     | x    |
| <b>LISTA DE TABELAS</b>                                          | xii  |
| <br>                                                             |      |
| <b>1. INTRODUÇÃO</b>                                             | 14   |
|                                                                  | 17   |
| <b>2. OBJETIVOS</b>                                              |      |
| 2.1 Objetivo Geral                                               | 17   |
| 2.2 Objetivos Específicos                                        | 17   |
|                                                                  | 18   |
| <b>3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>                                  |      |
| 3.1 Epidemiologia e os impactos da DA                            | 18   |
| 3.2 Critérios diagnósticos da DA                                 | 19   |
| 3.3 Terapia medicamentosa                                        | 20   |
| 3.4 Quadro clínico, fisiopatologia e marcadores biológicos da DA | 21   |
| 3.5 Neuro-inflamação e a patogênese da DA                        | 24   |
| 3.6 Interleucinas inflamatórias e sua correlação com a DA        | 27   |
| 3.7 O TNF- $\alpha$ e o agravamento da DA                        | 30   |
| 3.8 Outras quimiocinas moduladoras da progressão da DA           | 31   |
| 3.9 Doenças infectocontagiosas e a possível relação causal da DA | 32   |
| <br>                                                             |      |
| <b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b>                                    | 36   |
| 4.1 População e desenho do estudo                                | 36   |
| 4.2 Coleta e preparação de amostras                              | 36   |
| 4.3 Revisão Sistemática                                          | 37   |
| 4.4 Análise estatística                                          | 37   |
| <br>                                                             |      |
| <b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>                                 | 38   |
| 5.1 Estudo do LCR: Biomarcadores clássicos                       | 38   |

|                                                                                                                                   |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 5.2 Estudo do LCR: possível relação infectocontagiosa                                                                             | 39        |
| 5.3 Análise do papel das citocinas inflamatórias                                                                                  | 42        |
| <b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>                                                                                                    | <b>45</b> |
| <b>REFERÊNCIAS</b>                                                                                                                | <b>46</b> |
| <b>ANEXO A: Mini-exame do estado mental</b>                                                                                       | <b>58</b> |
| <b>ANEXO B: Clinical Dementia Rating</b>                                                                                          | <b>60</b> |
| <b>ANEXO C: Escala de depressão geriátrica</b>                                                                                    | <b>62</b> |
| <b>ANEXO D: Comprovante de submissão do artigo</b>                                                                                | <b>63</b> |
| <b>ANEXO E: Artigo Científico: An interrelationship between<br/>neuroinflammation and progression of Alzheimer's disease (AD)</b> | <b>64</b> |
| <b>ANEXO F: Artigo Científico: An interrelationship between<br/>neuroinflammation and progression of Alzheimer's disease (AD)</b> | <b>79</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

A Doença de Alzheimer (DA) representa uma das principais doenças neurodegenerativas de todo o mundo. Estima-se que mais de 35 milhões de pessoas apresentam diagnóstico de algum tipo de demência, sendo a DA a demência de maior prevalência (KAWAI et al., 2018). É provável que, em 2050, aproximadamente 14 milhões de americanos conviverão com esta condição (KINNEY et al., 2018). Em escala global, calcula-se uma prevalência de 131 milhões de indivíduos com a DA, que tem a idade como o fator não modificável mais impactante. Consequentemente, indivíduos com mais de 65 anos de idade apresenta o dobro da prevalência da DA a cada cinco anos (CERQUERA-JARAMILLO et al., 2018).

Essa demência foi identificada no início dos anos 1900, quando o psiquiatra alemão Alois Alzheimer descreveu, pela primeira vez, os sinais histopatológicos característicos da doença, que são as placas senis e o emaranhado neurofibrilar. Diversos trabalhos, no decorrer da história, mostraram que os sinais da DA não são comuns da senilidade normal, e sim de achados que podem ser úteis para o diagnóstico da doença (NAJ; SCHELLENBERG, 2017).

Dentre sinais e sintomas que são característicos da doença, sabe-se que a perda de memória é o principal prejuízo. Porém, o indivíduo pode apresentar outros sinais, tais como problemas quanto à orientação/navegação e depreciação da possibilidade de realização de tarefas e serviços cotidianos (BAGYINSZKY et al., 2017). Estes achados são fundamentais para diferenciação e caracterização da doença.

O diagnóstico da DA é principalmente clínico, mas já há aceitação da triagem de marcadores biológicos no líquido cefalorraquidiano (LCR). Os principais marcadores da DA encontrados no LCR são o depósito extracelular de peptídeos beta-Amiloide ( $A\beta_{1-42}$ ) e a depuração intracelular dos emaranhados neurofibrilares (NFTs), decorrente da hiperfosforilação da proteína Tau (MAGALHÃES et al., 2018).

A base genética é um importante componente para diagnóstico da DA. Indivíduos portadores do alelo e4 do gene APOE apresentam até três vezes maior chance de desenvolver a doença. Em caso de indivíduos homozigotos, a chance aumenta até oito vezes. Sabe-se ainda que mutações nos genes da *proteína precursora amilóide (APP)*, *presenilina 1 (PSEN1)* e *presenilina 2 (PSEN2)* modulam

a produção, agregação ou depuração da A $\beta$ <sub>1-42</sub>. A presença dessas mutações apresenta condição decisiva para desenvolvimento da doença. Apesar de sofrer influência de outros fatores, como gênero, riscos vasculares e raça, a genética parece ser determinante no surgimento da doença (TÖNNIES; TRUSHINA, 2017).

Mesmo diante destes achados, a identificação da influência genética sobre a incidência da doença, bem como conhecimento acerca da formação amiloidal e fosforilação de t-Tau, a patogênese da DA ainda é incerta. Há fortes evidências que evidenciam a relação com desordens inflamatórias crônicas no SNC dos pacientes com a doença (LIU et al., 2014).

Desde a década de 80, diversos estudos correlacionam a atividade neuroinflamatória com a evolução da DA. No início da década de 90, alguns ensaios observacionais identificaram que pacientes em uso crônico de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) apresentavam redução de 50% da chance de evoluir com este transtorno. A resposta inflamatória apresenta inicialmente seu caráter protetor; porém, com a exacerbação da resposta, observa-se hiperfosforilação da proteína Tau (pTau) e elevação do estresse oxidativo, promovendo morte celular da substância nigra no Sistema Nervoso Central (SNC) (KINNEY et al., 2018). Outra evidência importante é que há aumento da concentração de proteína C-reativa (PCR) diretamente proporcional à elevação da formação de placas A $\beta$ <sub>1-42</sub>. O avançar da idade, principalmente entre indivíduos do sexo masculino, deixa essa marca ainda mais evidente (WALKER et al., 2018).

O caráter inflamatório insidioso pode estar atrelado a outras condições clínicas, que podem exacerbar a resposta inflamatória no SNC. Diversos estudos correlacionam a DA com a detecção de patógenos infecciosos em tecidos cerebrais de pacientes com esta doença. Vários patógenos infecciosos, como citomegalovírus (CMV), vírus do herpes simples tipo 1 (HSV-1), *Chlamydomphila pneumoniae*, vários tipos de espiroquetas, incluindo Treponemas orais, estão associados com declínio cognitivo e podem desempenhar um papel no desenvolvimento da DA. Isso certifica ainda mais o quanto o caráter infamatório no tecido cerebral tem potencial decisivo na consolidação da doença (BU et al., 2015).

Acredita-se, portanto, que a inflamação sistêmica tenha relação direta com a progressão da DA. Enquanto o diagnóstico e a fase inicial da doença são marcados pela evidência de formação de agregados de A $\beta$ <sub>1-42</sub> e NFTs, a progressão clínica da

DA é marcada pelo aumento da concentração central e periférica e citocinas inflamatórias (KAWAI et al., 2018). Estas citocinas podem ativar a microglia e os astrócitos, os quais se tornam os principais efetores de sinalização neuroinflamatória, causando distúrbios metabólicos neuronais e citotoxicidade, contribuindo para a disfunção neuronal e para a deterioração cognitiva. O papel da neuroinflamação ainda se encontra pouco elucidado quanto ao desenvolvimento da DA, sendo necessária a análise de achados mais concretos sobre a concentração central e periférica de citocinas como interleucinas, fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e quimiocinas (MAGALHÃES et al., 2018).

O aumento da longevidade e a expectativa aumentada da prevalência da DA, associados à necessidade de maiores esclarecimentos acerca da neuro-inflamação comumente encontrada em pacientes com esta doença, requerem estudos que objetivem este fim. A análise de causalidade com doenças infectocontagiosas com incidência e progressão desta demência, bem como a investigação das citocinas pró e anti-inflamatórias, são de cunho fundamental para entendimento da evolução da DA, inclusive para definição das formas de prevenção, controle, tratamento e demais cuidados.

Neste presente trabalho, faremos uma revisão sobre a participação e efetividade das citocinas inflamatórias relacionadas com a progressão da DA e Declínio Cognitivo Leve (DCL), bem como buscar a possível relação de causalidade entre o caráter insidioso desta demência com a prevalência de doenças infectocontagiosas.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Analisar o perfil neuro-inflamatório e sua relação com doenças infectocontagiosas em pacientes diagnosticados com declínio cognitivo leve (DCL) ou especialmente com a Doença de Alzheimer (DA).

### **2.2 Objetivos Específicos**

Relacionar o perfil sociodemográfico dos pacientes com declínio cognitivo e DA com o perfil de doenças infectocontagiosas.

Identificar as citocinas inflamatórias e estabelecer uma possível relação das mesmas em pacientes com diagnóstico de DCL ou DA.

Avaliar a participação das citocinas inflamatórias com o estágio do comprometimento cognitivo, relacionando-as ao DCL ou DA.

### 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

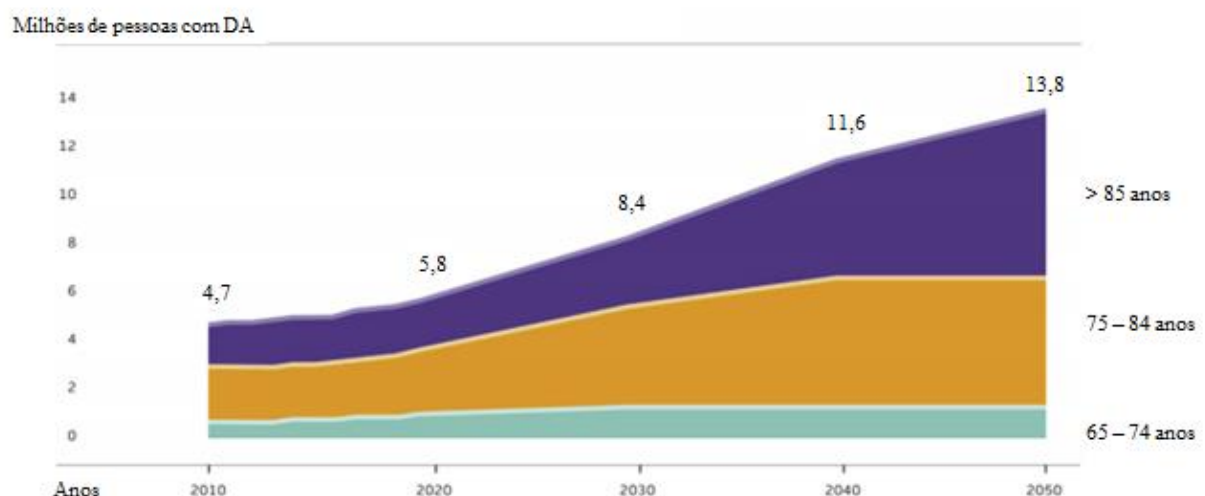
#### 3.1 Epidemiologia e os impactos da DA

Na última década, a Organização Mundial da Saúde (OMS) destacou a importância dos distúrbios neurológicos na saúde pública quanto ao risco de incapacitação, dentre elas a DA e Doença de Parkinson. Estes distúrbios contemplam as principais causas de incapacidade no mundo e são responsáveis por 6,3% dos anos de vida ajustados por incapacidade global (BAYANI et al., 2019).

De acordo com a Associação Americana de Alzheimer, os Estados Unidos (EUA) tem um custo que soma as cifras de mais de duzentos bilhões de dólares a cada ano em cuidados relacionados a pacientes com esta demência, sobrecarregando os serviços de saúde e afetando a qualidade de vida das famílias dos pacientes acometidos (BOSTANCIKLIOĞLU, 2019).

Diante dos dados epidemiológicos, longevidade populacional e projeções sobre a prevalência da DA, a preocupação em torno da DA é uma crescente. Projeta-se que no ano de 2050, conforme ilustra Figura 1, haverá aproximadamente 14 milhões de pessoas com DA nos EUA. Como já se sabe, a faixa etária mais afetada pela doença encontra-se entre os idosos acima de 85 anos, seguidos daqueles com idade entre 74 e 85 anos.

**Figura 1. Projeção do número de pessoas com DA nos EUA entre 2010 e 2050**



Projeção do número de pacientes com DA acima de 65anos, por faixa etária, até 2050 nos Estados Unidos. Adaptado de Gaugler et al, 2016.

A nível global, é provável que em 2050 haverá aproximadamente 50 milhões de idosos com essa condição, sendo mais incidente e prevalente em países menos desenvolvidos (BOSTANCIKLIOĞLU, 2019).

Mesmo com risco aumentado de incidência da doença em países subdesenvolvidos, um levantamento de dados de um estudo recente realizado na Noruega causa preocupação quanto a qualidade de vida e longevidade dos pacientes com DA – homens e mulheres perdem aproximadamente 9,2 e 9,8 anos de vida respectivamente em comparação com a população geral (HAZEN et al., 2019). Esses dados alertam quanto ao impacto social, devido à incapacitação decorrente da doença, bem como o abalo financeiro com os custos que tendem a elevar a cada ano.

### **3.2 Critérios diagnósticos da DA**

O diagnóstico da DA é multifacetado, utilizando de ferramentas clínicas, a dados laboratoriais e exames de imagem. Clinicamente, sabe-se que a perda de memória é o sinal mais clássico da DA, embora outros sinais e sintomas podem aparecer, em média, três anos após o diagnóstico. As deficiências iniciais na memória episódica refletem prejuízo do lobo temporal medial. Quando em estágio moderado a grave, os prejuízos se somam em outras regiões, comprometendo múltiplos processos cognitivos, declínio de motilidade, continência e deglutição (ERATNE et al., 2018).

O National Institute on Aging-Alzheimer's Association (NIA-AA) e Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-V) são as instituições norteadoras dos critérios de diagnósticos. A lista de diagnóstico diferencial é ampla, incluindo doenças como depressão, outras doenças neurológicas e degenerativas, delírio e uma variedade de condições médicas gerais (ERATNE et al., 2018).

Em 2011, após o NIA-AA revisar os critérios diagnósticos, exames como a ressonância nuclear magnética (RNM), tomografia por emissão de pósitrons (PET) e estudo do LCR e seus biomarcadores somaram-se os critérios clínicos, com intuito de elevarem a assertividade do diagnóstico da DA.

Embora diversas ferramentas são usadas para detectar declínio da função cognitiva, o Mini-Mental State Examination (MMSE) tem sido o mais utilizado ao longo dos anos (PINTO et al., 2019). Como o MMSE possui baixa especificidade na

diferenciação de DCL e DA, em 2005 foi criado um novo teste de triagem – Avaliação Cognitiva de Montreal (MoCA). Sua principal vantagem é a sensibilidade na detecção de DCL e DA leve: 90 e 100% respectivamente (PINTO et al., 2019).

Os primeiros critérios diagnósticos para DA foram estabelecidos em 1984 e recentemente foram atualizados, incluindo biomarcadores de imagem de acúmulo de  $A\beta$  e dano neuronal. Técnicas de imagem estrutural, como imagem por ressonância magnética são capazes de revelar atrofia cerebral como resultado da perda neuronal. Tomografia computadorizada de emissão de fóton único e tomografia por emissão de pósitrons (PET) são excelentes ferramentas para diagnóstico da doença (VALOTASSIOU et al., 2018).

Apesar de existirem cinco biomarcadores estudados para auxiliarem o diagnóstico da DA, há quase trinta anos este é realizado através de três deles: dosagem de  $A\beta_{1-42}$ , t-Tau e p-Tau. A alta precisão diagnóstica destes biomarcadores possibilita a diferenciação diagnóstica entre pacientes com DA e DCL (OLSSON et al., 2016).

O diagnóstico preciso e precoce pode potencialmente melhorar a qualidade de vida dos pacientes e seus cuidadores, favorecendo intervenções farmacológicas oportunas e retardando a progressão da doença.

### **3.3 Terapia medicamentosa**

O comprometimento cognitivo, aliado a outros sinais e sintomas que aparecem na progressão da DA são geralmente decorrentes da perda de neurônios colinérgicos, ou ainda, da superatividade de glutamato sobre os receptores NMDA, fazendo destas duas vias – colinérgica e glutamatérgica – os principais alvos farmacológicos no momento. Diversos medicamentos foram testados na terapêutica adjuvante da DA, porém apenas duas classes farmacológicas compõem o tratamento principal desta demência (OZBEN; OZBEN, 2019).

A lista de medicamentos para tratar a DA é inversamente proporcional à crescente população acometida pela doença. Apenas 5 medicamentos estão aprovados nos Estados Unidos para uso na DA. Estes incluem três inibidores da Acetilcolinesterase (donepezil, galantamina e rivastigmina) e um antagonista do receptor de NMDA (memantina). A quinta opção seria a associação entre doses fixas de memantina e donepezil (CUMMINGS; TONG; BALLARD, 2019).

Os medicamentos atualmente disponíveis para tratamento da DA não afetam a progressão da doença, sendo úteis apenas para tratar os sintomas. Apesar da extensa pesquisa sobre a fisiopatologia da DA, a busca de novos medicamentos para tratamento da doença ainda carece de alvos terapêuticos melhores definidos. A maioria dos medicamentos testados para DA nas últimas décadas têm como alvo o acúmulo de placas amiloides, sendo, portanto, tratamento da doença já em fase avançada (PANZA et al., 2019).

O entendimento aprofundado do quadro clínico da doença, assim como o incremento de pesquisas que visem identificar condicionantes causais da DA, como a relação entre a neuro-inflamação e associação com doenças infectocontagiosas, podem nortear a busca de novos alvos farmacoterapêuticos e avanço no tratamento e prevenção dessa doença.

### **3.4 Quadro clínico, fisiopatologia e marcadores biológicos**

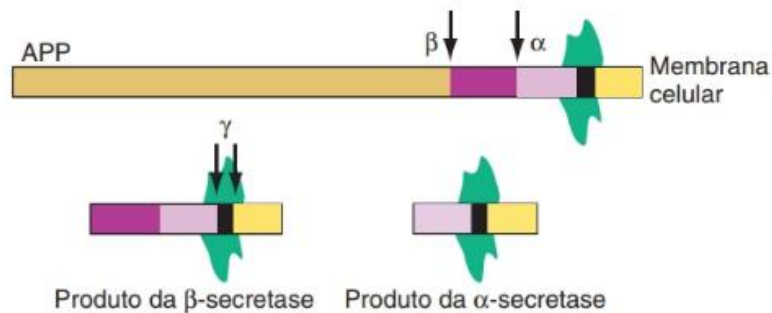
A doença de Alzheimer (DA) é caracterizada por um início insidioso e progride lentamente com perda de memória e avança para déficits em funções intelectuais e habilidades cognitivas mais altas, geralmente sob vários domínios (idioma, práxis, reconhecimento ou funcionamento executivo) (NAJ; SCHELLENBERG, 2017).

As placas neuríticas difusas formadas pelo peptídeo  $A\beta$  e o acúmulo intracelular de NFT constam das principais alterações neuropatológicas no tecido cerebral do paciente com DA, vislumbrando a gênese da placa senil, a qual pode ser visualizada em exames de imagem (GANDY; DEKOSKY, 2013).

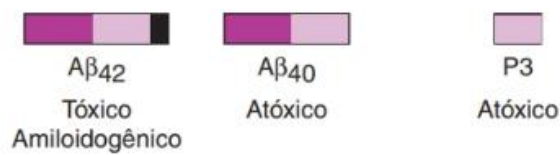
A placa neurítica é formada a partir da clivagem excessiva e inadequada da APP pela beta-secretase, conforme ilustra Figura 2. Esta clivagem inadequada causa formação acentuada dos fragmentos  $A\beta_{1-42}$  no espaço extracelular que, devido sua bioquímica, causa ativação exacerbada da microglia e astrócito, dando início à cascata inflamatória. Após a formação das placas amiloidais e o estresse oxidativo, a inflamação acentua-se e agride o interior do neurônio. A nível intracelular, ocorre a hiperfosforilação da t-Tau e a consequente incapacidade dos neurônios colinérgicos conduzirem sinapse na região do hipocampo (CERQUERA-JARAMILLO et al., 2018).

**Figura 2. APP catabolizada por diferentes secretases**

**Etapa 1: clivagem pela  $\alpha$  ou  $\beta$ -secretase**



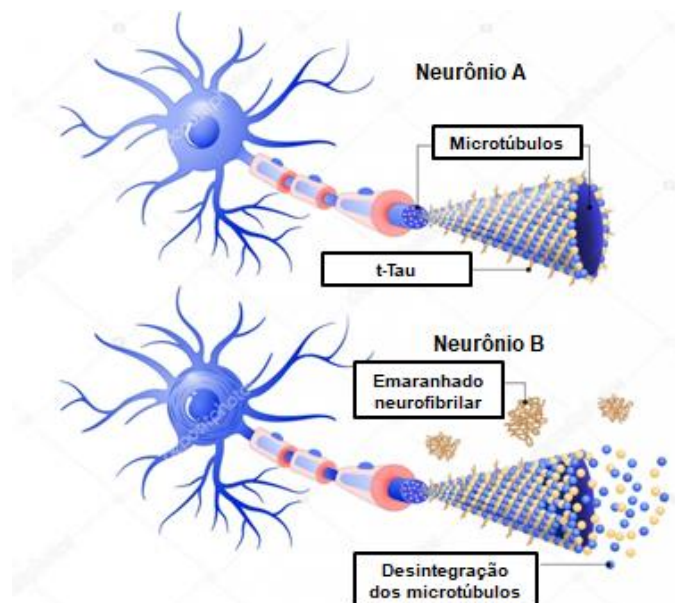
**Etapa 2: clivagem pela  $\gamma$ -secretase**



A clivagem do produto da beta-secretase pela gama-secretase (etapa 2) resulta no peptídeo A $\beta$ <sub>1-42</sub> tóxico.

A Figura 3 ilustra o espaço intracelular dos neurônios colinérgicos da região do hipocampo do cérebro de pacientes com DA. A reação inflamatória induz a hiperfosforilação da t-Tau, deixando-a inapropriada para aderir-se aos microtúbulos e auxiliar na secreção do neurotransmissor.

**Figura 3: Hiperfosforilação de t-Tau e a sinapse colinérgica**



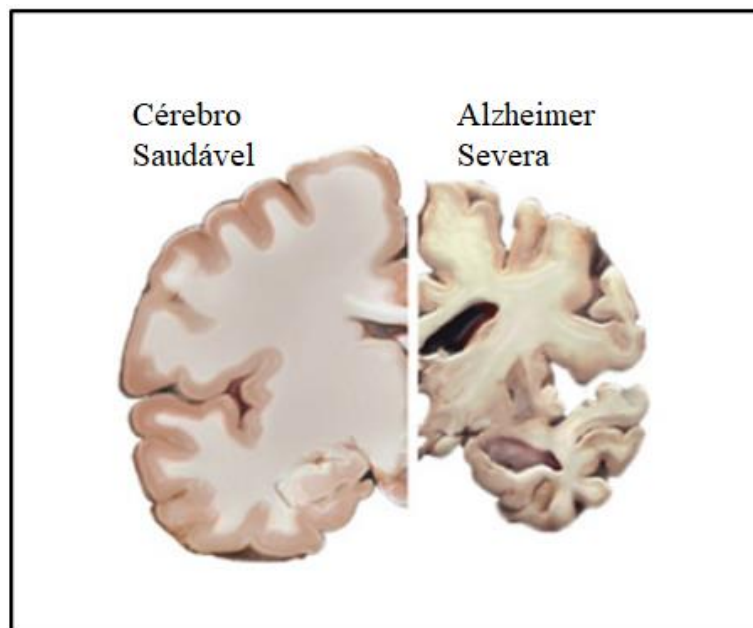
Neurônio A: atividade normal dos microtúbulos citoplasmáticos, nos quais a t-Tau se adere e auxilia nas contrações citoplasmáticas e secreção neuronal. Neurônio B: hiperfosforilação da t-Tau, prejudicando a contração do neurônio e reduzindo a atividade sináptica colinérgica.

Características patológicas da ativação microglial encontram-se conjugadas com elevação de depósitos  $A\beta$  e correlaciona positivamente com a gravidade clínica da DA, sugerindo uma associação entre neuroinflamação e deposição amiloide, que pode promover processos neurodegenerativos tardios (WALKER et al., 2018).

É plausível que a ativação microglial precoce possa ser um dos primeiros processos patológicos envolvidos no início da doença, devido à capacidade de espécies moleculares de  $A\beta$  ativar células microgliais *in vitro*. Essas moléculas podem ser encontradas no ambiente extracelular, antes da deposição típica da placa e, por isso, ativar ou alterar a função microglial. Esse processo pode potencialmente iniciar e impulsionar a progressão da doença, não apenas induzindo a ativação pró-inflamatória, mas também afetando a função homeostática da microglia, afetando assim outras células do cérebro, como neurônios e astrócitos (BOZA-SERRANO et al., 2018).

A resposta neuro-inflamatória estimula de forma cíclica a atividade das células gliais, causando neurodegeneração devido morte neuronal. Abaixo, a Figura 4 ilustra a comparação do tecido cerebral saudável com aquele do paciente com DA, cuja região do hipocampo foi afetada pela reação inflamatória insidiosa, acarretando a perda neuronal e atrofia da região central.

**Figura 4. Ilustração comparativa do cérebro normal versus Alzheimer.**



Diferença entre tecido cerebral saudável, comparado ao tecido de paciente com DA severa. A perda neuronal e a atrofia do tecido cerebral do portador de DA é acentuadamente notada (MAGALHÃES et. al, 2018).

Além destes biomarcadores ( $A\beta_{1-42}$  e p-Tau), a identificação da prevalência da Apolipoproteína E épsilon 4 ( $APOE^{\epsilon}4$ ) é substancialmente mais alto em pacientes com transtorno cognitivo leve que progridem para DA. Esse achado sugere então que este marcador seja útil na análise da progressão e no possível diagnóstico da doença (FANG et al., 2019). Outras variações genéticas também apresentam caráter sugestivo para diagnóstico ou fatores de risco associados. Um excesso de evidências sugerem que as presenilinas contribuem para uma perda parcial de função no complexo secretase, que afeta várias vias de sinalização e aumenta a vulnerabilidade do cérebro à toxicidade do  $A\beta$ , porém os papéis precisos das mutações na presenilina (*PSEN1* e *PSEN2*) continuam sendo investigadas (NAJ; SCHELLENBERG, 2017).

Embora os biomarcadores encontrados no LCR podem traduzir mais fidedignamente os mecanismos da DA, a busca de marcadores periféricos, como citocinas inflamatórias encontradas no sangue, podem colaborar com o diagnóstico. Isso reduziria o custo, além de ser um procedimento menos invasivo e mais fácil de ser reproduzido em pesquisas (HAZEN et al., 2019).

A busca por outros marcadores pode contribuir ainda com aplicabilidade de terapias adjuvantes. Conforme dito anteriormente, atualmente existem duas classes de fármacos utilizadas na terapia da DA – Inibidores da Acetilcolinesterase e Antagonistas do Receptor do Glutamato NMDA. Restaurar a função da micróglia e astrócitos, bem como modular a função imunológica e neuroinflamatória podem ser novas modalidades terapêuticas (OZBEN; OZBEN, 2019).

O tratamento atual da DA não promove a cura da doença, apenas prorroga o declínio e ameniza alguns sintomas. Conhecer aspectos da neuro-inflamação, as citocinas e seus receptores pode ser o caminho de mecanismos que auxiliem na cura e consolidem a prevenção da doença.

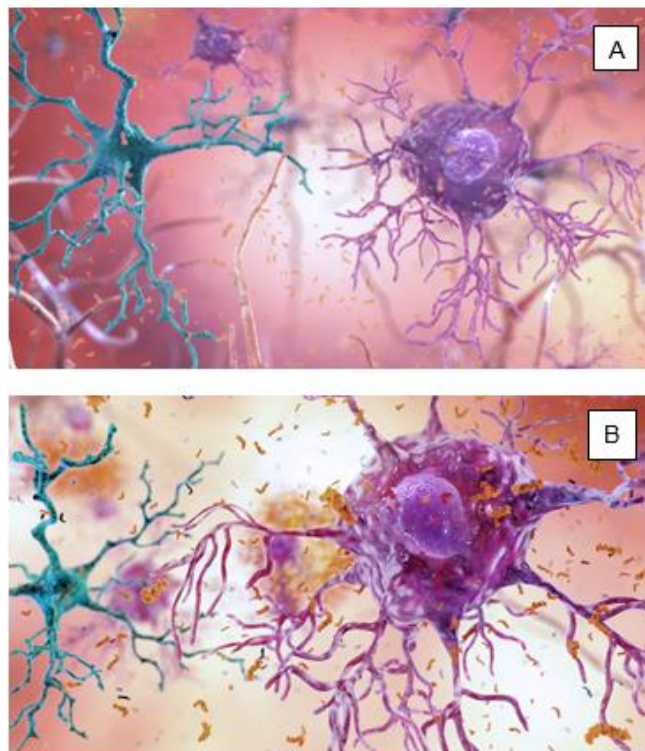
### **3.5 Neuro-inflamação e a patogênese da DA**

Muitos estudos apontam a neuro-inflamação para o envolvimento da progressão das alterações neuropatológica observadas na DA. Há evidências crescentes de que os níveis elevados de citocinas, produzidas pelas células gliais (micróglia e astrócitos), são ponto de gatilho para elevar o transtorno cognitivo leve à progredir para DA (MAGALHÃES et al., 2018).

As principais células imunológicas do sistema nervoso são micróglia e astrócitos (macroglia). Micróglia é o componente celular imunológico do SNC, sendo o principal mediador neuroinflamatório, com importantes mecanismos de neuroproteção e neurodegeneração durante o curso de doenças neurodegenerativas, incluindo DA (HOPP et al., 2018).

Astrócitos são células gliais com várias funções: desempenham um papel ativo na sinaptogênese e neurogênese, neurotransmissão, formação e manutenção da barreira hematoencefálica (BHE); também são importantes para a regulação metabólica, balanceamento iônico e transmissão sináptica. Em muitas doenças neurológicas, como a DA, astrócitos patológicos foram identificados. A astrogliose foi reconhecida no tecido cerebral pós-morte de sujeito com DA e foi encontrada uma correlação entre o grau dessa alteração e o comprometimento cognitivo (CALSOLARO; EDISON, 2016). A figura 5 ilustra astrócitos e micróglia de forma saudáveis e também patológica – nesta, é possível notar a formação desordenada das placas senis e dos emaranhados fibrilares decorrentes da inflamação.

**Figura 5. Ilustração da micróglia e astrócitos saudáveis e em desordem**

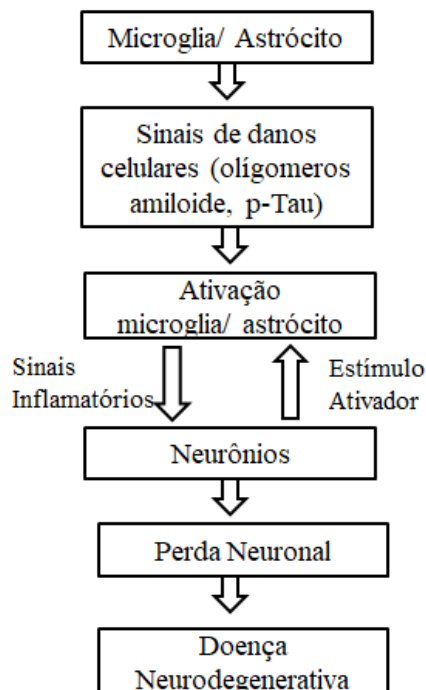


Imagens ilustrativas dos astrócitos e micróglia em comportamento normal (A) e quando apresentam comportamento patológico, degenerativo e provavelmente etiológico da DA (<https://www.nia.nih.gov/alzheimers/alzheimers-scientific-images-and-video>).

Micróglia e astrócitos sintetizam continuamente citocinas inflamatórias, inicialmente no intuito de efetuar atividade neuroprotetora. Com o avançar da DA, aumenta-se a permeabilidade da barreira hematoencefálica – BHE, contribuindo ainda mais para a infiltração e o estímulo da atividade imune e exacerbação da resposta neuro-inflamatória (NG et al., 2018). Além de astrócitos e micróglia, já postulou-se que os próprios neurônios podem servir de fonte da síntese de prostanóides derivados da ciclooxigenase-2 (COX-2), que são mediadores de outras citocinas, tais como interleucinas e TNF- $\alpha$  (WEBERS; HENEKA; GLEESON, 2020).

Há sugestões de que exista um ciclo vicioso entre a formação das placas neuríticas, o emaranhado neurofibrilar e a exacerbação da resposta inflamatória. A hiperfosforilação da t-Tau, associada ao aumento da síntese do peptídeo A $\beta$ <sub>1-42</sub>, provoca elevação da concentração das citocinas pró-inflamatórias (HOPP et al., 2018). A hiperatividade dos astrócitos e micróglia é o ponto de partida para a depuração de células neuronais e a consequente doença neurodegenerativa, conforme ilustra a Figura 6.

**Figura 6. Da ativação da micróglia à neurodegeneração**

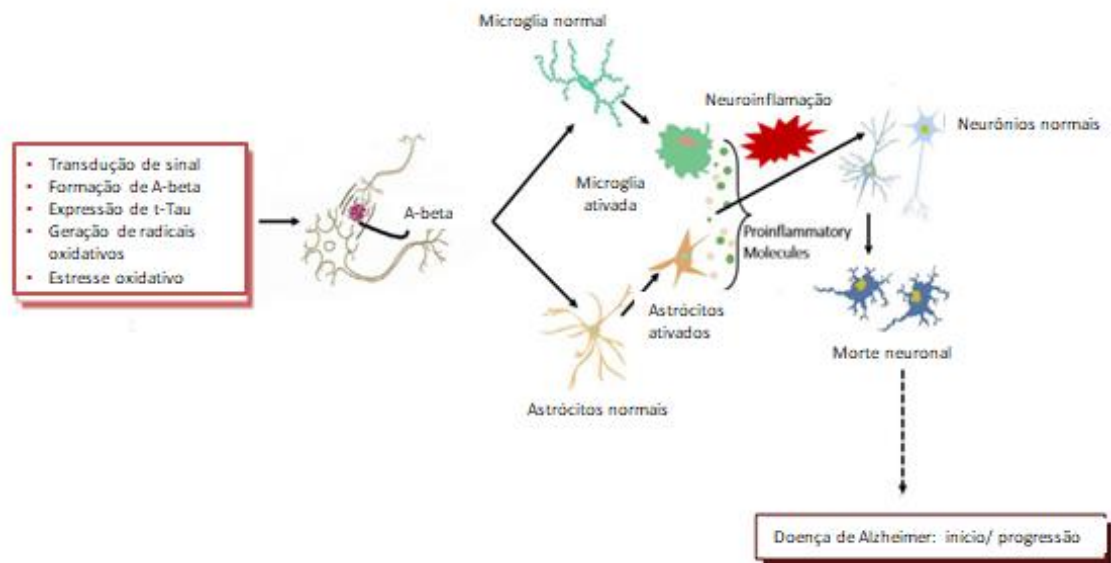


Fluxograma representativo da atividade da micróglia e astrócitos desencadeando a perda neuronal e neurodegeneração. Adaptado de Bagyinszky *et al.*, 2017.

A formação de placas extracelulares de peptídeos A $\beta$ , bem como a hiperfosforilação da proteína Tau e formação NTFs ativam astrócitos e micróglia,

induzindo a produção de fatores pró-inflamatórios. O depósito de agregados A $\beta$ , que decorre da clivagem excessiva ou inadequada de seu precursor (APP) pela  $\beta$ -secretase, é determinante para formação das placas senis (CERQUERA-JARAMILLO et al., 2018).

**Figura 7. Atividade imune central e o início da DA**



Atividade da micróglia e astrócitos desencadeando sinalização inflamatória com posterior morte neuronal e instalação da DA. Adaptado de Ahmad *et al.*, 2018.

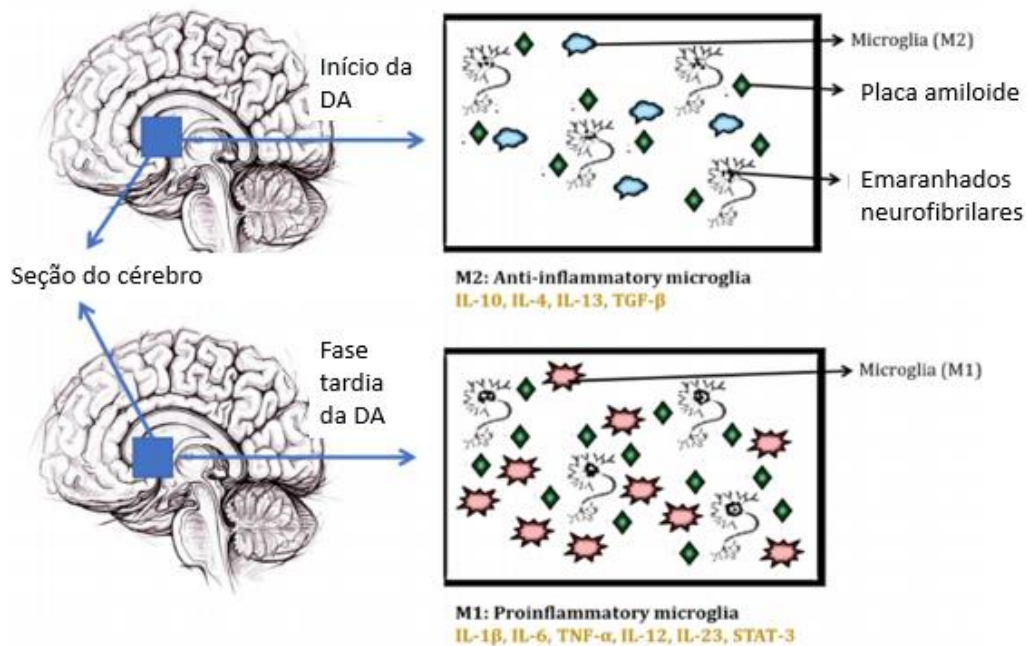
As placas A $\beta$  e o emaranhado neurofibrilar desencadeiam o início da resposta inflamatória, que progride com a DA e eleva a depuração dos neurônios no hipocampo. A atividade da micróglia pode resultar na superativação de fatores pró-inflamatórios, estresse oxidativo, indução de neurocitocinas e a cronificação da resposta inflamatória. Esse achado sugere que essa reação tem ligação direta com a evolução da DA, apresentando elevação da concentração central e periférica de interleucinas, TNF- $\alpha$ , quimiocinas e fatores estimuladores de colônias de células de defesa, conforme Figura 7 (AHMAD; FATIMA; MONDAL, 2018).

### 3.6 Interleucinas inflamatórias e sua correlação com a DA

As interleucinas participam ativamente da evolução da DA. Inicialmente, na fase precoce da doença, há produção de diversas interleucinas anti-inflamatórias, as quais inibem a proliferação de outras citocinas pró-inflamatórias. Com a evolução da doença, estas interleucinas são suprimidas e abrem espaço para proliferação de

interleucinas que induzem a inflamação, o estresse oxidativo, a formação de placas amiloides e neurofibrilares, conforme Figura 8 (KAUR; SHARMA; DESHMUKH, 2019).

**Figura 8. Interleucinas anti e pró-inflamatórias na DA**



Atividade comparativa de diversas interleucinas durante o curso da DA. Na fase inicial, nota-se predominância de interleucinas anti-inflamatórias, como IL-10, IL-4 e IL-13. Na fase tardia da doença, há predomínio de interleucinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-6, IL-12 e IL-23. Adaptado de KAUR, SHARMA, DESHMUKH, 2019.

Semelhante a outras desordens neuropsiquiátricas, a DA é potencialmente relacionada com a exposição de múltiplos genes inflamatórios, especialmente os genes que codificam as interleucinas IL-1A e IL-1B. Estudos recentes sugerem evidências de que essas citocinas estão intimamente ligadas com a progressão do estágio avançado da DA, o que reforça a possibilidade destas substâncias tornarem-se marcadores e auxiliarem o diagnóstico da doença (DONG et al., 2017).

Evidências aludem que há uma importante função no polimorfismo genético da IL-1 $\beta$  e seu significativo aumento de concentração na modulação de pacientes com DA. A IL-1 $\beta$  desempenha papel importante na sinapse hipocampal, a qual está implicada na patogênese da DA (HUANG et al., 2017).

A IL-1 derivada da micróglia é predominantemente expressa em pacientes com DA. Além disso, a elevação desta interleucina está associada ao aumento da expressão de acetilcolinesterase, enzima responsável pela clivagem da acetilcolina, induzindo disfunção colinérgica e portanto prejuízo cognitivo (KAUR; SHARMA; DESHMUKH, 2019).

Estudos apontam que a IL-1 é um importante fator desencadeador para síntese de APP, além de outras citocinas, como a IL-6. Como visto anteriormente, a clivagem errônea de APP, induz a síntese de peptídeo tóxico e imunogênico. Em pacientes falecidos por conta de traumatismo craniano, foi observado aumento do depósito de A $\beta$  em menos de três semanas após o evento (KINNEY et al., 2018).

Outra interleucina pertencente à superfamília IL-1, a IL-33 (também conhecida como IL-1F11), apresenta alteração da concentração plasmática em pacientes com distúrbios neurológicos, inclusive demência. Porém, a IL-33 tem características tanto pró como anti-inflamatórias, tornando sua participação na DA ainda um tanto incerta quanto a atividade citoprotetora ou reação inflamatória e citotóxica (ABD RACHMAN ISNADI et al., 2018).

Diante da ação dúbia desta citocina, diversos ensaios tentaram elucidar sua principal função na cascata inflamatória em pacientes com DA. Estudos recentes revelam o aumento da exposição tanto desta interleucina, quanto do seu receptor – o ST2, no córtex de pacientes com DA, sugerindo que a mesma apresenta caráter inflamatório proeminente. Sugere-se ainda que esta dicotomia varia, dentre outros fatores, com a população estudada e com diversos padrões epigenéticos (XIONG et al., 2014).

A IL-6 é uma citocina também produzida pela micróglia e astrócitos na região do hipocampo, em especial quando responde ao aumento da formação das placas A $\beta$ <sub>1-42</sub>. Diversas evidências sugerem que há correlação direta entre o aumento da concentração periférica e central de IL-6 com a evolução das placas senis de A $\beta$  (WU et al., 2015).

Fator ativador de células B, a IL-6 tem também caráter duvidoso no curso de doenças inflamatórias. Desde a década de 80, a IL-6 tem sido foco da indústria farmacêutica, pois se mostra um importante gatilho para início e progressão de muitas condições patológicas, como artrite reumatoide e doença inflamatória intestinal. A superprodução de IL-6 no SNC leva à neurodegeneração e prejuízo

cognitivo. Apesar desses achados, evidências sugerem que a falta de sinalização de IL-6 provoca lesão traumática no SNC, devido seu efeito neurotrófico e regenerador de nervos periféricos (ROTHAUG; BECKER-PAULY; ROSE-JOHN, 2016).

A IL-17A, cuja principal fonte é proveniente de macrófagos, células T e linfócitos, ativa o NF- $\kappa$ B, um potenciador de genes que estimulam a resposta imunológica e inflamatória, devido seu caráter proliferativo em linfócitos T. De forma equivalente, a IL-23, ao ativar seu receptor (IL-23R), promove a diferenciação e amadurecimento das células Th. Sabe-se que tanto a IL-17A quanto a IL-23 desempenham importante papel nas doenças autoimunes e neurodegenerativas, mas ainda é necessário estudar suas funções potenciais (SHAHROKHI et al., 2018).

### **3.7 O TNF- $\alpha$ e o agravamento da DA**

Entre as citocinas envolvidas na neuroinflamação, o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) é o mais estudado e desempenha um papel essencial na resposta inflamatória. Os níveis dessa citocina estão costumeiramente elevados no sangue de pacientes com DA (SUMBRIA; CHANG; YEE, 2017).

Embora tenha sido sugerido que um cérebro saudável tenha níveis baixos de TNF- $\alpha$ , pacientes com doenças neurodegenerativas apresentam níveis elevados desta citocina. Análises *post-mortem* de cérebros de pacientes com DA revelou alta concentração de TNF- $\alpha$  nas placas amiloidogênicas (KIM; LEE; KIM, 2017).

TNF- $\alpha$  é uma citocina que induz a resposta imunológica e inflamatória, tendo seu papel bem demonstrado na patogenia da DA. A elevação da concentração plasmática de TNF- $\alpha$  tem relação direta com a evolução das placas A $\beta$  e o estresse oxidativo decorrente da doença. Em adição a isto, alguns estudos, ao utilizar modelos animais de DA, sinalizam que a redução da concentração central de TNF- $\alpha$  pode diminuir a formação das placas A $\beta$  (DEZFULIAN, 2018).

Seguindo essa mesma linha de entendimento, outras pesquisas, também utilizando modelos animais para DA, investigaram o uso de inibidores de TNF- $\alpha$ . Os estudos mostraram que houve redução da formação das placas A $\beta$ , bem como a melhora da cognição. Essa evidência auxilia a concretizar a ideia de que os receptores de TNF- $\alpha$  podem ser alvos para fármacos no tratamento da doença (EKERT et al., 2018).

### 3.8 Outras quimiocinas moduladoras da progressão da DA

Os astrócitos são células importantes e abundantes no SNC. Têm função de nutrir, manter o balanço iônico, bem como reparar disfunções neuronais. Com a amplificação da resposta inflamatória, os astrócitos elevam a taxa de produção de citocinas e quimiocinas. Estas, subdividem-se de acordo com sua estrutura proteica em quatro grupos -  $\alpha$  (CXC),  $\beta$  (CC),  $\gamma$  (CX3C) e  $\delta$  (C) (LIU et al., 2014).

Algumas quimiocinas apresentam caráter modulador das reações de quimiotaxia, podendo inclusive desenvolver efeitos anti-inflamatórios. Dentre das quimiocinas com efeito *upregulation* na resposta imune e neuroinflamatória, a família CX3C é bastante evidenciada na progressão da DA (AZIZI; KHANNAZER; MIRSHAFIEY, 2014).

O ligante de quimiocina CX3C-1 (CX3C-L1, também denominado fractalcina) desempenha um papel importante na redução da neuro-inflamação e é altamente expresso na principal área de patologia na DA, como o hipocampo e o córtex cerebral. Esse achado ainda não é conclusivo, pois existe variação dessa neuroproteção no curso da doença (CHEN et al., 2016).

Fractalcina é expressa por neurônios e por células endoteliais periféricas e seu receptor é produzido por células mieloides, incluindo micróglia. Na periferia, a fractalcina pode promover adesão de monócitos e células T ao endotélio, estimulando a quimiotaxia. Evidências sugerem relação direta entre a exacerbação da ação de fractalcina e a degeneração neuronal (FINNERAN; NASH, 2019).

Apesar de pouco elucidado, os ensaios em modelos animais com DA sugerem que há efeito protetor com o déficit de receptores da CX3C no SNC, tornando o seu receptor (CX3CR1) um possível alvo terapêutico (MARTIN, 2018).

Diante do exposto, diversas são as citocinas pró-inflamatórias que podem ser correlacionadas com a progressão da DA, tais como interleucinas, TNF- $\alpha$  e quimiocinas de diversas classes. O Quadro 1 apresenta uma relação de citocinas inflamatórias comumente encontradas no LCF de pacientes com DA e são apontadas como possíveis marcadores da doença.

**Quadro 1. Citocinas inflamatórias e sua participação na DA**

| Citocinas inflamatórias | Efeito sobre a progressão da DA                            |
|-------------------------|------------------------------------------------------------|
| IL-1A e IL-1B           | ↑ p-Tau<br>↑ síntese de A $\beta$                          |
| IL-33                   | ↑ fosforilação de t-Tau                                    |
| IL-6                    | ↑ p-Tau<br>↑ transcrição de APP                            |
| IL-17 e IL-23           | Estimula NF- $\kappa$ B<br>Agente proliferativo de céls. B |
| TNF- $\alpha$           | ↑ Óxido nítrico<br>↑ síntese de A $\beta$                  |
| CX3C                    | Estimula síntese de citocinas inflamatórias                |

Fonte: Adaptado de Ahmad et al., 2018.

### 3.9 Doenças infectocontagiosas e a possível relação causal da DA

O conhecimento acerca da etiologia da DA está cada vez mais largo e mais explorado. Porém, em diversos casos a etiologia ainda é pouco conhecida, pois a causa da doença pode ser multifacetada. Alguns achados recentes mostram que doenças infecciosas e a consequente resposta inflamatória podem promover a deposição aumentada do peptídeo A $\beta$  no cérebro (SOCHOCKA; ZWOLIŃSKA; LESZEK, 2017). Além disso, a desordem da reação inflamatória ocasiona aumento da permeabilidade da BHE, elevando os níveis de patógenos no SNC (CARTER, 2017).

Pensa-se que a inflamação sistêmica causa avanço progressivo da DA, bem como outras causas sistêmicas e crônicas, como dislipidemias, diabetes melitos e doenças arterioscleróticas associadas à inflamação. De todas essas condições que se relacionam com a progressão da DA, as doenças infecciosas têm uma tendência aumentada de promover um efeito agudo na reação inflamatória, favorecendo à formação de placas neuríticas (KAWAI et al., 2018).

Essas doenças desencadeiam respostas inflamatórias agudas, inclusive a nível central, que inicialmente têm como vantagem a restauração da homeostase na

relação com a depuração do agente invasor e o equilíbrio do sistema imunológico. Entretanto, essas reações podem ser prejudicadas com o envelhecimento, alterando facilmente o estado inflamatório de agudo para crônico, ocasionando degeneração tecidual (SOCHOCKA; ZWOLIŃSKA; LESZEK, 2017).

Múltiplos e diversos patógenos estão sendo implicados na DA em estudos epidemiológicos. Estudos de metanálise correlacionaram infecção por clamídia e herpes simples associados à identificação do alelo APOE4. As evidências também sugerem associação entre demência e infecção viral, como hepatite C e HIV, relacionando-as com deposição da placa amiloide e emaranhado neurofibrilar. A Tabela 1 lista alguns destes patógenos, que podem ser vírus, bactérias, fungos, dentre outros e que requerem investigação acerca do envolvimento dos mesmos e a progressão da DA.

**Tabela 1: Agentes infecciosos com possível relação causal com DA**

|                                                 |
|-------------------------------------------------|
| Agentes Infecciosos (Doenças relacionadas)      |
| <b>Bactéria</b>                                 |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (Tuberculose) |
| <i>Treponema pallidum</i> (Sífilis)             |
| <b>Fungo</b>                                    |
| <i>Cryptococcus</i> (Criptococose)              |
| <b>Vírus</b>                                    |
| HIV (AIDS)                                      |
| HTLV (Leucemia)                                 |
| <b>Protozoário</b>                              |
| <i>Toxoplasma gondii</i> (Toxoplasmose)         |
| <b>Platelmintos</b>                             |
| <i>Taenia solium</i> (Cisticercose)             |
| <i>Taenia saginata</i> (Cisticercose)           |
| <i>Schistosoma mansoni</i> (Esquistossomose)    |

Vários estudos demonstraram que bactérias, organismos virais e parasitários estão ligados a doenças neurodegenerativas. Bayani e colaboradores em 2019 correlacionaram a infecção por clamídia, herpes simples, infecção pelo HIV, hepatite C e alelo APOE4 com a deposição da placa amiloide e emaranhado neurofibrilar, sugerindo possível papel infeccioso na progressão do comprometimento cognitivo. O curso clínico é silencioso em indivíduos imunocompetentes, apesar de haver relatos, entretanto, de distúrbios neuropsiquiátricos (BAYANI et al., 2019).

Micoses disseminadas estão implicadas como agentes causadores ou como fatores de risco da DA. Componentes fúngicos comumente são encontrados em tecidos cerebrais de doentes com Alzheimer, mas não em grupo controle. Adicionalmente, macromoléculas e DNA fúngicos podem ser encontrados tanto no LCR como no sangue periférico de pacientes com DA (ALONSO; PISA, 2017).

Há relatos de que o *Treponema pallidum* pode ser responsável pela amiloidose local, atrofia cortical e demência progressiva na forma atrófica dessa infecção bacteriana crônica. *T. pallidum* pode causar atrofia cortical, demência e as características biológicas e patológicas da DA. Foi relatado também que *T. pallidum* co-infecta frequentemente com outras bactérias como *B. burgdorferi* e vírus do herpes na sífilis. Ainda assim, as pesquisas nesse campo estão em estágio inicial e são necessários mais estudos para determinar a associação entre *T. pallidum* e DA (ASHRAF et al., 2019).

*Toxoplasma gondii* pode ser um importante agente infeccioso envolvido em doenças neurodegenerativas. Um estudo mostrou que o sistema imunológico enfraquecido por *T. gondii* tem efeito positivo na patogênese e progressão da DA (MAHAMI-OSKOU EI et al., 2016).

A infecção por toxoplasma é geralmente assintomática em indivíduos imunocompetentes, embora vários estudos em humanos e modelos animais sugeriram que a toxoplasmose pode estar associada a doenças psiquiátricas e distúrbios neurológicos. Esses distúrbios podem ser devidos à capacidade do parasita de infectar neurônios e células gliais, causando morte nas células neuronais, liberando citocinas inflamatórias e promovendo alterações neuroquímicas (BAYANI et al., 2019).

A longevidade associada à DA nos remete a busca por fatores estressores e mecanismos envolvidos no processo evolutivo do comprometimento cognitivo. Desta forma, investigar a possível correlação da DA com doenças infectocontagiosas é essencial para o entendimento de sua evolução, estabelecimento de formas de prevenção, controle e tratamento (MAHAMI-OSKOU EI et al., 2016). Mahami-oskouei e colaboradores, em 2016, associaram a infecção pelo *Toxoplasma gondii* com o processo de neurodegeneração, patogênese e progressão para a DA, relacionado, provavelmente, às características desse protozoário como o neutropismo obrigatório e ampla distribuição mundial.

A neuro-inflamação comumente encontrada em pacientes com DA pode também ter relação direta com infecções virais. Há relatos de que o vírus da hepatite C e especialmente o vírus da imunodeficiência humana (HIV) , dentre outros, causa deposição aumentada da placa amiloide e desordens demenciais (CARTER, 2017).

Diante do exposto, fortes associações foram observadas entre aumento da carga infecciosa e níveis séricos mais altos de citocinas inflamatórias e marcadores A $\beta$  séricos em pacientes com DA. Infecções crônicas causadas por esses patógenos podem resultar em distúrbios vasculares cardiocerebrais, evidenciando a associação entre infecções e DA. Esses agentes infecciosos têm sido associados ao declínio cognitivo e estão envolvidos no início e progressão da doença (LIM; RODRIGUEZ-ORTIZ; KITAZAWA, 2015).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este projeto foi subdividido em um estudo de corte transversal com análise retrospectiva dos prontuários médicos e variáveis envolvidas para avaliação da relação entre doenças infectocontagiosas e DA; a segunda fase constou de um levantamento de dados, através de revisão sistemática com modelo PRISMA, a fim de avaliar o papel das citocinas inflamatórias no processo de etiologia e progressão da DA.

### 4.1 População e desenho do estudo

Cinquenta e um pacientes foram incluídos neste estudo retrospectivo. Todos foram submetidos a punção lombar em clínica especializada entre junho de 2018 e novembro de 2019. Os critérios diagnósticos de 2011 propostos pelo National Institute on Aging and the Alzheimer's Association (NIA-AA) foram utilizados por neurologistas assistentes para o diagnóstico de DA ou DCL nos participantes do estudo. Este artigo foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNEB - Universidade Estadual da Bahia sob o protocolo nº. 22913919.4.0000.0057.

### 4.2 Coleta e preparação de amostras

As amostras de LCR foram coletadas em rotina de diagnóstico por meio de punção lombar (LP) no espaço intermediário L3-4 ou L4-5 em condicionadas em tubos de polipropileno de 6 mL e 9 mL (BD, EUA), de acordo com a técnica estéril padrão. As amostras foram processadas e congeladas a -20 ° C após análise. A análise microscópica da citologia do LCR, contagem de células e diferencial foi realizada dentro de duas horas da amostragem. Analisadores Integra 400 e E411 (Roche, Alemanha) e kits de laboratório apropriados foram usados para realizar marcadores de infecção como o anticorpo *Toxoplasma gondii* e todas as análises bioquímicas, incluindo lactato desidrogenase (LDH), ureia, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), albumina, proteína total, lactato e glicose. Ensaio de imuno-absorção enzimática (ELISA) (Euroimmun,

Alemanha) foram usados para determinar os níveis de beta-amilóide (A $\beta$  1-42), tau total (t-tau) e tau fosforilada (p-tau).

### **4.3 Revisão Sistemática**

A análise da relação entre as citocinas inflamatórias e suas funções na progressão da DA foi realizada através de uma revisão sistemática. Este estudo foi desenhado com base no modelo de fluxograma PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses). As palavras-chave que nortearam a busca de evidências foram Doença de Alzheimer, cruzando-a com inflamação e citocinas inflamatórias, usando o operador booleano AND.

A pesquisa foi realizada na base de dados universal NCBI PubMed, além de buscas de referências de artigos originais citados em revisões que analisaram a interrelação entre neuroinflamação, citocinas inflamatórias e a progressão da DA. O protocolo para confecção desta revisão foi submetido ao PROSPERO (ID 218413).

Após a remoção das evidências em duplicata, os títulos e resumos dos artigos foram analisados e selecionados para esta revisão. Dentre os critérios de inclusão, constaram artigos publicados na língua inglesa nos últimos dez anos, estudos realizados em seres humanos, em formato de caso-controle, transversal ou coorte.

Ensaio sobre outros tipos de demência, como demência frontotemporal, demência vascular, demência por corpúsculo de Lewy, dentre outras, foram excluídos deste estudo; bem como aqueles que relacionaram a DA com outras condições etiológicas ou que não se tratava de processo inflamatório e neurodegenerativo oxidativo. Estudos experimentais, seja em células de laboratório ou em animais, foram excluídos.

### **4.4 Análise estatística**

A análise de correlação foi baseada nos coeficientes de Pearson e Spearman para variáveis paramétricas e não paramétricas, respectivamente. Um valor de  $p < 0,05$  foi usado para determinar a significância estatística. O SPSS Statistics (versão 21) foi usado para a criação do banco de dados e todas as análises estatísticas.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Estudo do LCR: Biomarcadores clássicos

O diagnóstico da DA é realizado principalmente através de testes neurológicos clínicos, pois o diagnóstico conclusivo dá-se apenas *post mortem*. Os biomarcadores, portanto, auxiliam tanto a termo de diagnóstico quanto a mensuração da gravidade e expansão da neurodegeneração.

Na tabela 4 estão descritas concentrações líquóricas das proteínas beta-amiloide, T-tau e P-tau em pacientes com suspeita diagnóstica de comprometimento cognitivo leve à DA.

Espera-se que a os valores anormais dos biomarcadores tenham relação positiva com a neuro-inflamação. A exacerbação da resposta inflamatória promove estresse oxidativo nos espaços extra e intracelular, reduzindo, portanto, a concentração de peptídeo A $\beta$  e elevando a fosforilação da t-Tau no líquor. A tabela 2 demonstra os níveis líquóricos de beta-amiloide dos pacientes analisados, os quais apresentaram valores reduzidos, enquanto os achados de t-Tau e p-Tau foram elevados.

**Tabela 2. Beta amiloide 40, Proteína TAU e Proteína Tau Fosforilada em LCR no grupo de pacientes com comprometimento cognitivo leve.**

|                                 | Pacientes<br>Média<br>(ng/L) | Desvio<br>Padrão | Grupo Referência<br>Intervalo em grupo saudável                                |
|---------------------------------|------------------------------|------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Biomarcadores</b>            |                              |                  |                                                                                |
| <b>Amiloide beta-40</b>         | 783,16                       | ±605,12          | 51 a 70 anos: 562,00 a 1018,00 ng/L<br>Acima de 71 anos: 567,00 a 1027,00 ng/L |
| <b>Proteína Tau Total</b>       | 402,37                       | ±303,47          | 51 a 70 anos: 116,00 a 370,00 ng/L<br>Acima de 71 anos: 170,00 a 512,00 ng/L   |
| <b>Proteína Tau Fosforilada</b> | 63,83                        | ±37,48           | 45 a 77 anos: 35,84 a 66,26 ng/L                                               |

É sabido que biomarcadores funcionam como parâmetros bioquímicos, cujo objetivo é auxiliar o diagnóstico de uma determinada doença. A formação de placas senis, através do acúmulo de placas amiloides, somado à deposição de NFTs, são a base inicial da neurodegeneração (FANG et al., 2019). Dentro do contexto dos transtornos demencias, aliado com amplo espectro fenotípico, esse estudo

apresentou dados confirmatórios sobre o balanço das proteínas beta-amilóides e proteínas TAU em LCR no espectro da DA. O estado basal não inflamatório exclui, como esperado, processos agudos como gênese imediata, entretanto os diversos eventos inflamatórios e oxidativos associados à senescência tornam-se alvos para possíveis mecanismos fisiopatológicos crônicos e rotas para novas terapias dentro da DA.

## 5.2 Estudo do LCR: possível relação infectocontagiosa

Foi pesquisado um total de 51 pacientes diagnosticados com DCL ou DA, com idade média de 73 anos, sendo a maioria do sexo masculino. Análise descritiva inicial das características sociodemográficas, aspectos celulares e infecciosas estão tabulados nas Tabelas 3 e 4. Similarmente a outros estudos e epidemiologia de escala global, há maior prevalência da DA em indivíduos do sexo masculino.

Os dados relacionados à raquimetria, colheita do líquido, citologia global e oncológica e microbiologia tiveram correlação negativa com a DA nos pacientes analisados. A correlação negativa dos dados descritos é útil para eliminar possibilidades inflamatórias agudas decorrentes de doenças infecciosas.

**Tabela 3. Características sociodemográficas, perfil celular e infecciosas do grupo de pacientes com comprometimento cognitivo.**

| <b>Características</b> | <b>N (51) (%)</b> | <b>Pacientes<br/>Média± DP(ng/L)</b> |
|------------------------|-------------------|--------------------------------------|
| <b>Idade (Anos)</b>    | 73,00             | ± 10,14                              |
| <b>Gênero</b>          |                   |                                      |
| <b>Masculino</b>       | 27/51 (53%)       | -                                    |
| <b>Feminino</b>        | 24/51 (47%)       | -                                    |
| <b>Raquimetria</b>     |                   |                                      |
| <b>Pressão</b>         | 12,00             | ± 2,85                               |

A correlação negativa entre DA e doenças infecciosas exclui a possibilidade de que a neuro-inflamação tenha caráter transitório ou agudo. Os achados sobre as citocinas inflamatórias tendem a caracterizar e compreender, de forma melhorada, as condições da neurodegeneração promovida pela resposta imuno-inflamatória.

Os resultados revelam uma correlação negativa entre transtorno cognitivo/DA e infecção crônica por sífilis, toxoplasmose, esquistossomose, cisticercose, HIV e

HTLV. De todos os testes, apenas a sorologia para toxoplasmose tem tendência à correlação positiva, conforme Tabela 4. Das amostras coletadas, apenas um paciente (2%) testou positivo para cisticercose e uma amostra considerável (19/51 - 37,3%) apresentou teste reagente para *Toxoplasma gondii* IgG. Há portanto de se considerar a exposição prévia da população estudada ao agente.

Ou e colaboradores em 2020, em uma revisão sistemática com metanálise, colocaram a família Herpesviridae (HSV-1, EBV, HHV-6) como fator de risco promissor para os transtornos demenciais. Entretanto não ficou demonstrada a influência das infecções CMV, *H. pylori* e *T. gondii* na gênese e progressão da DA (OU et al., 2020).

**Tabela 4. Características imuno-inflamatórias do grupo de pacientes com comprometimento cognitivo leve.**

| <b>Características</b>  | <b>N</b> | <b>Pacientes<br/>Média± DP(ng/L)</b> |
|-------------------------|----------|--------------------------------------|
| <b>Imunologia</b>       |          |                                      |
| <b>Reação de Pandy</b>  |          |                                      |
| Não Reagente            | 51/51    | -                                    |
| Reagente                | 0/51     | -                                    |
| <b>VDRL</b>             |          |                                      |
| Não Reagente            | 51/51    | -                                    |
| Reagente                | 0/51     | -                                    |
| <b>FTA ABS IGG</b>      |          |                                      |
| Não Reagente            | 51/51    | -                                    |
| Reagente                | 0/51     | -                                    |
| <b>Toxoplasmose IGG</b> |          |                                      |
| Não Reagente            | 32/51    | -                                    |
| Reagente                | 19/51    | -                                    |
| <b>Toxoplasmose IGM</b> |          |                                      |
| Não Reagente            | 51/51    | -                                    |
| Reagente                | 0/51     | -                                    |
| <b>Cisticercose IGG</b> |          |                                      |
| Não Reagente            | 50/51    | -                                    |
| Reagente                | 1/51     | -                                    |
| <b>Esquistossomose</b>  |          |                                      |
| IGG Não Reagente        | 51/51    | -                                    |
| Reagente                | 0/51     | -                                    |
| <b>HIV1 e 2</b>         |          |                                      |
| Não Reagente            | 51/51    | -                                    |
| Reagente                | 0/51     | -                                    |
| <b>HTLV1 e 2</b>        |          |                                      |
| Não Reagente            | 51/51    | -                                    |
| Reagente                | 0/51     | -                                    |

Um estudo realizado em 2016 no Irã mostra resultados equivalentes a este. Aproximadamente 60% da população estudada apresenta IgG Anti-Toxoplasma positivo, enquanto há negatividade para IgM Anti-toxicoplasmose, indicando que a amostra teve contato com o protozoário, porém não há condição aguda a ser considerada (MAHAMI-OSKOU EI et al., 2016).

Uma metanálise publicada recentemente concluiu que há relação positiva entre doenças neurológicas degenerativas e infecção por toxoplasma, em especial a Doença de Parkinson. Ao correlacionar com DA, os dados não são significativos, sugerindo que sejam feitos novos estudos (BAYANI et al., 2019).

Em 2016 Perry e colaboradores apresentaram, em um grupo de pacientes com DA avançada, frequência elevada de toxoplasmose latente na amostra de LCR no estado norte americano do Missouri. Apesar dessa prevalência, não foi encontrada correlação positiva entre as variáveis (PERRY et al., 2016). Esses dados são próximos aos encontrados neste estudo, onde foi descrito frequência elevada da IgG anti-*Toxoplasma gondii*, apesar de não ter sido demonstrada correlação com os biomarcadores clássicos de diagnóstico.

Nayeri e colaboradores, em 2019, consideraram que a infecção aguda pelo toxoplasma provavelmente não é o mecanismo mais provável no desencadeamento dos transtornos demenciais, apesar da elevada prevalência de contato prévio com o *Toxoplasma gondii* em pacientes com DA (NAYERI CHEGENI et al., 2019).

Ensaio em modelos animais realizados com camundongos infectados com *T. gondii* demonstraram que alterações fisiopatológicas associadas aos transtornos demenciais, como deposição de A $\beta$ <sub>1-42</sub>, expressão de t-Tau, disfunção neuronal e alterações de comportamento podem esclarecer as possíveis rotas envolvidas na gênese da DA. Entretanto não deve ser traçada uma correlação linear entre países com elevadas taxas de contaminação pelo *Toxoplasma gondii* e o aumento de prevalência da DA (TORRES et al., 2018).

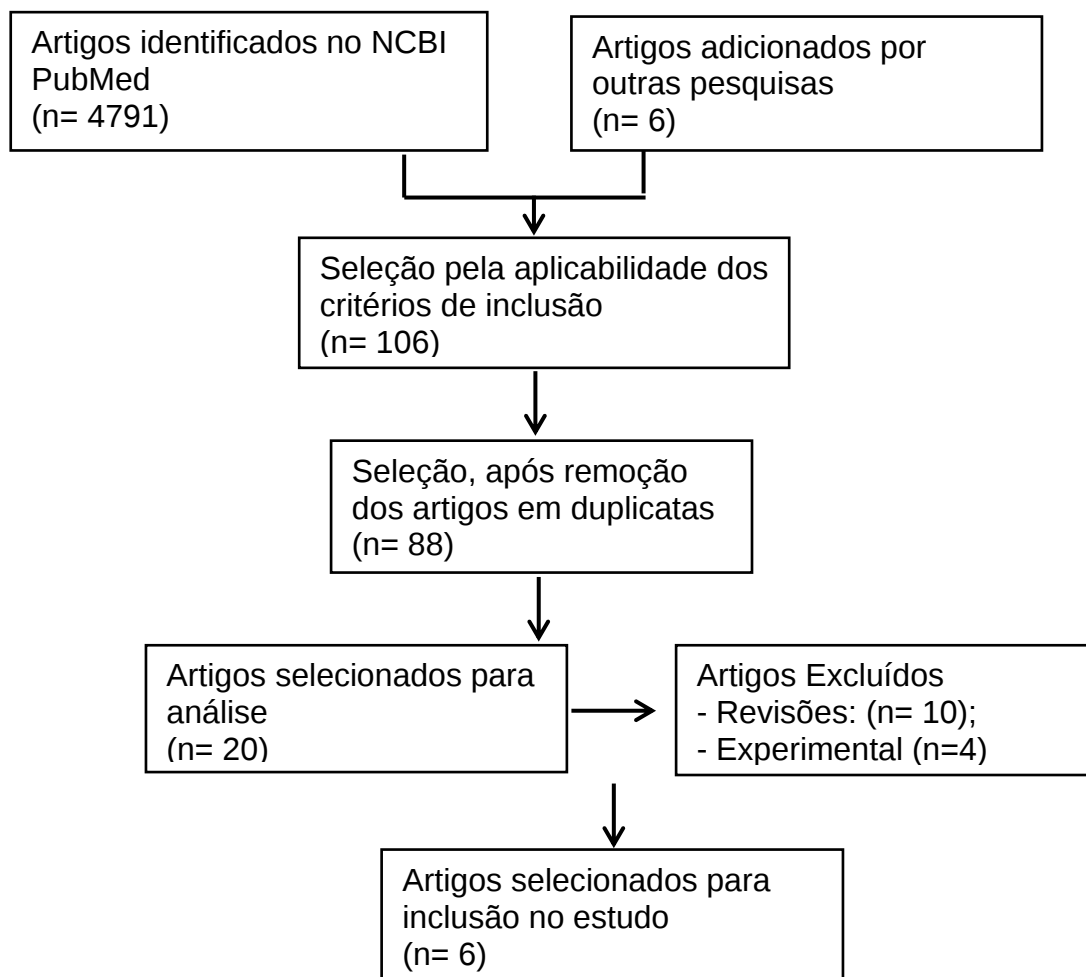
Itzhaki e colaboradores, em 2020, refutaram a possível causa infecciosa dos transtornos demenciais, colocando a toxoplasmose apenas como variável de comorbidade (ITZHAKI et al., 2020). Em contrapartida, outro estudo, desta vez coordenado por Ortiz-Guerrero em 2020, colocou a infecção pelo *Toxoplasma gondii* como fator promissor de prognóstico ou exacerbador potencial do comprometimento cognitivo. Esse achado consolida o impacto da infecção em mudanças nas concentrações de neurotransmissores responsáveis pela memória, cognição e

resposta motora, como GABA, glutamato e dopamina (ORTIZ-GUERRERO et al., 2020).

### 5.3 Análise do papel das citocinas inflamatórias

Nossa revisão bibliográfica contou com o resultado de 4797 artigos encontrados. Após a análise dos resumos dos artigos, 4691 foram excluídos, resultando num total de 106 estudos incluídos para análise, conforme mostra a figura 9.

**Fig. 9. Diagrama de fluxo PRISMA para inclusão de estudos sobre neuroinflamação e DA.**



Após remoção dos artigos duplicados, restaram 88 publicações. Destes, vinte foram selecionados, após leitura de título e resumo. Artigos de revisão e

experimentais foram excluídos finalmente, restando apenas seis artigos a serem analisados.

Diversas citocinas pró-inflamatórias, em especial interleucinas, quimiocinas e TNF-alfa, foram identificadas e catalogadas após a análise destes artigos e suas ações e interferências na progressão da DA serão discutidas a seguir. Os dados mais relevantes de cada artigo, como ano de publicação, primeiro autor e, especialmente, o desfecho da participação da citocina inflamatória na DA, foram catalogados, conforme Tabela 5.

**Tabela 5. Relação de estudos que correlacionam os níveis e a interferência de citocinas inflamatórias com a progressão da DA.**

| <b>Primeiro autor (Ano)</b> | <b>Objetivo do trabalho</b>                                                                                                       | <b>Considerações fisiopatológicas</b>                                                                                                                          |
|-----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>ASSELINEAU (2015)</b>    | Investigar o papel da IL-10, em combinação com polimorfismo de IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1 e INF- $\gamma$        | Aumento significativo da produção de IL-10<br>Progressão da doença: IL-10↑<br>INF- $\gamma$ : reduz a concentração mediante da progressão                      |
| <b>HUANG (2017)</b>         | Avaliar se o polimorfismo de IL-1 $\beta$ pode modular o desempenho neurocomportamental                                           | A diferença genotípica da IL analisada (do tipo TT) modula o padrão neurodegenerativo                                                                          |
| <b>KAWAI (2018)</b>         | Analisar a relação entre IL-6 e TNF- $\alpha$ e a função cognitiva de pacientes com DA                                            | Níveis de IL-6, TNF- $\alpha$ e PCR* não diferem entre grupo controle e doentes com DA, mas elevam diante traumas e comorbidades                               |
| <b>MAGALHÃES (2017)</b>     | Detectar diferenças nos padrões de citocinas, como IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, IL-12 e TNF- $\alpha$ na DA e transtorno cognitivo | Para DA, a única citocina que apresentou diferença significativa foi a IL-1 $\beta$ , em estágio leve da doença                                                |
| <b>WU (2015)</b>            | Identificar biomarcadores plasmáticos clinicamente úteis e encontrar relação entre distribuição periférica e central              | IL-18 plasmática em declínio, mediante progressão da DA<br>Redução dos níveis de TRAIL**<br>Elevação dos níveis de IL-6<br>Níveis de fractalcina sem alteração |
| <b>XIONG (2013)</b>         | Analisar a expressão de IL-33 e seu receptor ST2 nos cérebros de pacientes com DA                                                 | Aumento significativo da concentração de IL-33 e expressão do receptor                                                                                         |

Tabela 6. Relação de estudos que correlacionam os níveis e a interferência de citocinas inflamatórias com a progressão da DA.

\*PCR: Proteína C Reativa

\*\*TRAIL: ligante do fator relacionado a indução de apoptose

Interleucinas IL-1 $\beta$ , IL-10 e IL-33 apresentaram elevação significativa de concentração no cérebro e plasma de pacientes com DA. Diferenças genótípicas de IL-1 parece modular o padrão de neurodegeneração e progressão da doença. TNF- $\alpha$  e PCR não apresentaram diferença, a não ser que haja alguma injúria que estimule a síntese, o que parece interferir negativamente em testes de cognição. A IL-6 apresentou resultados ambíguos em estudos diferentes, com padrão ainda não definido (WU et al., 2015).

Enquanto a IL-1 $\beta$  tem concentração aumentada no início do curso da doença, a IL-10 tem tendência a elevar a concentração, mediante progressão. Similar ao que acontece com IL-1 $\beta$ , o INF- $\gamma$  e IL-18 também tiveram concentrações reduzidas na fase tardia da DA (BOZA-SERRANO et al., 2018).

A IL-33, assim como seu receptor (ST2) tiveram expressão aumentada no cérebro, compatível com o aumento da concentração de peptídeos derivados de  $\beta$ -amiloide.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados preliminares, nota-se predisposição da redução da concentração do peptídeo A $\beta$ , bem como elevação dos níveis de p-Tau, certificando a condição clínica de neurodegeneração dos pacientes analisados.

Apesar da ausência de correlação, a alta prevalência de infecção por *T. gondii* em pacientes com DA sugere a necessidade de maiores estudos, a fim de investigar a relação entre estas duas condições.

Acredita-se que a neurodegeneração esteja acompanhada pelos níveis aumentados de citocinas inflamatórias, especialmente interleucinas e TNF- $\alpha$ .

A falta de correlação entre imuno-inflamação decorrente de doenças infecciosas exclui a inflamação aguda como promotora do quadro clínico, fomentando ainda mais a necessidade de avaliar o perfil das citocinas.

## Referências

ABD RACHMAN ISNADI, M. F. et al. Critical Roles of IL-33/ST2 Pathway in Neurological Disorders. **Mediators of Inflammation**, v. 2018, 2018.

AHMAD, M. H.; FATIMA, M.; MONDAL, A. C. Influence of microglia and astrocyte activation in the neuroinflammatory pathogenesis of Alzheimer ' s disease : Rational insights for the therapeutic approaches. **Journal of Clinical Neuroscience**, 2018.

ALONSO, R.; PISA, D. rre cte d Un Au tho r P roo f Identification of Fungal Species in Brain roo f rre cte d Au tho Un. 2017.

ASHRAF, G. M. et al. The Possibility of an Infectious Etiology of Alzheimer Disease. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 6, p. 4479–4491, 2019.

ASSELINÉAU, D. et al. Interleukin-10 Production in Response to Amyloid- $\beta$  Differs between Slow and Fast Decliners in Patients with Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 46, n. 4, p. 837–842, 2015.

AZIZI, G.; KHANNAZER, N.; MIRSHAFIEY, A. American Journal of Alzheimer ' s Disease and Other Dementias The Potential Role of Chemokines in Alzheimer ' s Disease Pathogenesis. 2014.

BAGYINSZKY, E. et al. Role of inflammatory molecules in the Alzheimer's disease progression and diagnosis. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 376, p. 242–254, 2017.

BAYANI, M. et al. Acta Tropica Toxoplasma gondii infection and risk of Parkinson and Alzheimer diseases : A systematic review and meta-analysis on observational studies. **Acta Tropica**, v. 196, n. May, p. 165–171, 2019.

BOSTANCIKLIOĞLU, M. An update on the interactions between Alzheimer's disease, autophagy and inflammation. **Gene**, v. 705, n. March, p. 157–166, 2019.

BOZA-SERRANO, A. et al. Innate immune alterations are elicited in microglial cells before plaque deposition in the Alzheimer's disease mouse model 5xFAD. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–16, 2018.

BU, X. L. et al. A study on the association between infectious burden and Alzheimer's disease. **European Journal of Neurology**, v. 22, n. 12, p. 1519–1525, 2015.

BURMEISTER, A. R.; MARRIOTT, I. The Interleukin-10 Family of Cytokines and Their Role in the CNS. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 12, n. November, p. 458, 2018.

CALSOLARO, V.; EDISON, P. Neuroinflammation in Alzheimer ' s disease : Current evidence and future directions. **Alzheimer's & Dementia**, n. May, p. 1–14, 2016.

CARTER, C. J. Genetic, Transcriptome, Proteomic, and Epidemiological Evidence for Blood-Brain Barrier Disruption and Polymicrobial Brain Invasion as Determinant Factors in Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease Reports**, v. 1, n. 1, p. 125–157, 2017.

CERQUERA-JARAMILLO, M. A. et al. Visual Features in Alzheimer ' S Disease : From Basic Mechanisms To Clinical Overview. **Neural Plasticity**, v. 2018, p. 1–21, 2018.

CHEN, P. et al. CX3CL1 / CX3CR1 in Alzheimer ' s Disease : A Target for Neuroprotection. v. 2016, 2016.

CUMMINGS, J. L.; TONG, G.; BALLARD, C. Treatment Combinations for Alzheimer's Disease: Current and Future Pharmacotherapy Options. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 67, n. 3, p. 779–794, 2019.

DEZFULIAN, M. A new Alzheimer's disease cell model using B cells to induce beta amyloid plaque formation and increase TNF alpha expression. **International Immunopharmacology**, v. 59, n. October 2017, p. 106–112, 2018.

DONG, X. et al. Association Between Interleukin-1A, Interleukin-1B, and Bridging integrator 1 Polymorphisms and Alzheimer's Disease: a standard and Cumulative Meta-analysis. **Molecular Neurobiology**, v. 54, n. 1, p. 736–747, 2017.

EKERT, J. O. et al. TNF alpha inhibitors in alzheimer's disease: A systematic review. **International Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 33, n. 5, p. 688–694, 2018.

ERATNE, D. et al. Alzheimer's disease: clinical update on epidemiology, pathophysiology and diagnosis. **Australasian Psychiatry**, v. 26, n. 4, p. 347–357, 2018.

FANG, Y. et al. Evaluation of hippocampal volume and serum brain-derived neurotrophic factor as potential diagnostic markers of conversion from amnesic mild cognitive impairment to Alzheimer disease A STROBE-compliant article. **Medicine (United States)**, v. 98, n. 30, 2019.

FINNERAN, D. J.; NASH, K. R. Neuroinflammation and fractalkine signaling in Alzheimer's disease. **Journal of Neuroinflammation**, v. 16, n. 1, p. 1–8, 2019.

GANDY, S.; DEKOSKY, S. T. Toward the Treatment and Prevention of Alzheimer's Disease: Rational Strategies and Recent Progress. **Annual Review of Medicine**, v. 64, n. 1, p. 367–383, 2013.

GAUGLER, J. et al. 2016 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimer's and Dementia**, v. 12, n. 4, p. 459–509, 2016.

HAZEN, J. et al. Memory Clinic Patients With Mild Cognitive Impairment or Dementia. v. 00, n. 00, p. 1–7, 2019.

HOPP, S. C. et al. The role of microglia in processing and spreading of bioactive tau seeds in Alzheimer's disease 11 Medical and Health Sciences 1109 Neurosciences. **Journal of Neuroinflammation**, v. 15, n. 1, p. 1–15, 2018.

HUANG, C. et al. Genetic effect of interleukin-1 beta ( C-511T ) polymorphism on the

structural covariance network and white matter integrity in Alzheimer ' s disease. **Journal of Neuroinflammation**, p. 1–13, 2017.

ITZHAKI, R. F. et al. Do infections have a role in the pathogenesis of Alzheimer disease? **Nature Reviews Neurology**, v. 16, n. 4, p. 193–197, 2020.

KAUR, D.; SHARMA, V.; DESHMUKH, R. Activation of microglia and astrocytes: a roadway to neuroinflammation and Alzheimer's disease. **Inflammopharmacology**, v. 27, n. 4, p. 663–677, 2019.

KAWAI, U. et al. Relationship of systemic inflammation and cellular immunity with advancement of cognitive decline in patients with Alzheimer's disease. **Clinical and Experimental Neuroimmunology**, v. 9, n. 3, p. 182–188, 2018.

KIM, Y. S.; LEE, K. J.; KIM, H. Serum tumour necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6 levels in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. **Psychogeriatrics**, v. 17, n. 4, p. 224–230, 2017.

KINNEY, J. W. et al. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions**, n. September, p. 1–16, 2018.

LIM, S. L.; RODRIGUEZ-ORTIZ, C. J.; KITAZAWA, M. Infection, systemic inflammation, and Alzheimer's disease. **Microbes and Infection**, v. 17, n. 8, p. 549–556, 2015.

LIU, C. et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: Chemokines produced by astrocytes and chemokine receptors. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 7, n. 12, p. 8342–8355, 2014.

MAGALHÃES, T. N. C. et al. Systemic Inflammation and Multimodal Biomarkers in Amnesic Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. **Molecular Neurobiology**, v. 55, n. 7, p. 5689–5697, 2018.

MAHAMI-OSKOU EI, M. et al. Toxoplasmosis and Alzheimer: can *Toxoplasma gondii* really be introduced as a risk factor in etiology of Alzheimer? **Parasitology Research**, v. 115, n. 8, p. 3169–3174, 2016.

MARTIN, E. ScienceDirect Complex role of chemokine mediators in animal models of Alzheimer ' s Disease. p. 1–7, 2018.

NAJ, A. C.; SCHELLENBERG, G. D. Genomic variants, genes, and pathways of Alzheimer's disease: An overview. **American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics**, v. 174, n. 1, p. 5–26, 2017.

NAYERI CHEGENI, T. et al. Is *Toxoplasma gondii* a potential risk factor for Alzheimer's disease? A systematic review and meta-analysis. **Microbial Pathogenesis**, v. 137, n. September, 2019.

NG, A. et al. IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF-  $\alpha$  and CRP in Elderly Patients with Depression or Alzheimer's disease: Systematic Review and Meta-Analysis. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–12, 2018.

OLSSON, B. et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Neurology**, v. 15, n. 7, p. 673–684, 2016.

ORTIZ-GUERRERO, G. et al. Pathophysiological Mechanisms of Cognitive Impairment and Neurodegeneration by *Toxoplasma gondii* Infection. **Brain Sciences**, v. 10, n. 6, p. 369, 2020.

OU, Y.-N. et al. Associations of Infectious Agents with Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 75, n. 1, p. 299–309, 2020.

OZBEN, T.; OZBEN, S. Neuro-inflammation and anti-inflammatory treatment options for Alzheimer's disease. **Clinical Biochemistry**, v. 72, p. 87–89, 2019.

PANZA, F. et al. A critical appraisal of amyloid- $\beta$ -targeting therapies for Alzheimer disease. **Nature Reviews Neurology**, v. 15, n. 2, p. 73–88, 2019.

PERRY, C. E. et al. Seroprevalence and Serointensity of Latent *Toxoplasma gondii* in a Sample of Elderly Adults with and Without Alzheimer Disease. **Alzheimer Disease and Associated Disorders**, v. 30, n. 2, p. 123–126, 2016.

PINTO, T. C. C. et al. Is the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) screening superior to the Mini-Mental State Examination (MMSE) in the detection of mild cognitive impairment (MCI) and Alzheimer's Disease (AD) in the elderly? **International Psychogeriatrics**, v. 31, n. 4, p. 491–504, 2019.

ROTHAUG, M.; BECKER-PAULY, C.; ROSE-JOHN, S. The role of interleukin-6 signaling in nervous tissue. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research**, v. 1863, n. 6, p. 1218–1227, 2016.

SHAHROKHI, V. M. et al. IL-17A and IL-23 : plausible risk factors to induce age-associated inflammation in Alzheimer ' s disease. **Immunological Investigations**, v. 00, n. 00, p. 1–11, 2018.

SOCHOCKA, M.; ZWOLIŃSKA, K.; LESZEK, J. The Infectious Etiology of Alzheimer's Disease. **Current Neuropharmacology**, v. 15, n. 7, p. 996–1009, 2017.

SUMBRIA, R.; CHANG, R.; YEE, K.-L. Tumor necrosis factor  $\alpha$  Inhibition for Alzheimer's Disease. **Journal of Central Nervous System Disease**, v. 9, n. 0, p. 0–4, 2017.

TÖNNIES, E.; TRUSHINA, E. Oxidative Stress, Synaptic Dysfunction, and Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 57, n. 4, p. 1105–1121, 2017.

TORRES, L. et al. *Toxoplasma gondii* alters NMDAR signaling and induces signs of Alzheimer's disease in wild-type, C57BL/6 mice. **Journal of Neuroinflammation**, v. 15, n. 1, p. 1–19, 2018.

VALOTASSIOU, V. et al. SPECT and PET imaging in Alzheimer's disease. **Annals of Nuclear Medicine**, v. 32, n. 9, p. 583–593, 2018.

WALKER, K. A. et al. Un co rre cte d Au tho r P roo f Un co rre cte d Au tho r P f. 2018.

WEBERS, A.; HENEKA, M. T.; GLEESON, P. A. **The role of innate immune responses and neuroinflammation in amyloid accumulation and progression of Alzheimer's disease**. [s.l: s.n.]. v. 98

WU, Y. Y. et al. Alterations of the Neuroinflammatory Markers IL-6 and TRAIL in Alzheimer's Disease. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders Extra**, v. 5, n. 3, p. 424–434, 2015.

XIONG, Z. et al. Alzheimer's disease: Evidence for the expression of interleukin-33 and its receptor ST2 in the brain. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 40, n. 2, p. 297–308, 2014.

## Apêndices

### Apêndice A

Universidade Estadual da Bahia

Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas

---

#### 1. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

ESTUDO: ANÁLISE DO PERFIL DAS CITOCINAS INFLAMATÓRIAS E SUA CORRELAÇÃO COM A EVOLUÇÃO DO QUADRO CLÍNICO DA DOENÇA DE ALZHEIMER (DA)

*Você está sendo convidado (a) a participar do projeto de pesquisa acima citado. Antes de você assinar é necessário que você compreenda as explicações a seguir. Esta declaração esclarece o objetivo, procedimentos, benefícios, riscos, desconfortos e cuidados durante o estudo. Sua colaboração neste estudo será de muita importância para nós, mas se desistir a qualquer momento, isso não causará nenhum prejuízo a você.*

#### DADOS DO PARTICIPANTE OU RESPONSÁVEL LEGAL

Nome:

---

Documento de Identidade: \_\_\_\_\_ Sexo: M [    ] F [    ]

Data de Nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_ Nº \_\_\_\_\_

Compl.: \_\_\_\_\_

Bairro: \_\_\_\_\_ CEP: \_\_\_\_\_

Cidade: \_\_\_\_\_ Estado: \_\_\_\_\_

Telefones para contato: (    ) \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

E-mail (opcional): \_\_\_\_\_

---

- I. **Objetivos do estudo** – O (a) Senhor (a) está sendo convidado (a) a participar de um estudo sobre a doença de Alzheimer, uma doença crônica que afeta o cérebro. Este estudo tem como objetivo buscar indicadores para diagnosticar a doença de Alzheimer e entender sua evolução. Nós procuraremos esses indicadores no seu sangue e no seu líquido (líquido da espinha).
- II. **Quem é convidado a participar do estudo** – Neste estudo estão sendo convidados pessoas de ambos os sexos atendidas no laboratório de Liquorologia da Bahia para realização de punção líquórica.
- III. **Como será feito o estudo** – Para participar deste estudo você terá que aceitar ser submetido a punção líquórica e punção venosa uma única vez e sua participação começará somente após a assinatura deste documento.  
  
Neste estudo participarão 150 pacientes divididos em 04 grupos, a saber:  
  
1-pacientes com provável DA  
  
2-pacientes com transtorno cognitivo leve  
  
3-pacientes com outras formas de demência  
  
4-pacientes não dementes (cognitivamente normais)
- IV. **Benefícios para o participante** - A participação neste projeto não tem objetivo de tratamento e não haverá nenhum custo para você.
- V. **Desconfortos e riscos esperados** - Será realizada a coleta do líquido da espinha indicada pelo seu médico que já faz parte do seu acompanhamento

ambulatorial, sendo necessária apenas uma coleta. O procedimento será realizado por equipe especializada em coleta de líquido de acordo com todas as normas internacionais. Durante o procedimento o (a) senhor (a) será orientado a se deitar de lado, em posição fetal (como um bebê na barriga da mãe). Em seguida o médico irá desinfetar a pele e introduzir uma agulha descartável que vai passar pelo espaço entre duas vértebras da sua coluna até chegar ao reservatório onde se acumula o líquido. A dor é semelhante à de uma coleta de sangue. Serão coletados entre 10 e 20 mL do líquido da sua espinha (1 a 2 colheres de sopa). O (a) Senhor (a) poderá sentir dor de cabeça após a coleta, para evitar que isso aconteça deve permanecer em REPOUSO por algumas horas e beber muito líquido. Aproximadamente 10% das pessoas, mesmo com esse cuidado, poderão sentir dor de cabeça. Essa dor pode ser forte, acontece ao levantar e melhora ao deitar. Se tiver essa dor de cabeça, e somente se tiver essa dor, deverá ficar em repouso absoluto por 48 horas seguidas, deitado (a), de preferência na posição de barriga para baixo, tomando muita água e outras bebidas hidratantes.

Além disso, será realizada a coleta do sangue, 10 mL aproximadamente (1 colher de sopa), será feita com uma agulha esterilizada, limpa, ligada a um tubo contendo anticoagulante e será colocada em uma veia do seu antebraço, puxando o sangue para dentro do tubo por um processo de vácuo. Esse procedimento pode causar um pequeno sangramento, uma mancha roxa ou vermelha (hematoma) na pele (que desaparecerá em pouco tempo), e em casos muito extremos, desmaio. Mas lembramos que essa coleta será realizada por uma equipe treinada que faz parte do laboratório Jaime Cerqueira.

- VI. **Interrupção na participação do estudo** - A participação nesse estudo é voluntária. Se você escolher não participar seus direitos serão preservados e não sofrerá nenhum tipo de punição. Se decidir participar, você poderá se retirar do estudo a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo ou recusar qualquer procedimento, nesse caso, por favor, comunique a equipe do estudo.

- VII. **Garantia de acesso** – A qualquer momento, se você tiver alguma preocupação ou dúvidas sobre a pesquisa, poderá entrar em contato com o responsável pelo estudo. Poderá também contatar o Comitê de Ética em Pesquisa em seres humanos da UNEBs – CEP/UNEB, no telefone (71) 3117-2399 ou através do e-mail [cepuneb@uneb.br](mailto:cepuneb@uneb.br) ou o pesquisador responsável pela pesquisa Prof. Dr. Bruno Antônio Veloso Cerqueira, telefone (71) 9199-5894, ou e-mail [bcerqueira@uneb.br](mailto:bcerqueira@uneb.br) para recursos ou reclamações em relação ao presente estudo.
- VIII. **Direito de confidencialidade** - Todas as informações deste estudo são confidenciais. Seu nome ou qualquer dado que possa identificá-lo não será publicado na divulgação dos resultados. Somente pessoas que fazem parte da equipe da pesquisa poderão ter acesso aos seus registros. Esse acesso será utilizado para realizar, acompanhar a pesquisa e analisar os dados obtidos. As normas brasileiras que o protegem serão respeitadas.
- IX. Você tem a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração neste estudo no momento em que desejar sem necessidade de qualquer explicação. A desistência não causará nenhum prejuízo a sua saúde ou bem-estar físico e não irá interferir no atendimento ou tratamento médico que você possa estar recebendo;
- X. Caso desejar, poderá tomar conhecimento dos resultados ao final desta pesquisa.

**Armazenamento do material coletado** - As amostras do material que você doou para este estudo serão utilizadas para analisar indicadores de diagnóstico e evolução da doença de Alzheimer. Após o processamento das amostras poderá haverá sobra desse material que iremos armazenar para futuras pesquisas. Todo material será identificado apenas com um código (o nome do participante não será utilizado) e não poderá ser vendido nem utilizado para fazer produtos comerciais. O processamento das amostras será feito por especialistas em laboratório de modo a separar partes importantes de sua amostra para os projetos. O armazenamento destas amostras está incluso na participação do estudo. Se você não concordar que suas amostras sejam armazenadas, por favor informe a equipe que você prefere não participar. Se você concordar em participar, a qualquer momento poderá mudar de ideia em relação à autorização do armazenamento das amostras.

Caso mude de ideia, telefone ou escreva para o responsável pela pesquisa do estudo para informá-los. A partir de então as amostras não serão disponibilizadas para pesquisa e serão destruídas. É importante que você saiba que para utilizar essas amostras armazenadas no futuro, o pesquisador terá que apresentar um novo projeto de pesquisa para ser analisado e aprovado pelo Comitê de Ética deste Instituto e pelo responsável por esta pesquisa. O material biológico obtido para esta pesquisa será armazenado de acordo com as normas do Conselho Nacional de Saúde que regulam o armazenamento de material biológico humano ou uso de material armazenado em pesquisas, e poderá ser armazenado por até 10 anos (Resolução 441/2011). Asseguramos que quaisquer dados são confidenciais e não serão repassados a terceiros como: seguradoras, empregadores, supervisores hierárquicos, entre outros. Ainda, você poderá escolher se será informado ou não do resultado de exames e de todos os dados que resultarão deste projeto. Os dados individuais não serão publicados de forma a se identificar o participante, em nenhuma hipótese.

- XI. O participante da pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.
  - XII. O pesquisador responsável deverá, da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo. O TCLE será emitido em duas cópias, sendo que uma cópia ficará com o participante da pesquisa e a outra com o pesquisador responsável.
  - XIII. Este convite está de acordo com a Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012.
-

## 2. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Acredito ter sido suficientemente informado(a) a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim sobre o estudo “Aspectos clínicos, fatores de prognóstico, biomarcadores e o papel do perfil inflamatório/infeccioso no líquido cefalorraquidiano”. Eu discuti com os pesquisadores responsáveis e está claro para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, quais são seus desconfortos, riscos e a garantia de confidencialidade dos meus dados. Entendo que sempre que eu tiver dúvidas elas serão esclarecidas e que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente em fazer parte deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

Concordo que o material colhido possa ser utilizado em outros projetos desde que autorizado pelo Comitê de Ética deste Instituto e pelo responsável por esta pesquisa. Caso minha manifestação seja positiva, poderei retirar essa autorização a qualquer momento sem qualquer prejuízo para mim.

( ) Sim      ou      ( ) Não

Resultados da pesquisa:

( ) Desejo conhecer os resultados desta pesquisa.

( ) Não desejo conhecer os resultados desta pesquisa.

Nome do participante:

---

(como escrito no documento de identidade)

Assinatura do participante: \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Testemunha** (para casos de participantes analfabetos, semianalfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual):

Testemunha1: \_\_\_\_\_

Nome / RG / Telefone

Testemunha 2: \_\_\_\_\_

Nome / RG / Telefone

---

### **DECLARAÇÃO DO PESQUISADOR**

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido deste voluntário para a participação neste estudo e forneci uma cópia ao participante deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Nome do profissional que obteve o consentimento: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

## **ANEXOS**

### **ANEXO A – Mini-exame do estado mental**

#### **MINI EXAME DO ESTADO MENTAL**

**Orientação Temporal Espacial** – questão 2.a até 2.j pontuando 1 para cada resposta correta, máximo de 10 pontos.

| <i>AVALLIAÇÃO do escore obtido</i>                                                                                                                                                                                                                      | TOTAL DE PONTOS OBTIDOS |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|
| <b>Pontos de corte – MEEM</b> Brucki et al. (2003)<br>20 pontos para analfabetos<br>25 pontos para idosos com um a quatro anos de estudo<br>26,5 pontos para idosos com cinco a oito anos de estudo<br>28 pontos para aqueles com 9 a 11 anos de estudo |                         |



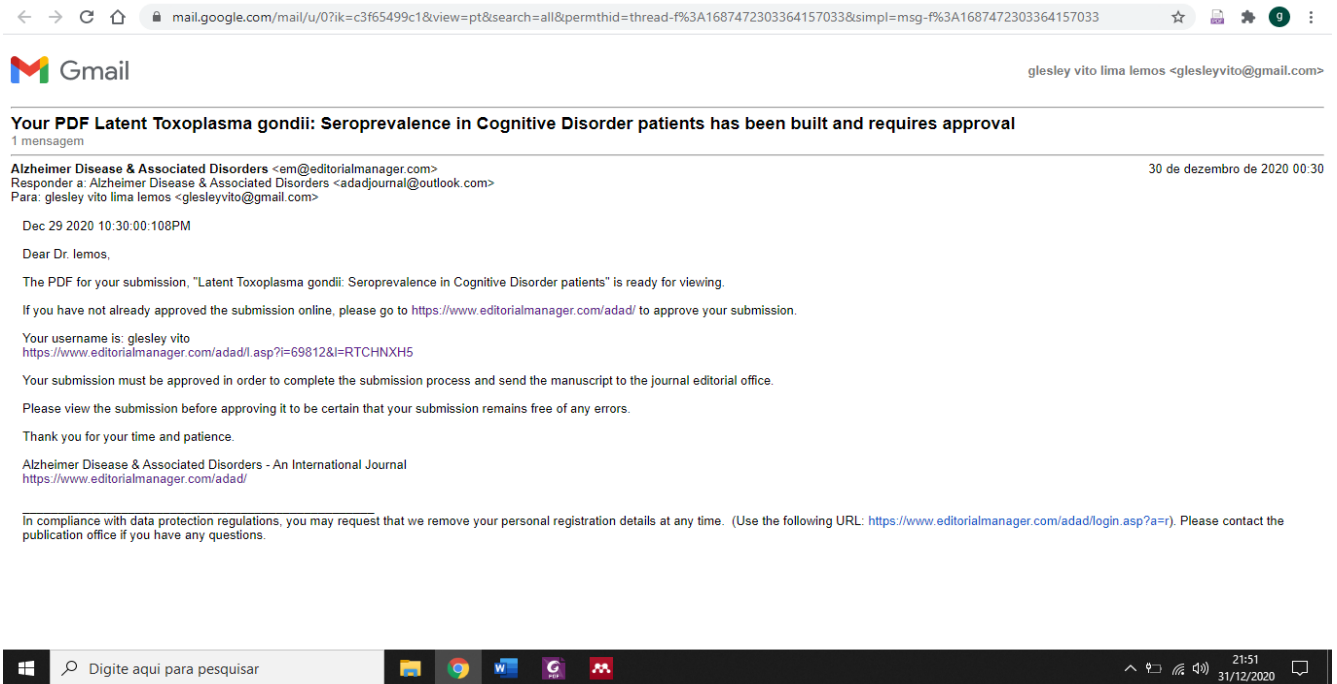
|                                                         |                                                                      |
|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
|                                                         |                                                                      |
| tarefas mais simples. muito limitados e pouco variados. | Sem qualquer atividade significativa em casa.                        |
| dependência no vestir e na higiene.                     | Requer muito auxílio nos cuidados pessoais. Geralmente incontinente. |

## **ANEXO C – Escala de depressão geriátrica**

### **Escala de Depressão Geriátrica de Yesavage – versão reduzida (GDS-15)**

A Escala de Depressão Geriátrica em versão reduzida de Yesavage (GDS-15). Amplamente utilizada e validada como instrumento diagnóstico de





## ANEXO E – Artigo Científico

### Latent Toxoplasma gondii: Seroprevalence in Cognitive Disorder patients

**INTRODUCTION:** Alzheimer's Disease (AD) is the leading neurodegenerative

disease worldwide. It is characterized by the formation of neuritic plaques of peptide A $\beta$  and the intracellular accumulation of neurofibrillary tangle (NFT). Infectious diseases, from diverse etiological origins, may act as triggers of oxidative and inflammatory processes linked to neurodegeneration. **Objective:** investigate the prevalence of infectious diseases in patients with AD and Mild Cognitive Impairment (MCI). **METHODS:** A cross-sectional, observational, analytical study was performed, with retrospective analysis, evaluating CSF samples from 51 patients with diagnosis of MCI and AD. The research project was submitted to the approval of the UNEB research ethics committee under protocol number 22913919.4.0000.0057.

**RESULTS:** 24 were women with an average age of 73 years. Among the samples collected, only one patient (2%) tested positive for cysticercosis and 37.3% presented reagent test for *Toxoplasma gondii* IgG, no difference in liquor concentrations of biomarkers for AD was found among patients with previous contact with *Toxoplasma gondii*. **DISCUSSION:** *T. gondii*-infected murine models demonstrated a possible correlation to dementia disorders, therefore inflammatory and oxidative events associated with senescence become targets for possible chronic pathophysiological mechanisms and routes for new therapies within AD.

Keywords: Alzheimer's disease; toxoplasmosis; dementia.

## Introduction

Neurodegenerative diseases, in particular Alzheimer's Disease (AD), have increasing prevalence, in line with population aging. It is estimated that in 2050, approximately 14 million Americans will live with mild dementia and AD (KINNEY et al., 2018). In 2018, 131 million individuals were diagnosed with AD (CERQUERA-JARAMILLO et al., 2018).

According to the American Alzheimer's Association, the number of people with the disease is approximately five million in the United States, at an annual cost of two hundred billion dollars, putting a strain on health services and reducing the quality of life of affected families (BOSTANCIKLIOĞLU, 2019).

Memory loss is the initial symptom and the main DA loss. However, several signs such as difficulty in orientation, location, anhedonia and loss of the ability to develop routine activities are present, under the influence of the time of illness and therapeutic strategies adopted (BAGYINSZKY et al., 2017).

In 2011, the National Institute of Aging and the Alzheimer's Association (NIA-AA) reoriented the 1983 criteria for AD diagnosis. Although strictly clinical criteria were initially used, beta-amyloid peptides ( $A\beta_{1-42}$ ) and neurofibrillary tangles of Tau protein in cerebrospinal fluid (MAGALHÃES et al., 2018) were incorporated into the biomarker analysis.

Typical cognitive disorders neurodegenerative process presents pathophysiological routes dependent on the irregular deposition of  $A\beta_{1-42}$  in the extracellular space, after cleavage of beta-amyloid precursor proteins (APP) by beta-secretases. This process may be aligned with hyperphosphorylation of t-Tau protein in the intracellular space, resulting in the genesis of the neuritic plaque, hyperactivity of the microglia and astrocytes, imbalance of the inflammatory response and progressive neurodegeneration (CERQUERA-JARAMILLO et al., 2018).

Boza-Serrano, in 2018, puts cellular imbalance of the microglia, neurons and astrocytes, added to humoral pro-inflammatory induction and activation, as triggers and drivers of the disease (BOZA-SERRANO et al., 2018).

Observational essays made in the 90s identified the chronic use of non-steroidal anti-inflammatory drugs as a protective variable, with a 50% reduction in the chance of cognitive impairment evolution. Thus, an oxidant/inflammatory trigger is associated, with an initial supposedly protective function, later causing hyperphosphorylation of Tau protein, elevation of oxidative stress and cellular death in the Central Nervous System (CNS) (KINNEY et al., 2018).

Bu and collaborators, in 2015, presented the possible viral and bacterial etiological role in the beginning, progression and consolidation of cognitive disorders, from descriptions of acute infections by CMV, HSV-1, *Chlamydomydia pneumoniae* and *Treponemas* spp. in cortical region (BU et al., 2015).

Carter, in 2017, demonstrated increased amyloid plaque and dementia

disorders in HCV and HIV positive patients. These findings suggest that infectious load and immune modulation profile are directly linked to cognitive disorders (CARTER, 2017).

Alonso and Pisa, in 2017, observed fungal components in brain tissues of Alzheimer's patients (ALONSO; PISA, 2017). ASHRAF and collaborators, in a study conducted in 2019, associated *Treponema pallidum* infection with local amyloidosis, cortical atrophy and progressive dementia in atrophic form (ASHRAF et al., 2019).

Bayani and collaborators in 2019 correlated chlamydia, herpes simplex, HIV infection, hepatitis C and APOE4 allele with amyloid plaque deposition and neurofibrillary tangle, suggesting possible infectious role in cognitive impairment progression. The clinical course is silent in immunocompetent individuals, although there are reports of neuropsychiatric disorders (BAYANI et al., 2019).

The longevity associated with AD leads us to search for stress factors and mechanisms involved in the evolutionary process of cognitive impairment. Thus, investigating the possible link between AD and infectious diseases is essential for the understanding of its evolution, means of prevention, control and treatment (MAHAMI-OSKOU EI et al., 2016). Mahami-oskouei and collaborators, in 2016, associated *Toxoplasma gondii* infection with the process of neurodegeneration, pathogenesis and progression to AD, probably related to the characteristics of this protozoan as the obligatory neurotropism and worldwide distribution.

Therefore, this study evaluated the seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease, in the city of Salvador - Bahia - Brazil.

## **2. Methods**

### **Population and study design**

Fifty-one patients were included in this retrospective study. All of them were submitted to a lumbar puncture in a specialized clinic between June 2018 and November 2019. The 2011 diagnostic criteria proposed by the National Institute on Aging and the Alzheimer's Association (NIA-AA) were used by attending neurologists to diagnose AD or MCI on study participants. This paper was reviewed and approved

by the UNEB - Universidade Estadual da Bahia Research Ethics Committee under the protocol no. 22913919.4.0000.0057.

### **Sample collection and preparing**

CSF samples were collected via routine diagnostic lumbar puncture (LP) at the L3-4 or L4-5 interspace into 6-mL and 9-mL polypropylene tubes (BD, USA) according to standard sterile technique. Samples were processed and frozen to -20 °C after analysis. Microscopic analysis of CSF cytology, cell count, and differential was carried out within two hours from sampling. Integra 400 and E411 analyzers (Roche, Germany) and appropriate laboratory kits were used to perform infection markers like *Toxoplasma gondii* antibody and all biochemical analyses, including lactate dehydrogenase (LDH), urea, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), albumin, total protein, lactate, and glucose. Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) (Euroimmun, Germany) were used to determine amyloid beta 1-42 (A $\beta$  1-42), total tau (t-tau), and phosphorylated tau (p-tau) levels.

### **Statistical analysis**

Correlation analysis was based on Pearson's and Spearman's coefficients for parametric and nonparametric variables, respectively. A p value < 0.05 was used to determine statistical significance. SPSS Statistics (version 21) was used for database creation and all statistical analyses.

## **3. Results**

Among the participants, 24 were women with a median age of 73 years. All patients presented the CSF in a clear and colorless form. Table 1 shows the complete CSF study panel of the fifty-one patients. From the samples collected, only one patient (2%) tested positive for cysticercosis and a considerable sample (19/51 - 37.3%) showed reagent test for *Toxoplasma gondii* IgG (Table 1).

**Table 1. Sociodemographic, cellular and infectious characteristics of the group of patients with mild to moderate cognitive impairment.**

| Characteristics                 | N (51)  | Patients               |
|---------------------------------|---------|------------------------|
|                                 |         | Median $\pm$ SD (ng/L) |
| <b>Age (years)</b>              | 73,00   | $\pm$ 10,14            |
| <b>Genre</b>                    |         |                        |
| Male                            | 27/51   | -                      |
| Feminine                        | 24/51   | -                      |
| <b>Pachymetry</b>               |         |                        |
| Pressure                        | 12,00   | $\pm$ 2,85             |
| <b>Harvest</b>                  |         |                        |
| Low back                        | 51/51   | -                      |
| <b>Clear and colorless</b>      | 51/51   | -                      |
| <b>Calm</b>                     | 51/51   | -                      |
| <b>Global cytology</b>          |         |                        |
| <b>Cells</b>                    | 1cel/uL |                        |
| Lymphocytes                     | 51/51   | -                      |
| Red Cells                       | 0/51    | -                      |
| <b>Oncotic cytology</b>         |         |                        |
| Atypical cells                  | 0/51    | -                      |
| <b>Microbiology</b>             |         |                        |
| <b><i>Aerobic Culture</i></b>   |         |                        |
| Negative                        | 51/51   | -                      |
| Positive                        | 0/51    | -                      |
| <b><i>Culture for Fungi</i></b> |         |                        |
| Negative                        | 51/51   | -                      |
| Positive                        | 0/51    | -                      |
| <b><i>Culture for KB</i></b>    |         |                        |
| Negative                        | 51/51   | -                      |
| Positive                        | 0/51    | -                      |
| <b><i>Gram stain</i></b>        |         |                        |
| Absence                         | 51/51   | -                      |
| Presence                        | 0/51    | -                      |

**Ziehl Coloring**

|          |       |   |
|----------|-------|---|
| Absence  | 51/51 | - |
| Presence | 0/51  | - |

**China ink**

|          |       |   |
|----------|-------|---|
| Absence  | 51/51 | - |
| Presence | 0/51  | - |

**LatexCRIPTOCoccus spp.**

|          |       |   |
|----------|-------|---|
| Absence  | 51/51 | - |
| Presence | 0/51  | - |

**Table 2. Immunoinflammatory characteristics of the group of patients with mild cognitive impairment.**

| Characteristics          | N     | Patients<br>Median $\pm$ SD (ng/L) |
|--------------------------|-------|------------------------------------|
| <b>Immunology</b>        |       |                                    |
| <b>Pandy's reaction</b>  |       |                                    |
| Non-Reagent              | 51/51 | -                                  |
| Reagent                  | 0/51  | -                                  |
| <b>VDRL</b>              |       |                                    |
| Non-Reagent              | 51/51 | -                                  |
| Reagent                  | 0/51  | -                                  |
| <b>FTA ABS IGG</b>       |       |                                    |
| Non-Reagent              | 51/51 | -                                  |
| Reagent                  | 0/51  | -                                  |
| <b>IGG toxoplasmosis</b> |       |                                    |
| Non-Reagent              | 32/51 | -                                  |
| Reagent                  | 19/51 | -                                  |
| <b>IGM toxoplasmosis</b> |       |                                    |
| Non-Reagent              | 51/51 | -                                  |
| Reagent                  | 0/51  | -                                  |
| <b>IGG Cysticercosis</b> |       |                                    |
| Non-Reagent              | 50/51 | -                                  |

|                        |       |   |
|------------------------|-------|---|
| Reagent                | 1/51  | - |
| <b>Schistosomiasis</b> |       |   |
| Non-Reagent            | 51/51 | - |
| Reagent                | 0/51  | - |
| <b>HIV1 and 2</b>      |       |   |
| Non-Reagent            | 51/51 | - |
| Reagent                | 0/51  | - |
| <b>HTLV1 and 2</b>     |       |   |
| Non-Reagent            | 51/51 | - |
| Reagent                | 0/51  | - |

Table 3 shows the liquor values of the biomarkers for AD in the group of 51 patients.

**Table 3. Beta amyloid 40, TAU protein and CSF phosphorylated Tau protein in the group of patients with mild cognitive impairment.**

|                                   | Patients         |                       | Reference Group                                                                                                        |
|-----------------------------------|------------------|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                   | Median<br>(ng/L) | Standard<br>deviation | Healthy group break                                                                                                    |
| <b>Biomarkers</b>                 |                  |                       |                                                                                                                        |
| <b>Beta amyloid - 40</b>          | 659,00           | ±605,12               | 21 to 50 years: 610,00 a 974,00 ng/L<br>51 to 70 years: 562,00 a 1018,00 ng/L<br>Above 71 years: 567,00 a 1027,00 ng/L |
| <b>Total Tau Protein</b>          | 331,00           | ±303,47               | 21 to 50 years: 47,00 a 225,00 ng/L<br>51 to 70 years: 116,00 a 370,00 ng/L<br>Above 71 years: 170,00 a 512,00 ng/L    |
| <b>Phosphorylated Tau Protein</b> | 48,00            | ±37,48                | 18 to 44 years: 19,66 a 45,67 ng/L<br>45 to 77 years: 35,84 a 66,26 ng/L                                               |

No difference was found in the liquor concentrations of TAU, TAU-Phosphorilated and Beta Amyloid Protein in the group of patients with a history of previous contact with *Toxoplasma gondii*, when compared to that with absence of IgM and IgG for *Toxoplasma gondii*.

#### 4. Discussion

Alzheimer's Disease is a public health problem that interferes with the quality of life of the patient and the assistant family. Understanding the risk factors, prognostic variables and advances in therapy, becomes an important part of the chronological reduction of damage. In 2018, Magalhães and collaborators demonstrated that the progression of neuropathological alterations is associated with neuroinflammation in AD (MAGALHÃES et al., 2018).

Previously, Carter and collaborators in 2017 postulated the pathogen capacity to promote neuroinflammation, alone or together, so that easing amyloid plaque deposition and both humoral and cellular neurotoxicity (CARTER, 2017).

Herpes virus or bacterial infections such as spirochetes, *Chlamydia pneumoniae* or *Borrelia burgdorferi* are associated with the inflammation / oxidation circuit and greater susceptibility, therefore, to AD. Sochocka, Zwolińska and Leszek, in 2017, proposed the importance of the first line of defense imposed by the blood-brain barrier to the action of pathogens. However, fungi, viruses, bacteria and protozoa can cross it, serving as a trigger for neurological diseases (SOCHOCKA; ZWOLIŃSKA; LESZEK, 2017).

A study conducted in 2016 by Mahami-Oskouei and collaborators in Iran described that six out of ten patients in the study population had IgG antibodies to *Toxoplasma gondii* and undetectable titles for IgM (MAHAMI-OSKOU EI et al., 2016). In 2019, Bayani and collaborators associated the history of contact with *Toxoplasma gondii* as a risk factor for degenerative neurological diseases, being Parkinson's disease correlation well established, not so strongly associated with AD (BAYANI et al., 2019).

In 2016, Perry and collaborators presented, in a group of patients with advanced AD, high frequency of latent toxoplasmosis in the CSF sample in the U.S. state of Missouri. Despite this prevalence, no positive correlation was found between

the variables (PERRY et al., 2016). These data are close to those found in this study, where high frequency of IgG anti-Toxoplasma gondii was described, although no correlation with classical diagnostic biomarkers has been demonstrated.

Nayeri and collaborators in 2019 considered that acute toxoplasma infection is probably not the most likely mechanism for triggering dementia disorders, despite the high prevalence of prior contact with Toxoplasma gondii in patients with AD (NAYERI CHEGENI et al., 2019).

Animal model essays with T. gondii-infected mice demonstrated that pathophysiological changes associated with dementia disorders such as deposition of A $\beta$ 1-42, t-Tau expression, neuronal dysfunction and behavioral changes may clarify the possible routes involved in the genesis of AD. However, a linear correlation between countries with high contamination rates by Toxoplasma gondii and increased AD prevalence should not be drawn (TORRES et al., 2018).

Itzhaki and collaborators, in 2020, refute the possible infectious cause of dementia disorders, placing it only as a comorbidity variable (ITZHAKI et al., 2020). In contrast, another study, coordinated by Ortiz-Guerrero in 2020, placed Toxoplasma gondii infection as a promising prognostic factor or potential exacerbator of cognitive impairment. This finding consolidates the impact of infection on changes in concentrations of neurotransmitters responsible for memory, cognition and motor response, such as GABA, glutamate and dopamine (ORTIZ-GUERRERO et al., 2020).

Ou and collaborators in 2020, in a systematic review with meta-analysis, placed the Herpesviridae family (HSV-1, EBV, HHV-6) as a promising risk factor for dementia disorders. However, the influence of CMV, H. pylori and T. gondii infections on the genesis and progression of AD was not demonstrated (OU et al., 2020).

Within the context of demential disorders, allied with broad phenotypic spectrum, this study presented confirmatory data about the balance of beta-amyloid proteins and TAU proteins in CSF in the AD spectrum. The non-inflammatory baseline state excludes, as expected, acute processes as immediate genesis. However, the various inflammatory and oxidative events associated with senescence become targets for possible chronic pathophysiological mechanisms and routes for new therapies within AD.

## References

ABD RACHMAN ISNADI, M. F. et al. Critical Roles of IL-33/ST2 Pathway in Neurological Disorders. **Mediators of Inflammation**, v. 2018, 2018.

AHMAD, M. H.; FATIMA, M.; MONDAL, A. C. Influence of microglia and astrocyte activation in the neuroinflammatory pathogenesis of Alzheimer ' s disease : Rational

insights for the therapeutic approaches. **Journal of Clinical Neuroscience**, 2018.

ALONSO, R.; PISA, D. *re cte d Un Au tho r P roo f Identification of Fungal Species in Brain roo f re cte d Au tho Un.* 2017.

ASHRAF, G. M. et al. The Possibility of an Infectious Etiology of Alzheimer Disease. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 6, p. 4479–4491, 2019.

ASSELINÉAU, D. et al. Interleukin-10 Production in Response to Amyloid- $\beta$  Differs between Slow and Fast Decliners in Patients with Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 46, n. 4, p. 837–842, 2015.

AZIZI, G.; KHANNAZER, N.; MIRSHAFIEY, A. American Journal of Alzheimer ' s Disease and Other Dementias The Potential Role of Chemokines in Alzheimer ' s Disease Pathogenesis. 2014.

BAGYINSZKY, E. et al. Role of inflammatory molecules in the Alzheimer's disease progression and diagnosis. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 376, p. 242–254, 2017.

BAYANI, M. et al. Acta Tropica Toxoplasma gondii infection and risk of Parkinson and Alzheimer diseases : A systematic review and meta-analysis on observational studies. **Acta Tropica**, v. 196, n. May, p. 165–171, 2019.

BOSTANCIKLIOĞLU, M. An update on the interactions between Alzheimer's disease, autophagy and inflammation. **Gene**, v. 705, n. March, p. 157–166, 2019.

BOZA-SERRANO, A. et al. Innate immune alterations are elicited in microglial cells before plaque deposition in the Alzheimer's disease mouse model 5xFAD. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–16, 2018.

BU, X. L. et al. A study on the association between infectious burden and Alzheimer's disease. **European Journal of Neurology**, v. 22, n. 12, p. 1519–1525, 2015.

BURMEISTER, A. R.; MARRIOTT, I. The Interleukin-10 Family of Cytokines and Their Role in the CNS. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 12, n. November, p. 458, 2018.

CALSOLARO, V.; EDISON, P. Neuroinflammation in Alzheimer ' s disease : Current evidence and future directions. **Alzheimer's & Dementia**, n. May, p. 1–14, 2016.

CARTER, C. J. Genetic, Transcriptome, Proteomic, and Epidemiological Evidence for Blood-Brain Barrier Disruption and Polymicrobial Brain Invasion as Determinant Factors in Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease Reports**, v. 1, n. 1, p. 125–157, 2017.

CERQUERA-JARAMILLO, M. A. et al. Visual Features in Alzheimer ' S Disease : From Basic Mechanisms To Clinical Overview. **Neural Plasticity**, v. 2018, p. 1–21, 2018.

CHEN, P. et al. CX3CL1 / CX3CR1 in Alzheimer ' s Disease : A Target for Neuroprotection. v. 2016, 2016.

CUMMINGS, J. L.; TONG, G.; BALLARD, C. Treatment Combinations for

Alzheimer's Disease: Current and Future Pharmacotherapy Options. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 67, n. 3, p. 779–794, 2019.

DEZFULIAN, M. A new Alzheimer's disease cell model using B cells to induce beta amyloid plaque formation and increase TNF alpha expression. **International Immunopharmacology**, v. 59, n. October 2017, p. 106–112, 2018.

DONG, X. et al. Association Between Interleukin-1A, Interleukin-1B, and Bridging integrator 1 Polymorphisms and Alzheimer's Disease: a standard and Cumulative Meta-analysis. **Molecular Neurobiology**, v. 54, n. 1, p. 736–747, 2017.

EKERT, J. O. et al. TNF alpha inhibitors in alzheimer's disease: A systematic review. **International Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 33, n. 5, p. 688–694, 2018.

ERATNE, D. et al. Alzheimer's disease: clinical update on epidemiology, pathophysiology and diagnosis. **Australasian Psychiatry**, v. 26, n. 4, p. 347–357, 2018.

FANG, Y. et al. Evaluation of hippocampal volume and serum brain-derived neurotrophic factor as potential diagnostic markers of conversion from amnesic mild cognitive impairment to Alzheimer disease A STROBE-compliant article. **Medicine (United States)**, v. 98, n. 30, 2019.

FINNERAN, D. J.; NASH, K. R. Neuroinflammation and fractalkine signaling in Alzheimer's disease. **Journal of Neuroinflammation**, v. 16, n. 1, p. 1–8, 2019.

GANDY, S.; DEKOSKY, S. T. Toward the Treatment and Prevention of Alzheimer's Disease: Rational Strategies and Recent Progress. **Annual Review of Medicine**, v. 64, n. 1, p. 367–383, 2013.

GAUGLER, J. et al. 2016 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimer's and Dementia**, v. 12, n. 4, p. 459–509, 2016.

HAZEN, J. et al. Memory Clinic Patients With Mild Cognitive Impairment or Dementia. v. 00, n. 00, p. 1–7, 2019.

HOPP, S. C. et al. The role of microglia in processing and spreading of bioactive tau seeds in Alzheimer's disease 11 Medical and Health Sciences 1109 Neurosciences. **Journal of Neuroinflammation**, v. 15, n. 1, p. 1–15, 2018.

HUANG, C. et al. Genetic effect of interleukin-1 beta ( C-511T ) polymorphism on the structural covariance network and white matter integrity in Alzheimer ' s disease. **Journal of Neuroinflammation**, p. 1–13, 2017.

ITZHAKI, R. F. et al. Do infections have a role in the pathogenesis of Alzheimer disease? **Nature Reviews Neurology**, v. 16, n. 4, p. 193–197, 2020.

KAUR, D.; SHARMA, V.; DESHMUKH, R. Activation of microglia and astrocytes: a roadway to neuroinflammation and Alzheimer's disease. **Inflammopharmacology**, v. 27, n. 4, p. 663–677, 2019.

KAWAI, U. et al. Relationship of systemic inflammation and cellular immunity with advancement of cognitive decline in patients with Alzheimer's disease. **Clinical and Experimental Neuroimmunology**, v. 9, n. 3, p. 182–188, 2018.

KIM, Y. S.; LEE, K. J.; KIM, H. Serum tumour necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6 levels in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. **Psychogeriatrics**, v. 17, n. 4, p. 224–230, 2017.

KINNEY, J. W. et al. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions**, n. September, p. 1–16, 2018.

LIM, S. L.; RODRIGUEZ-ORTIZ, C. J.; KITAZAWA, M. Infection, systemic inflammation, and Alzheimer's disease. **Microbes and Infection**, v. 17, n. 8, p. 549–556, 2015.

LIU, C. et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: Chemokines produced by astrocytes and chemokine receptors. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 7, n. 12, p. 8342–8355, 2014.

MAGALHÃES, T. N. C. et al. Systemic Inflammation and Multimodal Biomarkers in Amnesic Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. **Molecular Neurobiology**, v. 55, n. 7, p. 5689–5697, 2018.

MAHAMI-OSKOEI, M. et al. Toxoplasmosis and Alzheimer: can *Toxoplasma gondii* really be introduced as a risk factor in etiology of Alzheimer? **Parasitology Research**, v. 115, n. 8, p. 3169–3174, 2016.

MARTIN, E. ScienceDirect Complex role of chemokine mediators in animal models of Alzheimer's Disease. p. 1–7, 2018.

NAJ, A. C.; SCHELLENBERG, G. D. Genomic variants, genes, and pathways of Alzheimer's disease: An overview. **American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics**, v. 174, n. 1, p. 5–26, 2017.

NAYERI CHEGENI, T. et al. Is *Toxoplasma gondii* a potential risk factor for Alzheimer's disease? A systematic review and meta-analysis. **Microbial Pathogenesis**, v. 137, n. September, 2019.

NG, A. et al. IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  and CRP in Elderly Patients with Depression or Alzheimer's disease: Systematic Review and Meta-Analysis. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–12, 2018.

OLSSON, B. et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Neurology**, v. 15, n. 7, p. 673–684, 2016.

ORTIZ-GUERRERO, G. et al. Pathophysiological Mechanisms of Cognitive Impairment and Neurodegeneration by *Toxoplasma gondii* Infection. **Brain Sciences**, v. 10, n. 6, p. 369, 2020.

OU, Y.-N. et al. Associations of Infectious Agents with Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 75, n. 1, p. 299–309, 2020.

OZBEN, T.; OZBEN, S. Neuro-inflammation and anti-inflammatory treatment options for Alzheimer's disease. **Clinical Biochemistry**, v. 72, p. 87–89, 2019.

PANZA, F. et al. A critical appraisal of amyloid- $\beta$ -targeting therapies for Alzheimer disease. **Nature Reviews Neurology**, v. 15, n. 2, p. 73–88, 2019.

PERRY, C. E. et al. Seroprevalence and Serointensity of Latent *Toxoplasma gondii* in a Sample of Elderly Adults with and Without Alzheimer Disease. **Alzheimer Disease and Associated Disorders**, v. 30, n. 2, p. 123–126, 2016.

PINTO, T. C. C. et al. Is the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) screening superior to the Mini-Mental State Examination (MMSE) in the detection of mild cognitive impairment (MCI) and Alzheimer's Disease (AD) in the elderly? **International Psychogeriatrics**, v. 31, n. 4, p. 491–504, 2019.

ROTHAUG, M.; BECKER-PAULY, C.; ROSE-JOHN, S. The role of interleukin-6 signaling in nervous tissue. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research**, v. 1863, n. 6, p. 1218–1227, 2016.

SHAHROKHI, V. M. et al. IL-17A and IL-23 : plausible risk factors to induce age-associated inflammation in Alzheimer ' s disease. **Immunological Investigations**, v. 00, n. 00, p. 1–11, 2018.

SOCHOCKA, M.; ZWOLIŃSKA, K.; LESZEK, J. The Infectious Etiology of Alzheimer's Disease. **Current Neuropharmacology**, v. 15, n. 7, p. 996–1009, 2017.

SUMBRIA, R.; CHANG, R.; YEE, K.-L. Tumor necrosis factor  $\alpha$  Inhibition for Alzheimer's Disease. **Journal of Central Nervous System Disease**, v. 9, n. 0, p. 0–4, 2017.

TÖNNIES, E.; TRUSHINA, E. Oxidative Stress, Synaptic Dysfunction, and Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 57, n. 4, p. 1105–1121, 2017.

TORRES, L. et al. *Toxoplasma gondii* alters NMDAR signaling and induces signs of Alzheimer's disease in wild-type, C57BL/6 mice. **Journal of Neuroinflammation**, v. 15, n. 1, p. 1–19, 2018.

VALOTASSIOU, V. et al. SPECT and PET imaging in Alzheimer's disease. **Annals of Nuclear Medicine**, v. 32, n. 9, p. 583–593, 2018.

WALKER, K. A. et al. Un co rre cte d Au tho r P roo f Un co rre cte d Au tho r P f. 2018.

WEBERS, A.; HENEKA, M. T.; GLEESON, P. A. **The role of innate immune responses and neuroinflammation in amyloid accumulation and progression of Alzheimer's disease.** [s.l: s.n.]. v. 98

WU, Y. Y. et al. Alterations of the Neuroinflammatory Markers IL-6 and TRAIL in Alzheimer's Disease. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders Extra**, v. 5, n. 3, p. 424–434, 2015.

XIONG, Z. et al. Alzheimer's disease: Evidence for the expression of interleukin-33 and its receptor ST2 in the brain. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 40, n. 2, p. 297–308, 2014.

**ANEXO F: Artigo científico**

**An interrelationship between neuroinflammation and progression of  
Alzheimer's disease (AD)**

## A inter-relação entre a neuroinflamação e a progressão da Doença de Alzheimer (DA)

Glesley Vito Lima Lemos <sup>\*1</sup>  
Leidson Rodrigo Teixeira Ribeiro <sup>\*2</sup>  
Bruno Veloso Cerqueira <sup>\*3</sup>

<sup>\*1</sup> <sup>\*2</sup>Departamento de Ciências da Vida – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – PPGFARMA; <sup>\*3</sup> Professor Adjunto do Departamento de Ciências da Vida e PPGFARMA.

### Abstract

Alzheimer's disease (AD) is among the major neurodegenerative diseases in the world, characterized by progressive decline in cognitive abilities, behavioral abnormalities and functional loss in daily activities. Several studies indicate the effectiveness of using biomarkers as a diagnostic source of the disease, as well as suggesting the analysis of inflammatory cytokines as accompanying factors. There are several inflammatory cytokines that are well described in the pathogenesis of AD, such as Interleukin-6 (IL-6), IL-1 $\beta$ , tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ), oxidative stress, among others. Some chemokines, although presenting a protective and modulating character of neuroinflammation, also appear as proinflammatory proteins, depending on the course of the disease, such as CX3C. This review considers that neuroinflammation has a degenerative character in the Central Nervous System (CNS), and understands that it needs more evidence regarding these data, especially in the pharmacotherapy question.

**Keywords:** Alzheimer's disease; neuroinflammatory cytokines.

### Resumo

A doença de Alzheimer (DA) figura-se entre as principais doenças neurodegenerativas do mundo, sendo caracterizada por declínio progressivo de habilidades cognitivas, anormalidades de comportamento e perda funcional nas atividades diárias. Diversos estudos sinalizam sobre a efetividade de usar os biomarcadores como fonte diagnóstica da doença, bem como sugerem a análise de citocinas inflamatórias como fatores de acompanhamento. São diversas as citocinas inflamatórias que estão bem descritas na patogênese da DA, tais como Interleucina – 6 (IL-6), IL-1 $\alpha$ , fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), estresse oxidativo, dentre outras. Algumas quimiocinas, apesar de apresentar caráter protetor e modulador da

neuroinflamação, também figura como proteínas pró-inflamatórias, a depender do curso da doença, como a CX3C. Esta revisão considera que a neuroinflamação tem caráter degenerativo a nível de Sistema Nervoso Central (SNC), bem como entende que necessita de maiores evidências quanto a estes dados, em especial no quesito farmacoterapia.

**Palavras-chave:** Doença de Alzheimer; citocinas neuroinflamatórias.

## Introdução

A Doença de Alzheimer (DA) representa uma das principais doenças neurodegenerativas de todo o mundo, sendo a de maior prevalência (KAWAI et al., 2018). Existe uma expectativa de que em 2050 aproximadamente 14 milhões de americanos conviverão com a doença, somado aos possíveis 130 milhões em todo o mundo (KINNEY et al., 2018).

Atualmente estima-se uma prevalência de 47 milhões de indivíduos com a DA. Dentre os diversos fatores modificáveis da doença, a idade é o mais impactante. Dados apontam que, após os 65 anos de idade, a prevalência da DA dobra a cada cinco anos (CERQUERA-JARAMILLO et al., 2018).

A evolução desta doença leva o indivíduo a apresentar sinais de demência, dentre outras variáveis, como comprometimento de memória, problemas quanto a orientação e a depreciação da possibilidade de realização de tarefas e serviços (BAGYINSZKY et al., 2017).

Os principais marcadores da DA são o depósito extracelular de peptídeos beta-Amiloide ( $A\beta$ ), em especial o fragmento  $A\beta_{1-42}$  e a deposição intracelular dos emaranhados neurofibrilares (NFTs), decorrente da fosforilação da proteína Tau (MAGALHÃES et al., 2018). A patogênese da DA ainda é incerta, mas fortes evidências sugerem que há relação com desordens inflamatórias crônicas no Sistema Nervoso Central (SNC) dos pacientes com a doença (LIU et al., 2014).

Desde a década de 80, diversos estudos correlacionam a atividade neuroinflamatória com a evolução da DA. No início da década de 90, diversos ensaios observacionais identificaram que pacientes em uso crônico de anti-inflamatórios não esteroides apresentavam redução de 50% da chance de evoluir com a doença.

Inicialmente a inflamação apresenta seu caráter protetor. Porém, a exacerbação da resposta, causando hiperfosforilação da proteína Tau (pTau) e elevação do estresse oxidativo, promove morte celular da substância nigra no SNC (KINNEY et al., 2018).

Outra evidência importante, porém ainda carece de estudos, devido variações encontradas entre gêneros e raças, é que há aumento da concentração de proteína C-reativa (PCR) diretamente proporcional à elevação da formação de placas A $\beta$ <sub>1-42</sub>. O avançar da idade, principalmente entre indivíduos do sexo masculino, deixa essa marca ainda mais evidente (WALKER et al., 2018).

Portanto, acredita-se que a inflamação sistêmica tenha relação direta com a progressão da DA. Enquanto o diagnóstico e a fase inicial da doença são marcados pela evidência de formação de agregados A $\beta$  e NFTs, a progressão clínica da DA é marcada pelo aumento da concentração central e periférica e citocinas inflamatórias (KAWAI et al., 2018).

Estas citocinas podem ativar a microglia e os astrócitos, os quais se tornam os principais efetores de sinais neuroinflamatórios, causando distúrbios metabólicos neuronais e citotoxicidade, o que contribui para a disfunção neuronal e deterioração cognitiva. O papel da neuroinflamação ainda se encontra pouco elucidado quanto ao desenvolvimento da DA, sendo necessária a análise de achados mais concretos sobre a concentração central e periférica de citocinas como interleucinas, fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e quimiocinas inflamatórias e anti-inflamatórias (MAGALHÃES et al., 2018).

Há mais de uma década, estudos correlacionam a atividade inflamatória com a progressão da DA. Para elucidar ainda mais essa possível associação, desenvolvemos uma revisão sistemática que visa demonstrar as funções das principais citocinas neuroinflamatórias, pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, em consonância com a progressão da DA. Os resultados desta análise pode ser útil para o entendimento da doença, bem como a possibilidade de reavaliação diagnóstica e terapêutica.

## Métodos

Este estudo foi desenhado com base no modelo de fluxograma PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses). As palavras-chave que nortearam a busca de evidências foram Doença de Alzheimer, cruzando-a com inflamação e citocinas inflamatórias, usando o operador booleano AND.

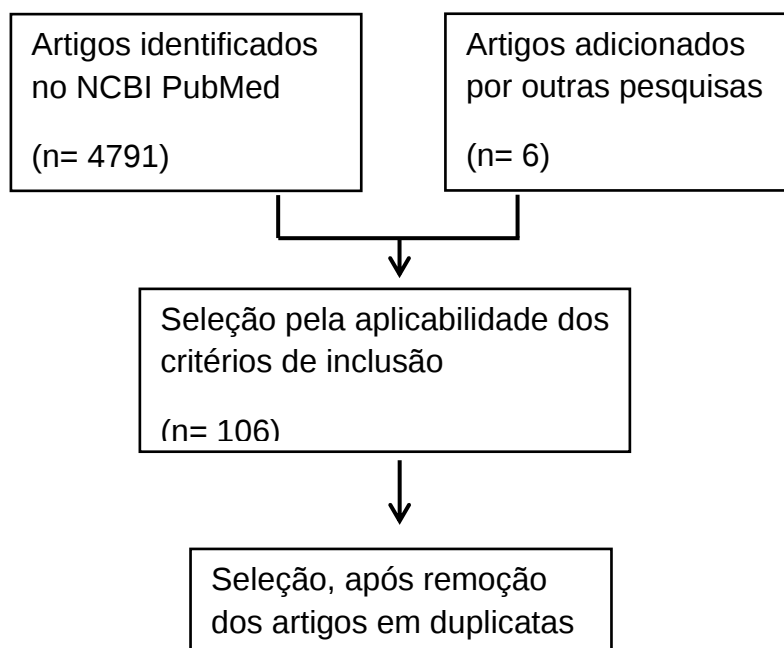
A pesquisa foi realizada na base de dados universal NCBI PubMed, além de buscas de referências de artigos originais citados em revisões que analisaram a interrelação entre neuroinflamação, citocinas inflamatórias e a progressão da DA. O protocolo para confecção desta revisão foi submetido ao PROSPERO (ID 218413).

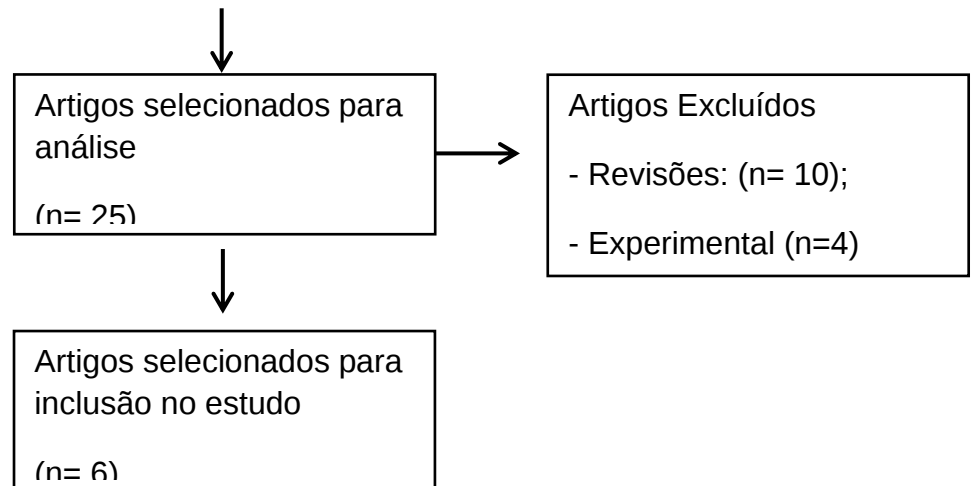
Após a remoção das evidências em duplicata, os títulos e resumos dos artigos foram analisados e selecionados para esta revisão. Dentre os critérios de inclusão, constaram artigos publicados na língua inglesa nos últimos dez anos, estudos realizados em seres humanos, em formato de caso-controle, transversal ou coorte.

Ensaio sobre outros tipos de demência, como demência frontotemporal, demência vascular, demência por corpúsculo de Lewy, dentre outras, foram excluídos deste estudo; bem como aqueles que relacionaram a DA com outras condições etiológicas ou que não se tratava de processo inflamatório e neurodegenerativo oxidativo. Estudos experimentais, seja em células de laboratório ou em animais, foram excluídos.

## Resultados

Nossa revisão bibliográfica contou com o resultado de 155 artigos encontrados. Após a análise dos resumos dos artigos, 130 foram excluídos, resultando num total de 25 estudos analisados, conforme mostra a figura 1.





**Fig. 1.** Diagrama de fluxo PRISMA para inclusão de estudos sobre neuroinflamação e DA.

Diversas citocinas pró-inflamatórias, em especial interleucinas, quimiocinas e TNF-alfa, foram identificadas e catalogadas após a análise destes artigos e suas ações e interferências na progressão da DA serão discutidas a seguir. Os dados mais relevantes de cada artigo, como ano de publicação, primeiro autor e, especialmente, o desfecho da participação da citocina inflamatória na DA, foram catalogados, conforme Tabela 1.

| <b>Primeiro autor (Ano)</b> | <b>Objetivo do trabalho</b>                                                                                                | <b>Considerações fisiopatológicas</b>                                                                                                      |
|-----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>ASSELINEAU (2015)</b>    | Investigar o papel da IL-10, em combinação com polimorfismo de IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1 e INF- $\gamma$ | Aumento significativo da produção de IL-10<br>Progressão da doença: IL-10 ↑<br>INF- $\gamma$ : reduz a concentração mediante da progressão |
| <b>HUANG (2017)</b>         | Avaliar se o polimorfismo de IL-1 $\beta$ pode modular o desempenho neurocomportamental                                    | A diferença genotípica da IL analisada (do tipo TT) modula o padrão neurodegenerativo                                                      |
| <b>KAWAI (2018)</b>         | Analisar a relação entre IL-6 e TNF- $\alpha$ e a função cognitiva de pacientes com DA                                     | Níveis de IL-6, TNF- $\alpha$ e PCR* não diferem entre grupo controle e doentes com DA, mas elevam diante traumas e comorbidades           |
| <b>MAGALHÃES (2017)</b>     | Detectar diferenças nos padrões de citocinas, como IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, IL-                                         | Para DA, a única citocina que apresentou diferença                                                                                         |

|                     |                                                                                                                      |                                                                                                                                                                |
|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                     | 12 e TNF- $\alpha$ na DA e transtorno cognitivo                                                                      | significativa foi a IL-1 $\beta$ , em estágio leve da doença                                                                                                   |
| <b>WU (2015)</b>    | Identificar biomarcadores plasmáticos clinicamente úteis e encontrar relação entre distribuição periférica e central | IL-18 plasmática em declínio, mediante progressão da DA<br>Redução dos níveis de TRAIL**<br>Elevação dos níveis de IL-6<br>Níveis de fractalcina sem alteração |
| <b>XIONG (2013)</b> | Analisar a expressão de IL-33 e seu receptor ST2 nos cérebros de pacientes com DA                                    | Aumento significativo da concentração de IL-33 e expressão do receptor                                                                                         |

Tabela 1. Relação de estudos que correlacionam os níveis e a interferência de citocinas inflamatórias com a progressão da DA.

\*PCR: Proteína C Reativa

\*\*TRAIL: ligante do fator relacionado a indução de apoptose

Interleucinas IL-1 $\beta$ , IL-10 e IL-33 apresentaram elevação significativa de concentração no cérebro e plasma de pacientes com DA. Diferenças genótípicas de IL-1 parece modular o padrão de neurodegeneração e progressão da doença. TNF- $\alpha$  e PCR não apresentaram diferença, a não ser que haja alguma injúria que estimule a síntese, o que parece interferir negativamente em testes de cognição. A IL-6 apresentou resultados ambíguos em estudos diferentes, com padrão ainda não definido.

Enquanto a IL-1 $\beta$  tem concentração aumentada no início do curso da doença, a IL-10 tem tendência a elevar a concentração, mediante progressão. Similar ao que acontece com IL-1 $\beta$ , o INF- $\gamma$  e IL-18 também tiveram concentrações reduzidas na fase tardia da DA.

A IL-33, assim como seu receptor (ST2) tiveram expressão aumentada no cérebro, compatível com o aumento da concentração de peptídeos derivados de  $\beta$ -amiloide.

## Discussão

O processo neurodegenerativo característico dos transtornos cognitivos apresenta rotas fisiopatológicas dependentes da deposição irregular no espaço extracelular de A $\beta$ <sub>1-42</sub> pós clivagem das proteínas beta amilóides precursoras (APP)

pelas beta-secretases. Esse processo pode estar alinhado a hiperfosforilação da proteína t-Tau no espaço intracelular, resultando na gênese da placa neurítica, hiperatividade da micróglia e astrócitos, desequilíbrio da resposta inflamatória e progressiva neurodegeneração (CERQUERA-JARAMILLO et al., 2018).

Micróglia é o componente celular imunológico do SNC, sendo o principal mediador neuroinflamatório, com importantes mecanismos de neuroproteção e neurodegeneração durante o curso da DA (HOPP et al., 2018). Juntamente com os astrócitos, essas células sintetizam continuamente citocinas inflamatórias. Com o avançar da DA, aumenta-se a permeabilidade da barreira hematoencefálica, contribuindo ainda mais para a infiltração e o estímulo da atividade imune (NG et al., 2018).

A formação de placas extracelulares de peptídeos A $\beta$ , bem como a hiperfosforilação da proteína Tau e formação de NTFs ativam astrócitos e micróglia, induzindo a produção de fatores pró-inflamatórios. O depósito de agregados A $\beta$ , que decorre da clivagem excessiva ou inadequada de seu precursor (APP) pela  $\beta$ -secretase, é determinante para formação das placas senis (CERQUERA-JARAMILLO et al., 2018).

A resposta inflamatória inicialmente tem caráter protetor. A atividade da micróglia pode resultar na superativação de fatores pró-inflamatórios, estresse oxidativo, indução de neurocitocinas e a cronificação da resposta e perda neuronal. Esse achado sugere que essa reação tem ligação direta com a evolução da DA, apresentando elevação da concentração central e periférica de interleucinas, TNF- $\alpha$ , quimiocinas e fatores estimuladores de colônias de células de defesa (AHMAD; FATIMA; MONDAL, 2018).

Semelhante a outras desordens neuropsiquiátricas, a DA é potencialmente relacionada com a exposição de múltiplos genes inflamatórios, especialmente os genes que codificam as interleucinas IL-1A e IL-1B. Estudos recentes sugerem evidências de que essas citocinas estão intimamente ligadas com o estágio avançado da DA (DONG et al., 2017).

Alguns ensaios sugerem que há uma importante função no polimorfismo genético da IL-1 $\beta$  e seu significativo aumento de concentração na modulação de pacientes com DA. A IL-1 $\beta$  desempenha papel importante na sinapse hipocampal, a qual está implicada na patogênese da DA (HUANG et al., 2017).

Outra interleucina pertencente a superfamília IL-1, a IL-33 (também conhecida como IL-1F11), apresenta alteração da concentração plasmática em pacientes com desordens neurológicas, inclusive demência. Porém, a IL-33 tem características tanto pró como anti-inflamatórias, tornando sua participação na DA ainda um tanto incerta (ABD RACHMAN ISNADI et al., 2018).

Há grandes chances da IL-33 agir como pró-inflamatório na DA. Estudos já revelaram o aumento da exposição tanto desta interleucina quanto do seu receptor – o ST2, no córtex de pacientes com DA (XIONG et al., 2014).

A IL-6 é uma citocina também produzida pela micróglia e astrócitos na região do hipocampo, em especial quando responde ao aumento da formação das placas A $\beta$ . Apesar da inconclusão sobre a interferência desta citocina na progressão da DA nesta revisão, diversas evidências sugerem que há correlação direta entre o aumento da sua concentração periférica e central com a evolução das placas senis de A $\beta$  (WU et al., 2015).

A IL-17A, cuja principal fonte é proveniente de macrófagos, células T e linfócitos, ativa o NF- $\kappa$ B, um potenciador de genes que estimulam a resposta imunológica e inflamatória. De forma equivalente, a IL-23, ao ativar seu receptor (IL-23R), promove a diferenciação e amadurecimento das células Th. Sabe-se que tanto a IL-17A quanto a IL-23 desempenham importante papel nas doenças autoimunes e neurodegenerativas, mas ainda é necessário estudar suas funções potenciais (SHAHROKHI et al., 2018).

Entre as citocinas envolvidas na neuroinflamação, o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) é o mais estudado e sabe-se que o mesmo desempenha um papel essencial na resposta inflamatória. Os níveis dessa citocina estão costumeiramente elevados no sangue de pacientes com DA (SUMBRIA; CHANG; YEE, 2017).

Nesta revisão, a TNF- $\alpha$  não revelou ser agente modificador da progressão da doença, apesar de ser uma citocina que induz a resposta imunológica e inflamatória, tendo seu papel bem demonstrado na patogenia da DA em outras revisões. A elevação da concentração plasmática de TNF- $\alpha$  tem relação direta com a evolução das placas A $\beta$  e o estresse oxidativo decorrente da doença. Em adição a isto, alguns estudos, ao utilizar modelos animais de DA, sinalizam que a redução da concentração central de TNF- $\alpha$  pode diminuir a formação das placas A $\beta$  (DEZFULIAN, 2018).

Seguindo essa mesma linha de entendimento, outras pesquisas, também utilizando modelos animais para DA, investigaram o uso de inibidores de TNF- $\alpha$ . Os ensaios mostraram que houve redução da formação das placas A $\beta$ , bem como a melhora da cognição. Essa evidência auxilia a concretizar a ideia de que os receptores de TNF- $\alpha$  podem ser alvos para fármacos no tratamento da doença (EKERT et al., 2018).

Os astrócitos são células importantes e abundantes no SNC. Têm função de nutrir, manter o balanço iônico e reparar disfunções neuronais. Com a amplificação da resposta inflamatória, os astrócitos elevam a taxa de produção de citocinas e quimiocinas. Estas, subdividem-se de acordo com sua estrutura proteica em quatro grupos -  $\alpha$  (CXC),  $\beta$  (CC),  $\gamma$  (CX3C) e  $\delta$  (C) (LIU et al., 2014).

Algumas quimiocinas apresentam caráter modulador das reações de quimiotaxia, podendo inclusive desenvolver efeitos anti-inflamatórios. Dentre das quimiocinas com efeito *upregulation* na resposta imune e neuroinflamatória, a família CX3C é bastante evidenciada na progressão da DA (AZIZI; KHANNAZER; MIRSHAFIEY, 2014).

O ligante de quimiocina CX3C-1 (CX3C-L1, também denominado fractalcina) desempenha um papel importante na redução da neuroinflamação e é altamente expresso na principal área de patologia na DA, como o hipocampo e o córtex cerebral. Esse achado ainda não é conclusivo, pois existe variação dessa neuroproteção no curso da doença (CHEN et al., 2016).

Apesar de pouco elucidado, os ensaios em modelos animais com DA sugerem que o déficit de receptores da CX3C no SNC tenha efeito protetor, tornando o seu receptor (CX3CR1) um possível alvo terapêutico (MARTIN, 2018). Vale ressaltar que não evidenciamos, nesta revisão, algum dado significativo quanto à participação de fractalcina como agente modificador de curso da DA.

Além das citocinas e quimiocinas inflamatórias, as células da glia podem sintetizar moléculas com atividade imunossupressora, as quais reduzem a sinalização da cascata de mediadores imunológicos e inflamatórios. Interleucinas importantes apresentam caráter anti-inflamatório, tais como IL-4, IL-13 e especialmente a IL-10 (BURMEISTER; MARRIOTT, 2018).

Um estudo recente utilizando modelos de camundongos com a DA demonstrou alguns resultados inovadores. Em primeiro ponto, chegou-se a conclusão de que a IL-12 tem relação direta com a patogenia da DA; enquanto que a

IL-10 e, em especial, a IL-4, apresentam efeito protetor da resposta neuroinflamatória (BOZA-SERRANO et al., 2018). Apesar desses achados, nesta revisão constatamos que a IL-10 tem sua concentração elevada com a progressão da DA, demonstrando caráter não protetor pro curso da doença (ASSELINEAU et al., 2015).

### Considerações Finais

Apesar de ainda não conclusivos, os achados nesta revisão sugerem que há evidente interrelação entre a neuroinflamação e a progressão da DA. Diante desses dados, diversas pesquisas têm empenhado esforços na tentativa de desvendar as citocinas inflamatórias e suas moléculas -alvo de ação.

Esta tentativa se mostra bastante plausível, pois, além de elevar o nível de compreensão da doença, ampliariam as possibilidades terapêuticas atuais de tratamento da doença, conferindo uma melhora no quadro clínico dos pacientes.

### Referência Bibliográfica

- ABD RACHMAN ISNADI, M. F. et al. Critical Roles of IL-33/ST2 Pathway in Neurological Disorders. **Mediators of Inflammation**, v. 2018, 2018.
- AHMAD, M. H.; FATIMA, M.; MONDAL, A. C. Influence of microglia and astrocyte activation in the neuroinflammatory pathogenesis of Alzheimer ' s disease : Rational insights for the therapeutic approaches. **Journal of Clinical Neuroscience**, 2018.
- ALONSO, R.; PISA, D. rre cte d Un Au tho r P roo f Identification of Fungal Species in Brain roo f rre cte d Au tho Un. 2017.
- ASHRAF, G. M. et al. The Possibility of an Infectious Etiology of Alzheimer Disease. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 6, p. 4479–4491, 2019.
- ASSELINEAU, D. et al. Interleukin-10 Production in Response to Amyloid- $\beta$  Differs between Slow and Fast Decliners in Patients with Alzheimer's Disease. **Journal of**

**Alzheimer's Disease**, v. 46, n. 4, p. 837–842, 2015.

AZIZI, G.; KHANNAZER, N.; MIRSHAFIEY, A. American Journal of Alzheimer ' s Disease and Other Dementias The Potential Role of Chemokines in Alzheimer ' s Disease Pathogenesis. 2014.

BAGYINSZKY, E. et al. Role of inflammatory molecules in the Alzheimer's disease progression and diagnosis. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 376, p. 242–254, 2017.

BAYANI, M. et al. Acta Tropica Toxoplasma gondii infection and risk of Parkinson and Alzheimer diseases : A systematic review and meta-analysis on observational studies. **Acta Tropica**, v. 196, n. May, p. 165–171, 2019.

BOSTANCIKLIOĞLU, M. An update on the interactions between Alzheimer's disease, autophagy and inflammation. **Gene**, v. 705, n. March, p. 157–166, 2019.

BOZA-SERRANO, A. et al. Innate immune alterations are elicited in microglial cells before plaque deposition in the Alzheimer's disease mouse model 5xFAD. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–16, 2018.

BU, X. L. et al. A study on the association between infectious burden and Alzheimer's disease. **European Journal of Neurology**, v. 22, n. 12, p. 1519–1525, 2015.

BURMEISTER, A. R.; MARRIOTT, I. The Interleukin-10 Family of Cytokines and Their Role in the CNS. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 12, n. November, p. 458, 2018.

CALSOLARO, V.; EDISON, P. Neuroinflammation in Alzheimer ' s disease : Current evidence and future directions. **Alzheimer's & Dementia**, n. May, p. 1–14, 2016.

CARTER, C. J. Genetic, Transcriptome, Proteomic, and Epidemiological Evidence for Blood-Brain Barrier Disruption and Polymicrobial Brain Invasion as Determinant Factors in Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease Reports**, v. 1, n. 1, p. 125–157, 2017.

CERQUERA-JARAMILLO, M. A. et al. Visual Features in Alzheimer ' S Disease : From Basic Mechanisms To Clinical Overview. **Neural Plasticity**, v. 2018, p. 1–21, 2018.

CHEN, P. et al. CX3CL1 / CX3CR1 in Alzheimer ' s Disease : A Target for Neuroprotection. v. 2016, 2016.

CUMMINGS, J. L.; TONG, G.; BALLARD, C. Treatment Combinations for Alzheimer's Disease: Current and Future Pharmacotherapy Options. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 67, n. 3, p. 779–794, 2019.

- DEZFULIAN, M. A new Alzheimer's disease cell model using B cells to induce beta amyloid plaque formation and increase TNF alpha expression. **International Immunopharmacology**, v. 59, n. October 2017, p. 106–112, 2018.
- DONG, X. et al. Association Between Interleukin-1A, Interleukin-1B, and Bridging integrator 1 Polymorphisms and Alzheimer's Disease: a standard and Cumulative Meta-analysis. **Molecular Neurobiology**, v. 54, n. 1, p. 736–747, 2017.
- EKERT, J. O. et al. TNF alpha inhibitors in alzheimer's disease: A systematic review. **International Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 33, n. 5, p. 688–694, 2018.
- ERATNE, D. et al. Alzheimer's disease: clinical update on epidemiology, pathophysiology and diagnosis. **Australasian Psychiatry**, v. 26, n. 4, p. 347–357, 2018.
- FANG, Y. et al. Evaluation of hippocampal volume and serum brain-derived neurotrophic factor as potential diagnostic markers of conversion from amnesic mild cognitive impairment to Alzheimer disease A STROBE-compliant article. **Medicine (United States)**, v. 98, n. 30, 2019.
- FINNERAN, D. J.; NASH, K. R. Neuroinflammation and fractalkine signaling in Alzheimer's disease. **Journal of Neuroinflammation**, v. 16, n. 1, p. 1–8, 2019.
- GANDY, S.; DEKOSKY, S. T. Toward the Treatment and Prevention of Alzheimer's Disease: Rational Strategies and Recent Progress. **Annual Review of Medicine**, v. 64, n. 1, p. 367–383, 2013.
- GAUGLER, J. et al. 2016 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimer's and Dementia**, v. 12, n. 4, p. 459–509, 2016.
- HAZEN, J. et al. Memory Clinic Patients With Mild Cognitive Impairment or Dementia. v. 00, n. 00, p. 1–7, 2019.
- HOPP, S. C. et al. The role of microglia in processing and spreading of bioactive tau seeds in Alzheimer's disease 11 Medical and Health Sciences 1109 Neurosciences. **Journal of Neuroinflammation**, v. 15, n. 1, p. 1–15, 2018.
- HUANG, C. et al. Genetic effect of interleukin-1 beta ( C-511T ) polymorphism on the structural covariance network and white matter integrity in Alzheimer ' s disease. **Journal of Neuroinflammation**, p. 1–13, 2017.
- ITZHAKI, R. F. et al. Do infections have a role in the pathogenesis of Alzheimer disease? **Nature Reviews Neurology**, v. 16, n. 4, p. 193–197, 2020.
- KAUR, D.; SHARMA, V.; DESHMUKH, R. Activation of microglia and astrocytes: a roadway to neuroinflammation and Alzheimer's disease. **Inflammopharmacology**, v.

27, n. 4, p. 663–677, 2019.

KAWAI, U. et al. Relationship of systemic inflammation and cellular immunity with advancement of cognitive decline in patients with Alzheimer's disease. **Clinical and Experimental Neuroimmunology**, v. 9, n. 3, p. 182–188, 2018.

KIM, Y. S.; LEE, K. J.; KIM, H. Serum tumour necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6 levels in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. **Psychogeriatrics**, v. 17, n. 4, p. 224–230, 2017.

KINNEY, J. W. et al. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions**, n. September, p. 1–16, 2018.

LIM, S. L.; RODRIGUEZ-ORTIZ, C. J.; KITAZAWA, M. Infection, systemic inflammation, and Alzheimer's disease. **Microbes and Infection**, v. 17, n. 8, p. 549–556, 2015.

LIU, C. et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: Chemokines produced by astrocytes and chemokine receptors. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 7, n. 12, p. 8342–8355, 2014.

MAGALHÃES, T. N. C. et al. Systemic Inflammation and Multimodal Biomarkers in Amnesic Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. **Molecular Neurobiology**, v. 55, n. 7, p. 5689–5697, 2018.

MAHAMI-OSKOEI, M. et al. Toxoplasmosis and Alzheimer: can *Toxoplasma gondii* really be introduced as a risk factor in etiology of Alzheimer? **Parasitology Research**, v. 115, n. 8, p. 3169–3174, 2016.

MARTIN, E. ScienceDirect Complex role of chemokine mediators in animal models of Alzheimer's Disease. p. 1–7, 2018.

NAJ, A. C.; SCHELLENBERG, G. D. Genomic variants, genes, and pathways of Alzheimer's disease: An overview. **American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics**, v. 174, n. 1, p. 5–26, 2017.

NAYERI CHEGENI, T. et al. Is *Toxoplasma gondii* a potential risk factor for Alzheimer's disease? A systematic review and meta-analysis. **Microbial Pathogenesis**, v. 137, n. September, 2019.

NG, A. et al. IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  and CRP in Elderly Patients with Depression or Alzheimer's disease: Systematic Review and Meta-Analysis. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–12, 2018.

OLSSON, B. et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's

disease: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Neurology**, v. 15, n. 7, p. 673–684, 2016.

ORTIZ-GUERRERO, G. et al. Pathophysiological Mechanisms of Cognitive Impairment and Neurodegeneration by *Toxoplasma gondii* Infection. **Brain Sciences**, v. 10, n. 6, p. 369, 2020.

OU, Y.-N. et al. Associations of Infectious Agents with Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 75, n. 1, p. 299–309, 2020.

OZBEN, T.; OZBEN, S. Neuro-inflammation and anti-inflammatory treatment options for Alzheimer's disease. **Clinical Biochemistry**, v. 72, p. 87–89, 2019.

PANZA, F. et al. A critical appraisal of amyloid- $\beta$ -targeting therapies for Alzheimer disease. **Nature Reviews Neurology**, v. 15, n. 2, p. 73–88, 2019.

PERRY, C. E. et al. Seroprevalence and Serointensity of Latent *Toxoplasma gondii* in a Sample of Elderly Adults with and Without Alzheimer Disease. **Alzheimer Disease and Associated Disorders**, v. 30, n. 2, p. 123–126, 2016.

PINTO, T. C. C. et al. Is the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) screening superior to the Mini-Mental State Examination (MMSE) in the detection of mild cognitive impairment (MCI) and Alzheimer's Disease (AD) in the elderly? **International Psychogeriatrics**, v. 31, n. 4, p. 491–504, 2019.

ROTHAUG, M.; BECKER-PAULY, C.; ROSE-JOHN, S. The role of interleukin-6 signaling in nervous tissue. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research**, v. 1863, n. 6, p. 1218–1227, 2016.

SHAHROKHI, V. M. et al. IL-17A and IL-23: plausible risk factors to induce age-associated inflammation in Alzheimer's disease. **Immunological Investigations**, v. 00, n. 00, p. 1–11, 2018.

SOCHOCKA, M.; ZWOLIŃSKA, K.; LESZEK, J. The Infectious Etiology of Alzheimer's Disease. **Current Neuropharmacology**, v. 15, n. 7, p. 996–1009, 2017.

SUMBRIA, R.; CHANG, R.; YEE, K.-L. Tumor necrosis factor  $\alpha$  Inhibition for Alzheimer's Disease. **Journal of Central Nervous System Disease**, v. 9, n. 0, p. 0–4, 2017.

TÖNNIES, E.; TRUSHINA, E. Oxidative Stress, Synaptic Dysfunction, and Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 57, n. 4, p. 1105–1121, 2017.

TORRES, L. et al. *Toxoplasma gondii* alters NMDAR signaling and induces signs of

- Alzheimer's disease in wild-type, C57BL/6 mice. **Journal of Neuroinflammation**, v. 15, n. 1, p. 1–19, 2018.
- VALOTASSIOU, V. et al. SPECT and PET imaging in Alzheimer's disease. **Annals of Nuclear Medicine**, v. 32, n. 9, p. 583–593, 2018.
- WALKER, K. A. et al. Unco rre cte d Au tho r P roo f Unco rre cte d Au tho r P f. 2018.
- WEBERS, A.; HENEKA, M. T.; GLEESON, P. A. **The role of innate immune responses and neuroinflammation in amyloid accumulation and progression of Alzheimer's disease**. [s.l: s.n.]. v. 98
- WU, Y. Y. et al. Alterations of the Neuroinflammatory Markers IL-6 and TRAIL in Alzheimer's Disease. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders Extra**, v. 5, n. 3, p. 424–434, 2015.
- XIONG, Z. et al. Alzheimer's disease: Evidence for the expression of interleukin-33 and its receptor ST2 in the brain. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 40, n. 2, p. 297–308, 2014.