

ESCOLA DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GERONTOLOGIA BIOMÉDICA

JULIANA DE REZENDE LOVERA

**ANÁLISE DO POTENCIAL DA RAZÃO CORTISOL/DHEAS CAPILAR COMO INDICADOR
DE NÍVEL DE ESTRESSE E DECLÍNIO COGNITIVO EM IDOSOS**

Porto Alegre
2020

PÓS-GRADUAÇÃO - *STRICTO SENSU*



Pontifícia Universidade Católica
do Rio Grande do Sul

JULIANA DE REZENDE LOVERA

**ANÁLISE DO POTENCIAL DA RAZÃO CORTISOL/DHEAS CAPILAR COMO
INDICADOR DE NÍVEL DE ESTRESSE E DECLÍNIO COGNITIVO EM IDOSOS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica da Escola de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul como requisito para a obtenção do título de Mestre em Gerontologia Biomédica.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Elke Bromberg

Porto Alegre

2020

Ficha Catalográfica

L911a Lovera, Juliana de Rezende

Análise do potencial da razão cortisol/DHEAS capilar como indicador de nível de estresse e declínio cognitivo em idosos / Juliana de Rezende Lovera. – 2020.

108 f.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica, PUCRS.

Orientadora: Profa. Dra. Elke Bromberg.

1. Estresse Crônico. 2. Desempenho Cognitivo. 3. Idosos. 4. Cortisol Capilar. 5. DHEAS Capilar. I. Bromberg, Elke. II. Título.

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

Bibliotecária responsável: Loiva Duarte Novak CRB-10/2079

JULIANA DE REZENDE LOVERA

**ANÁLISE DO POTENCIAL DA RAZÃO CORTISOL/DHEAS CAPILAR COMO
INDICADOR DE NÍVEL DE ESTRESSE E DECLÍNIO COGNITIVO EM IDOSOS**

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica da Escola de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul como requisito para a obtenção do título de Mestre em Gerontologia Biomédica.

Linha de Pesquisa: Aspectos clínicos e emocionais no envelhecimento

Aprovada em: ____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a. Dra. Elke Bromberg – Orientadora PUCRS

Prof^a. Dra. Janete de Souza Urbanetto - PUCRS

Prof. Dra Nadja Schröder - UFRGS

Porto Alegre

2020

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.” (Arthur Schopenhauer)

AGRADECIMENTOS

A presente dissertação de mestrado não poderia chegar a bom porto sem o precioso apoio de várias pessoas.

Em primeiro lugar, não posso deixar de agradecer a minha orientadora, Professora Doutora Elke Bromberg, por toda a paciência, empenho e sentido prático com que sempre me orientou neste trabalho e em todos aqueles que realizei durante as atividades do mestrado. Muito obrigada por me ter corrigido quando necessário sem nunca me desmotivar.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES), por financiar os meus estudos– Código de Financiamento 001.

Ao Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS).

Aos nossos IC's, que estiveram presentes, agradeço ao bolsista Cristophod de Souza dos Santos e Luisa Kleveston, pela disponibilidade e dedicação. Também gostaria de agradecer ao Gabriel Rubensam, Analista de Laboratório Toxicológico, pela realização das análises.

Aos meus amigos pelo apoio incondicional que me deram.

À minha família, meus pais, irmã, cunhado, sobrinhas, sogro e sogra, por todo incentivo, pelas palavras de apoio e orações.

Por fim, o principal idealizador dessa conquista, meu esposo, Rodrigo Gueiral Boucinha, por todo amor, apoio e incentivo.

Agradeço à todas as participantes desde estudo, não seria possível sem vocês.

Obrigada a todos!

RESUMO

O estresse crônico está relacionado a um declínio precoce e exacerbado da função cognitiva em idosos, o qual parece ser mediado pelo cortisol. Entretanto, os estudos que procuram estabelecer associações entre os níveis de cortisol e desempenho cognitivo em idosos são controversos, em parte pelo tipo de amostra biológica que utilizam (soro, saliva, urina), que não é capaz de monitorar alterações de longa duração na secreção de cortisol, e possivelmente por analisarem apenas o cortisol, ignorando esteroides neuroprotetores, como o DHEA-S. O presente estudo teve por objetivo verificar se a razão cortisol/DHEA-S capilar é um marcador mais sensível das disfunções cognitivas de idosos do que o cortisol capilar isoladamente. Idosos ($n=59$, 70.60 ± 7.74 anos) foram classificados de acordo com o Inventário de Sintomas de Estresse em dois grupos, estressado e não estressado (controle), e submetidos a uma bateria de testes neuropsicológicos que avaliam componentes da função executiva (Trail A e B, Span Direto e Reverso, Stroop, Fluência Verbal e Fonêmica) e memória declarativa (Memória Lógica I e II). Amostras de cabelo foram coletadas para mensuração do cortisol e DHEA-S por Espectrometria de Massas em Tandem (LC-MS/MS). Os resultados obtidos indicaram que os idosos do grupo com estresse apresentaram performance cognitiva levemente inferior aos controles e níveis mais elevados de cortisol e da razão cortisol/DHEA-S. O cortisol mostrou uma associação mais robusta com o estresse do que a razão cortisol/DHEA-S. Entretanto, não foram encontradas associações significativas entre o cortisol ou a razão cortisol/DHEA-S com o declínio cognitivo dos idosos. Em conclusão, o cortisol capilar foi um marcador mais sensível de estresse do que a razão cortisol/DHEA-S. Ainda assim, nenhuma das medidas foi capaz de prever o desempenho cognitivo dos idosos.

Palavras-chave: Estresse Crônico. Desempenho Cognitivo. Idosos. Cortisol Capilar. DHEAS. Razão cortisol/DHEAS

ABSTRACT

Chronic stress is related to an early and exacerbated decline in cognitive function in the elderly, which appears to be mediated by cortisol. However, studies seeking to establish associations between cortisol levels and cognitive performance in the elderly are controversial, in part because of the type of biological sample they use (serum, urine saliva), which is not able to monitor long-term changes in the secretion of cortisol, and possibly for analyzing only cortisol, ignoring neuroprotective steroids, such as DHEA-S. The present study aimed to verify whether the cortisol/DHEA-S ratio of hair samples is a more sensitive biomarker of cognitive dysfunction in the elderly than hair cortisol alone. Elderly (70.60 ± 7.74 years, $n = 59$) were classified according to the Lipp Stress Symptoms Inventory for Adults into two groups, stressed and not stressed (control), and subjected to a battery of neuropsychological tests that evaluated components of executive function (Trail A and B, Direct and Reverse Span, Stroop, Verbal and Phonemic Fluency) and declarative memory (Logical Memory I and II). Hair samples were collected to measure cortisol and DHEA-S levels by Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS). Elderly of the stress group presented a slight cognitive impairment in comparison to the control group and higher levels of cortisol and cortisol/DHEA-S ratios. Cortisol showed a more robust association with stress than the cortisol/DHEA-S ratio. However, no significant associations were found between cortisol or the cortisol/DHEA-S ratio and cognitive performance in the elderly. In conclusion, capillary cortisol was a more sensitive marker of stress than the cortisol/DHEA-S ratio. Still, none of the measures was able to predict the cognitive performance of the elderly.

Keywords: Chronic Stress. Cognitive performance. Elderly. Hair Cortisol. DHEAS. Cortisol/DHEAS ratio.

LISTA DE SIGLAS

ABRAZ	Associação Brasileira de Alzheimer
CHC	Concentrações de Cortisol no Cabelo
DA	Doença de Alzheimer
DHEA	Dehidroepiandrosterona
DHEAS	Dehidroepiandrosterona Sulfato
EEP	Escala de Estresse Percebido
ESL	Escala de Sintomas da LIPP
GDS-15	Escala de Depressão Geriátrica
GR	Receptor Glicocorticóide
H0	Hipótese Nula
H1	Hipótese Alternativa
HPA	Eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal
IAG	Inventário de Ansiedade Geriátrica
ISSL	Inventário de Sintomas de Stress para Adultos de Lipp
LC-MS/MS	Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry
MEEM	Mini Exame do Estado Mental
MR	receptor mineralocorticóide
MS	Ministério da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
PUCRS	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
TMT	Trail Making Test
WAIS-III	Subteste Dígitos da Escala de Inteligência Wechsler para adultos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	12
2.1	ENVELHECIMENTO, ESTRESSE E COGNIÇÃO.....	12
2.2	RELAÇÃO ENTRE ESTRESSE E CORTISOL	12
2.3	EFEITOS DO ESTERÓIDE DEHIDROEPIANDROSTERONA-DHEA NO ENVELHECIMENTO	15
2.4	CORTISOL E DESEMPENHO COGNITIVO.....	16
3	OBJETIVOS.....	18
3.1	OBJETIVO GERAL.....	18
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
4	HIPÓTESES	19
5	MÉTODO.....	20
5.1	DELINEAMENTO	20
5.2	POPULAÇÃO E AMOSTRA	20
5.3	CRITÉRIOS DE SELEÇÃO	20
5.3.1	Critérios de inclusão.....	20
5.3.2	Critérios de exclusão	21
5.4	INSTRUMENTOS PARA COLETA DE DADOS.....	21
5.5	PARÂMENTROS BIOQUÍMICOS.....	23
5.5.1	Análise do Cortisol e DHEA-S capilar	23
5.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
5.7	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	25
6	ARTIGO CIENTÍFICO SUBMETIDO	26
7	CONCLUSÃO	60
	REFERÊNCIAS	62
	APÊNDICE A– TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) - CUIDADORES	71
	APÊNDICE B– TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) - CONTROLE	73
	APÊNDICE C – INSTRUMENTO DE PESQUISA AGRUPADO	76
	ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP.....	104

1 INTRODUÇÃO

Segundo dados do Ministério da Saúde, em 2025, o Brasil será o 6º país do mundo quanto ao contingente de idosos (BRASIL, 2010), e que esse envelhecimento populacional é uma resposta à mudança de três indicadores de saúde: a queda da taxa de fecundidade, a redução da mortalidade e o aumento da expectativa de vida.

Segundo a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) o envelhecimento pode ser entendido como um “processo sequencial, individual, acumulativo, irreversível, universal, não patológico, de deterioração de um organismo maduro com menos capacidade de fazer frente o estresse do meio-ambiente, desta forma aumentando sua possibilidade de morte”(WHO, 2005). Ferreira *et al.* (2010) afirmam que o envelhecimento pode ser conceituado como um conjunto de modificações morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e psicológicas, que determinam a perda progressiva da capacidade de adaptação do indivíduo ao meio ambiente, sendo considerado um processo dinâmico e progressivo.

O envelhecimento é um processo natural, no qual pode ocorrer diminuição progressiva da reserva funcional dos indivíduos (WHO, 2005). No entanto, em alguns casos, esse processo é agravado, dependendo de fatores ambientais, emocionais e cognitivos, gerando um estado patológico que influencia na diferenciação desse sistema, ou seja, o envelhecimento não acontece da mesma forma e ao mesmo tempo para todos os indivíduos (LAMPERT, 2009).

Esses déficits cognitivos relacionados à idade são bastante salientes e tarefas que envolvam memória declarativa e memória de trabalho, dependem dos lobos temporais e frontais, respectivamente, são especialmente afetados. Especificamente, no que diz respeito ao lobo temporal, Ta *et al.* (2011) sugerem que durante o envelhecimento pode ocorrer perda neuronal, redução da potenciação de longa duração e diminuição do crescimento dendrítico no hipocampo.

Desta forma, a associação entre estresse e envelhecimento pode promover prejuízos importantes às funções neuronais de diferentes estruturas cerebrais, exacerbando os déficits cognitivos decorrentes de outros fatores (DATSON *et al.*, 2008; ARTOLA *et al.*, 2006; SONG; KOSTEN, 2006; BRAVER *et al.*, 2001).

Portanto, torna-se clara a necessidade de estudos que analisem os mecanismos pelos quais o estresse leva ao declínio cognitivo e identifiquem fatores de risco capazes de potenciar os efeitos do estresse, de modo que possam ser desenvolvidas estratégias adequadas de prevenção, suporte e manejo para esta população. Desta forma, pretendemos contribuir para o

esclarecimento de possíveis déficits cognitivos oriundos do estresse crônico, bem como avaliar a relação entre o estresse e envelhecimento na predisposição a alterações cognitivas, tais como, a memória, função executiva e atenção, bem como fisiológicas, como os níveis de Cortisol e DHEA capilar. Acreditamos que nossos resultados possam fornecer subsídios para o estabelecimento de medidas preventivas que minimizem os impactos do estresse na população idosa, melhorando a qualidade de vida destes indivíduos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ENVELHECIMENTO, ESTRESSE E COGNIÇÃO

A idade cronológica por si só não é suficiente para prever o estado do envelhecimento do cérebro e do corpo (MCEWEN, 1999). O problema que as diferenças individuais colocam para os estudos sobre envelhecimento é que os indivíduos cronicamente estressados devem ser avaliados quanto ao status cognitivo e físico, em relação a outros indivíduos da mesma idade, para entender o significado fisiológico, neuroatômico, neuroquímico e molecular dos achados (MCEWEN, GOULD; SAKAI, R. R, 1992). Neste contexto torna-se especialmente importante entender como o estresse afeta os níveis de substâncias neurotóxicas e neuroprotetoras, e os desfechos destas alterações no desempenho cognitivo de idosos.

2.2 RELAÇÃO ENTRE ESTRESSE E CORTISOL

O efeito do estresse sobre as funções cognitivas, bem como seus correlatos neuronais e neuromoleculares, é tema de muitos estudos, (HANSON *et al.*, 2011; NOOSHINFAR; AKBARZADEH-BAGHBAN; MEISAMI, 2011; SANDI, 2004; MCEWEN, 2000; BREMNER, 1999). A maioria destes trabalhos tem mostrado que ele pode provocar diversas alterações em importantes estruturas do cérebro, como por exemplo o hipocampo e o córtex pré-frontal, regiões envolvidas em aspectos cognitivos (KOZISEK; MIDDLEMAS; BYLUND, 2008; YAMADA; NABESHIMA, 2003).

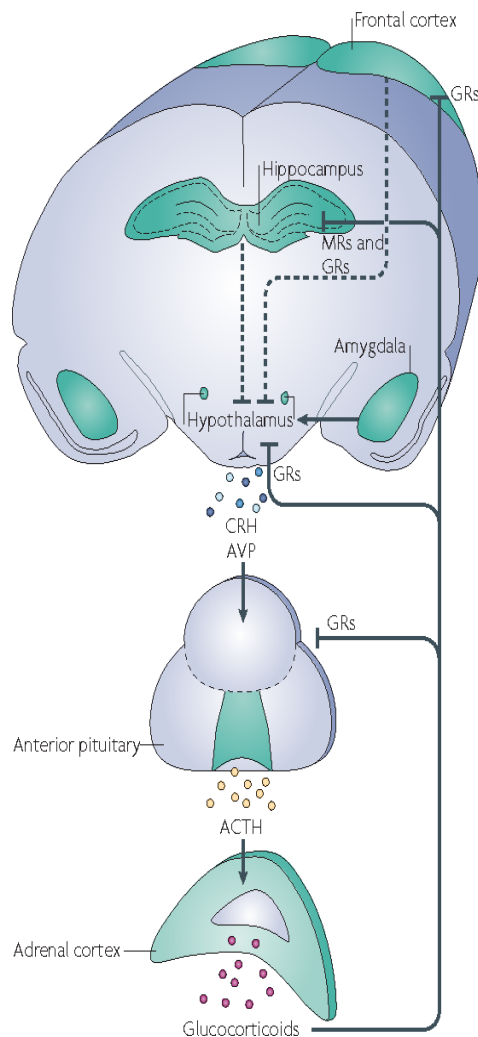
Dentre os componentes das funções cognitivas que parecem estar afetadas em indivíduos em estado de estresse crônico estão: a memória de trabalho, a atenção, resposta inibitória, velocidade de processamento (HOLMES; WELLMAN, 2009; LINDAUER *et al.*, 2006; SANDI, 2004; BREMNER, 1999).

Estudos mostram redução do volume do lobo temporal de ratos submetidos a estresse (CONRAD, 2008) e sugerem dano na potenciação de longa duração (LTP), um dos principais mecanismos subjacentes à formação e armazenamento de memória no cérebro (DATSON *et al.*, 2008). Há também trabalhos de neuroimagem em humanos mostrando uma redução do volume do hipocampo (LINDAUER *et al.*, 2006; VILLAREAL *et al.*, 2002; BREMNER, 1999) e do córtex pré-frontal (KARL *et al.*, 2006; CARRION *et al.*, 2001) em casos de estresse crônico. McEwen (2000) sugere que o estresse prolongado pode levar a

supressão da neurogênese e morte neuronal, ocasionando diversos prejuízos cognitivos ao indivíduo.

O cortisol é um hormônio produzido na zona fasciculada da região cortical das glândulas supra-renais (Kozlov et al., 2014), sendo secretado em resposta a estímulos estressores. Neurônios hipotalâmicos liberam um neuropeptídeo, o hormônio liberador de corticotropina (CRH), o qual estimula a hipófise anterior a secretar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) para a corrente sanguínea, o qual por sua vez estimula as adrenais liberarem cortisol (Figura 1) (LUPIEN, 2009)

Figura 1 - Mecanismo neurofisiológico da resposta ao estresse



Fonte: Lupien (*et al.*, 2009)

O ajuste fisiológico a situações estressoras denomina-se alostase (RAMSAY; WOODS, 2014) e envolve a ativação do eixo HPA, com o consequente aumento da secreção do mediador primário da resposta ao estresse, o hormônio cortisol (MCEWEN, 2012). O cortisol modula as funções de diversos órgãos e sistemas (nervoso, cardiovascular, metabólico, endócrino, imunológico), promovendo as respostas adaptativas ao estresse (MCEWEN, 2004).

O feedback negativo do cortisol sobre o eixo hipotálamo-pituitária normalmente é responsável pelo encerramento da resposta ao estresse e normalização dos níveis circulantes de glicocorticoides (LUPIEN *et al.*, 2009). Entretanto, em situações de estresse crônico este feedback não funciona adequadamente, de modo que o organismo é exposto a uma sobrecarga alostática, caracterizada pela hiperatividade do eixo HPA e por níveis cronicamente elevados de cortisol, o qual passa a apresentar efeitos neurotóxicos (MCEWEN, 2004; HENCKENS *et al.*, 2012). A hiperatividade do eixo hipotálamo-pituitária adrenal (HPA), parece ser a base fisiológica das disfunções cognitivas dos idosos cronicamente estressados (ALLEN *et al.*, 2017). Em estudos prévios demonstra-se que o declínio cognitivo desses indivíduos é acompanhado pelo aumento nos níveis de cortisol (potencialmente neurotóxico) (MCEWEN, 2000; DATSON *et al.*, 2008; HENCKENS *et al.*, 2012).

De acordo com Sandi (2004), a hipercotisolemia provoca diminuição da arborização dendrítica em neurônios hipocampais (estrutura com expressiva quantidade de receptores GR e MR), bem como alteração na ramificação dos neurônios da amígdala, região importante nos processos cognitivos e com moderada quantidade de receptores GR. Outra área altamente sensível a alta concentração de cortisol é o córtex-frontal, altamente carregada de receptores GR, já foram demonstrados diversos efeitos deletérios sobre neurônios dessa região, como redução no comprimento dendrítico, alteração axonal, bem como morte neuronal (SHANSKY; MORRISON, 2009).

Há estudos demonstrando que o excesso dos níveis circulantes de cortisol provoca um aumento na ativação dos receptores GR e MR, inibindo a potenciação de longa duração (LPT), na região CA1 do hipocampo (ARTOLA *et al.*, 2006; KIM *et al.*, 2006; KIM; DIAMOND, 2002), mecanismos extremamente importante na aquisição de memória no sistema nervoso central (KUMAR, 2011; JOELS; KRUGERS, 2007; BUWALDA *et al.*, 2005; HUANG; YANG; HSU, 2005). A ação prolongada desses glicocorticoide também gera a supressão da neurogênese morte neuronal, promovendo disfunções cognitivas (MCEWEN, 2000), bem como altera a modulação da atividade de diferentes sistemas de neurotransmissores, afetando a plasticidade sináptica e a memória (HENCKENS *et al.*, 2012;

DATSON *et al.*, 2008). De acordo com Sandi (2004), essas alterações ocorrem, principalmente, via a modulação do cortisol na supressão de fatores de transcrição de neurotransmissores.

2.3 EFEITOS DO ESTERÓIDE DEHIDROEPIANDROSTERONA-DHEA NO ENVELHECIMENTO

Em situações de estresse elevado ocorre também a liberação de outro esteroide que promove ações contrárias ao glicocorticoide (YOUNG; GALLAGHER; PORTER, 2002). A dehidroepiandrosterona (DHEA), que é circulada em forma de sulfato DHEAS em humanos (HENNEBERT *et al.*, 2007), é um hormônio sintetizado pela zona reticular na porção medular das adrenais (STÁRKA; DUŠKOVÁ; HILL, 2015) e também secretado no sistema nervoso central, razão pela qual esse anti-glicocorticóide é chamado neuroesteroide.

O DHEAS tem ações antioxidantes, sendo considerado um hormônio antienvhecimento, além de promover reparo tecidual e controlar os efeitos da hipercortisolemia gerada pelo estresse crônico (LONGONE *et al.*, 2011).

Alguns estudos sugerem que a DHEAS reduz os níveis de receptores glicocorticoides (GALLAGHER *et al.*, 2007), inibe os neurotransmissores excitatórios (como os glutamatérgicos e colinérgicos) (WEBB *et al.*, 2006), promove o aumento de neurotrofinas que aumentam a sobrevivência e o reparo neuronal (HASSANI *et al.*, 2011).

A relação cortisol / DHEA tem sido considerada como mais informativa da ação relativa dos dois esteroides no cérebro do que os valores isolados dos mesmos (MANINGER *et al.*, 2009; KAMINSKA *et al.*, 2000; HECHTER; GROSSMAN; CHATTERTON, 1997).

A literatura evidencia que alterações na razão cortisol/DHEAS tem um potencial negativo na expressão de fatores protetores do sistema nervoso central, como por exemplo as neurotrofinas (PLUCHINO *et al.*, 2013; WOLKOWITZ *et al.*, 2010).

O cortisol e o DHEAS influenciam os processos relacionados ao metabolismo energético, função imune e neurodegeneração e podem desempenhar um papel significativo no envelhecimento humano (CARLSON; SHERWIN; CHERKTKOW, 1999; PARKER, 1997). Semelhantes aos achados no estudo de Bruin, Parker e Fischhoff em 2007, Leblhuber *et al.* em 1995 mostrou que em indivíduos normais ocorreram uma correlação negativa de DHEAS com a idade, enquanto não foi encontrada uma diminuição significativa dos níveis plasmáticos de cortisol. Estudos anteriores mostraram uma relação entre razão cortisol/DHEAS e comprometimento cognitivo (CARLSON; SHERWIN; CHERKTKOW,

1999; KALMIJN *et al.*, 1998) ou idade (GUAZZO *et al.*, 1996). A relação cortisol/DHEAS pode ser mais importante que os valores isolados de cortisol e DHEAS e pode indicar que altos níveis de cortisol e baixos níveis de DHEAS no envelhecimento e na demência contribuem para uma ação tóxica no cérebro ou, caso contrário, esses achados podem representar apenas uma consequência do processo do envelhecimento e demência (BRUIN; PARKER; FISCHHOFF, 2007).

2.4 CORTISOL E DESEMPENHO COGNITIVO

Vários estudos (KARKAMENGLA *et al.*, 2005; MACLULLICH *et al.*, 2005; LI *et al.*, 2006; LEE *et al.*, 2007; COMIJS *et al.*, 2010; GERRITSEN *et al.*, 2011) utilizaram amostras de saliva, de sangue ou urina para medir a atividade do eixo HPA. Essas amostras biológicas são úteis para obter informações sobre a dinâmica do eixo HPA, pois amostras repetidas permitem que os pesquisadores meçam variações dos níveis de cortisol em um determinado período, comparando pontos diferentes, e também podem ser usadas para determinar as variações diárias dos níveis de cortisol.

Essas amostras biológicas refletem medidas pontuais (plasma ou saliva) ou níveis integrais de cortisol por algumas horas (urina). Portanto um grande número de amostras seria necessário para medir a exposição ao cortisol por um intervalo de meses. Além disso, os níveis de cortisol medidos na saliva, no sangue, ou na urina podem ser altamente variáveis, pois provavelmente serão afetados por vários fatores que podem ocorrer logo antes da amostragem (STALDER; KIRSCHBAUM, 2012 *apud* GERBER, 2012).

Assim, embora essas medidas tenham contribuído bastante para entender a relação de curto prazo entre a atividade do eixo HPA e o desempenho cognitivo, são necessárias muito mais pesquisas para explorar a relação entre a exposição endógena a longo prazo do cortisol (meses) e o desempenho cognitivo (PULOPULOS *et al.*, 2014).

A medição dos níveis de cortisol no cabelo, uma maneira recentemente desenvolvida e mais estável de medir a exposição basal ao cortisol ao longo de meses do que amostras salivares, de sangue ou de urina, parece ser um bom candidato para uso neste contexto. As concentrações de cortisol no cabelo (CHC) têm sido consideradas uma medida integrada de exposição ao cortisol por um período de vários meses (RUSSELL *et al.*, 2011; STALDER; KIRSCHBAUM, 2012). Estudos anteriores mostraram que o CHC pode não ser afetado pela ritmicidade circadiana e contexto situacional e apresentam um alto grau de estabilidade intraindividual (SKOLUDA *et al.*, 2012; STALDER *et al.*, 2012; SHARPLEY *et al.*, 2012).

No entanto, por se tratar de um técnica relativamente nova, algumas questões ainda permanecem sem resposta, como os mecanismos fisiológicos pelos quais o cortisol entra no cabelo (MEYER; NOVAK, 2012)

Pulopulos *et al.* (2014) encontraram evidências de uma associação entre baixa exposição ao cortisol a longo prazo, medida no cabelo do couro cabeludo, e pior função executiva (memória de trabalho) e memória verbal (aprendizado a curto e longo prazo e memória verbal). Esta associação vai em direção oposta observada em estudos realizados com dados de saliva, sangue ou urina (AHN *et al.*, 2007; COMIJS *et al.*, 2010). Segundo Pulopulos *et al.* (2014) isso ocorre devido ao fato que a medição de cortisol capilar serve como um biomarcador da atividade integrada ao eixo HPA ao longo de meses.

Este projeto tem como objetivo de estudo a relação entre estresse e declínio cognitivo em idosos por meio de análise do potencial de razão Cortisol/DHEAS capilar.

3 OBJETIVOS

Nesta seção, será descrito os objetivos do estudo.

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar o potencial de razão Cortisol/DHEAS capilar com diferentes níveis de estresse e desempenho cognitivo em idosos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Analisar o nível de estresse de idosos;
- b) Analisar o desempenho cognitivo de indivíduos idosos em tarefas de atenção/memória/ linguagem e velocidade de processamento;
- c) Análisar os níveis de cortisol capilar;
- d) Análisar a DHEAS capilar;
- e) Verificar a relação do cortisol, DHEAS e cortisol /DHEAS com o nível de estresse;
- f) Verificar a relação do cortisol, DHEAS e cortisol /DHEAS com o desempenho cognitivo.

4 HIPÓTESES

- a) **Hipótese Nula (H0):** Cortisol/DHEAS capilar não são indicativos de nível de estresse e declínio cognitivo em idosos;
- b) **Hipótese Alternativa (H1):** Cortisol/DHEAS capilar são indicativos de nível de estresse e declínio cognitivo em idosos.

5 MÉTODO

5.1 DELINEAMENTO

O presente estudo caracteriza-se por um estudo observacional, transversal, analítico.

5.2 POPULAÇÃO E AMOSTRA

A população do estudo foi constituída de idosos participantes de grupos de convivência da terceira idade e familiares cuidadores de pessoas com doença de Alzheimer recrutados a partir da Associação Brasileira de Alzheimer (ABRAZ) de Porto Alegre e Santa Maria. A inclusão de cuidadores familiares de pacientes demenciados teve por objetivo garantir a presença de voluntários no estudo com alto nível de estresse, conforme demonstrado em estudos prévios de nosso e outros grupos de pesquisa. escolha por esta população se justifica por se caracterizarem como pessoas com alto nível de estresse (MCEWEN *et al.*, 2012; VITALIANO, 2011; VITALIANO, 2010; LUPIEN *et al.*, 2009; SANDI, 2004).

5.3 CRITÉRIOS DE SELEÇÃO

5.3.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo idosos na faixa etária entre 60 a 80 anos. Todos os voluntários apresentavam pelo menos 4 anos de estudo formal. Somente os voluntários que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido participaram do estudo.

Os idosos foram recrutados em diferentes ambientes: a partir da comunidade, de grupos de convivência da terceira idade e da Associação Brasileira de Alzheimer (ABRAZ) das cidades de Santa Maria e Porto Alegre (RS, Brasil).

Os indivíduos selecionados na ABRAZ eram familiares da pessoa com DA e deveriam estar exercendo a atividade de cuidador no mínimo 40 horas/semana e por pelo menos 1 ano – a partir de estudos que mostram que o estresse crônico na vida dos cuidadores é gerada pelo excesso de horas de cuidado dedicado por dia ao longo de muitos meses (CRUZ; HAMDAN 2008; MANIZINI *et al.*, 2016).

5.3.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo os indivíduos classificados em qualquer um dos itens abaixo:

- a) Déficits sensoriais (auditivos e visuais) incompatíveis com a realização das tarefas de avaliação de desempenho cognitivo;
- b) Pontuação no teste de Miniexame do Estado Mental (MEEM), (FOLSTEIN, M.; FOLSTEIN, S.; MCHUGH, 1975) compatível com quadros demências (BERTOLUCCI *et al.*, 1994);
- c) Comprometimento neurológico atual ou passado (doenças, traumatismos); Doenças crônicas descompensadas (diabetes, hipo-hipertireoidismo, cardiopatias), condições inflamatórias, infecções atuais, neoplasias, imunodeficiência, disfunções sanguíneas;
- d) Utilização de medicação que afete eixo HPA.

5.4 INSTRUMENTOS PARA COLETA DE DADOS

Todas as avaliações foram realizadas em um encontro de duas horas, durante o qual os voluntários serão submetidos:

Questionário dados sociodemográfico: O questionário incluirá as variáveis de idade, sexo, estado civil, escolaridade, espiritualidade, renda, situação de moradia, ocupação atual, atividades de lazer, uso de cigarro e bebida (quantidade e frequência), atividade física realizada e participação em grupos de idosos.

Questionário de dados de saúde: Consiste em um questionário, produzido pelas pesquisadoras, com o objetivo de rastrear dados de saúde geral dos participantes (uso de medicação, histórico de doenças e tratamentos).

Escala de depressão geriátrica (GDS-15): Avaliação dos sintomas de depressão em idosos. A escala tem 15 itens de respostas dicotômicas “sim” ou “não”. Validada e adaptada no Brasil por Almeida e Almeida (1999).

Inventário de Ansiedade Geriátrica (IAG): Avaliação dos sintomas de ansiedade na terceira idade, enfatizando queixas não somáticas. Essa escala tem vinte itens de respostas dicotômicas “concordo” ou “discordo”. O inventário foi adaptado por Massena *et al.* (2014).

Escala de Estresse Percebido (EEP): Uma escala tipo *likert* de 14 itens que mensura o grau no qual os indivíduos percebem as situações como estressante, avaliando os

pensamentos e sentimentos referentes ao último mês (LUFT; SANCHES; MAZO; ANDRADE, 2007).

Inventário de Sintomas de Stress para Adultos de Lipp (ISSL): O instrumento avalia quadros característicos do estresse e a fase em que a pessoa se encontra - alerta, resistência, quase-exaustão e exaustão. O inventário objetiva rastrear os sintomas físicos e psicológicos relacionados ao estresse do último dia, da última semana e do último mês (LIPP, 2005).

Mini Exame do Estado Mental (MEEM): (FOLSTEIN, M.; FOLSTEIN, S.; MCHUGH, 1975). É um dos instrumentos de rastreio de comprometimento cognitivo. Composto por 30 itens que avaliam, dentre outros domínios, a orientação espacial, a orientação temporal, a memória imediata e a memória de evocação. Consiste em uma bateria simples de 20 testes, totalizando 30 pontos, e se gasta de 5 a 8 minutos para que seja completado. O MEEM apresenta consistência interna moderada e boa confiabilidade de teste-reteste os pontos de corte utilizados foram os seguintes: baixa escolaridade : 1 a 4 anos incompletos pontuação < 13; média escolaridade: 4 a 8 anos incompletos, pontuação < 18 e alta escolaridade: 8 anos ou mais < 26 (Bertolucci *et al.*, 1994)

Teste de Fluência Verbal Semântica - Categoria Animais: Avalia o processamento das funções executivas, verifica a capacidade de organização do pensamento e as estratégias utilizadas para a busca de palavras. O indivíduo é solicitado a falar o maior número de nomes de animais possíveis dentro de um minuto. O escore corresponde ao número total de animais que forem citados nesse período. Repetições não serão consideradas (STRAUSS; SHERMAN; SPREEN, 2006). Brucki e Rocha, (2004) apresentam os dados normativos para o público idoso.

Teste de Fluência Verbal Fonêmica: avaliação de fluência verbal fonética, medida sensível de funções executivas, a flexibilidade cognitiva e a busca lexical. O indivíduo deve falar o máximo de palavras começando com as letras “F”, “A” e “S”, em três tentativas de 60 segundos, uma para cada letra. O escore corresponde ao número total de palavras citadas, iniciadas pelas respectivas letras (STRAUSS; SHERMAN; SPREEN, 2006).

Subteste Dígitos da Escala de Inteligência Wechsler para adultos (WAIS-III): Teste neuropsicológico que avalia capacidade atencional e de memória de trabalho. O subteste dígitos é composto por uma sequência de números, enunciada direta e inversamente. Existem dados normativos para idosos (WECHSLER, 1987 *apud* WILDE; STRAUSS; TULSKY, 2004; FIGUEIREDO; NASCIMENTO, 2007).

Trail Making Test – TMT (REITAN, 1955): Teste neuropsicológico que avalia atenção dividida, velocidade de processamento visual, a flexibilidade cognitiva e a atenção alternada entre dois estímulos diferentes. O indivíduo deve ligar números e letras, dentro de círculos, em sequências alternadas e em ordem crescente, possibilitando a avaliação da flexibilidade cognitiva. O critério de correção é o tempo e, quanto maior esse for, pior será considerado o desempenho (STRAUSS; SHERMAN; SPREEN, 2006).

Teste de Atenção do Stroop: avalia a capacidade que o indivíduo possui de manter o foco no objetivo e suprimir uma resposta habitual por uma menos familiar. O teste é dividido em três partes. Na primeira, o sujeito deve ler nomes de cores escritas na cor preta. Na segunda parte, o sujeito deve dizer as cores dos itens desenhados na página. Para a terceira parte, os sujeitos devem dizer a cor das palavras, ignorando a palavra impressa. Para todas as partes, os sujeitos são impelidos a responder o mais rápido possível. Os erros são indicados pelo examinador, que expõe o erro ao examinado para que ele mesmo realize a correção. Cada parte tem 45 segundos e os erros não são computados (STRAUSS; SHERMAN; SPREEN, 2006).

Teste de Memória Lógica I e II: faz parte da Escala de Memória de Wechsler. Ele consiste na leitura de duas histórias curtas onde a audição tem papel central e, após a leitura, verifica-se o que exatamente o indivíduo conseguiu reter de informações. Ocorre um intervalo entre ouvir a história e ter que recontá-la, calculando-se quantas trechos foi acertado, avaliando a memória declarativa (WECHSLER, 1987).

- a coleta de fios de cabelo para análise de cortisol e DHEA-S;

5.5 PARÂMENTROS BIOQUÍMICOS

5.5.1 Análise do Cortisol e DHEA-S capilar

As amostras de cabelo foram coletadas na região do vértice posterior do crânio, cortadas com tesoura o mais próximo possível do couro cabeludo, acondicionadas individualmente em papel alumínio e armazenadas em sacos plásticos tipo ZIP, em temperatura ambiente, até o processamento.

A metodologia de preparo das amostras de cabelo foi adaptada com o objetivo de reduzir o seu tempo de preparação, considerando os procedimentos disponíveis na literatura para a determinação simultânea do cortisol e DHEA-S em uma mesma amostra (CHEN *et al.*, 2013; NOPPE *et al.*, 2015; GAUDL *et al.*, 2016; GAO *et al.*, 2016). Desta forma, procedeu-se

a fragmentação dos primeiros 2 cm de cabelo, a partir do escalpe, em partes de aproximadamente 1 mm. Com base em uma taxa de crescimento de cabelo de 1cm/ mês (WENNIG, 2000), supõe-se que esses segmentos representem os níveis de cortisol e DHEA-S no organismo nos dois meses que precederam a coleta de cabelo. Uma vez fragmentadas, as amostras foram pesadas em tubos de centrífuga de 2 mL. Em seguida, as amostras foram individualmente lavadas com a adição de 1mL de álcool isopropílico, agitação por cerca de 30 segundos e remoção somente do álcool. Em seguida, foram adicionados 50µL/amostra dos padrões internos deuterados de Cortisol-D4 e DHEAS-D5. A extração do cortisol e DHEAS, e dos respectivos padrões internos, das amostras de cabelo foi realizada com a adição de 0,75 mL de solução de extração 2,8% de hidróxido de amônio em metanol e aquecimento a 55 °C em banho-maria por 1h. Em seguida, a solução de extração foi transferida para tubo Falcon de 15 mL e evaporada em temperatura ambiente utilizando ar comprimido. Por fim, cada extrato seco foi ressuspensão com 50 µL de metanol, agitado em vortex por aproximadamente 30 segundos, transferido para vials de 0,25 mL e injetadas no LC-MS/MS.

As quantificações foram realizadas considerando o cortisol-D4 e DHEAS-D5 como padrões internos e as curvas de calibração construídas por adição dos padrões em amostras de cabelo livres de cortisol e DHEAS nas concentrações de 0,5; 1,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 25 pg/mg a partir de soluções-padrão individuais de 0,1 µg/mL.

Os equipamentos utilizados foram um cromatógrafo de ultra alta performance modelo UPLC Acquity 1 Class Plus e um espectrômetro de massas modelo Xevo TQ-S micro (Waters Waters, Milford, MA, USA). A separação dos analitos foi realizada em coluna cromatográfica ZORBAX RRHT Extend-C18 (2.1 x 50 mm, 1.8 µm, Agilent, Paolo Alto, USA) com fase móvel (A) 0,1% de ácido fórmico: 49,9% de metanol: 50,0 de acetronitrila. O gradiente iniciou com 0,5 mL/min de 40% de fase móvel B, passando para 80% de B em 1,50 min, permanecendo nessa proporção por 3 min para eluição dos analitos separados. Em seguida, foi realizada uma etapa de limpeza de coluna cromatográfica, aumentando o fluxo da fase móvel para 1,0 mL/min com 100% de fase móvel B. Essa limpeza foi procedida por 4 min e, em seguida, a condição cromatográfica inicial foi retomada. A temperatura da coluna cromatográfica foi mantida em 50 °C e o volume de extrato injetado foi de 5 µL. Os analitos foram ionizados em fonte de electrospray (ESI) operada no modo negativo, utilizando gás de dessolvatação nitrogênio no fluxo de 10 L/min e cone de 11 L/min e capilar de 3500V, com temperatura de 350 °C. O espectrômetro foi operado no modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM) com as seguintes transições (m/z): cortisol (quantificação, 407,2>331,2; confirmação, 407,2>282,1), cortisol-D4 (quantificação, 411,2>335,1), DHEAS

(quantificação, $367,3 > 96,9$; confirmação, $367,3 > 367,3$) e DHEAS-D5 (quantificação, $372,3 > 97,9$). A transição de confirmação para a presença de DHEAS foi do tipo pseudo-MRM em que os íons parente e produto são os mesmos.

5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados estão expressos como média e desvio padrão. Comparações dos resultados entre grupos experimentais foi realizada por meio do teste t para amostras independentes. Relações entre variáveis foram investigadas através de regressões lineares. $P < 0.05$ foi considerado estatisticamente significativo.

5.7 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O presente projeto de pesquisa segue a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, o qual aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos e que assegura aos indivíduos os preceitos éticos básicos como autonomia, não maleficência, beneficência e justiça. Após concordarem com a inclusão, todos os participantes cuidadores e controles assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A) (APÊNDICE B), respectivamente, além disso, a inclusão no presente estudo não acarretou nenhum custo ao indivíduo.

O projeto foi aprovado pela Comissão Científica do Instituto de Geriatria e Gerontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul e pelo Comitê de Ética da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

6 ARTIGO CIENTÍFICO SUBMETIDO

Experimental Gerontology
IS THE HAIR CORTISOL/DHEA-S RATIO OF OLDER ADULTS A MORE EFFICIENT BIOMARKER FOR CHRONIC STRESS AND COGNITIVE STATUS THAN HAIR CORTISOL ALONE? AN EXPLORATORY STUDY
 --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Article Type:	Research Paper
Section/Category:	Neuroscience
Keywords:	LC-MS/MS; allostatic load; executive function; memory; aging; elderly
Corresponding Author:	Elke Bromberg, PhD Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul Porto Alegre, Rio Grande do Sul BRAZIL
First Author:	Juliana de Rezende Lovera, MS
Order of Authors:	Juliana de Rezende Lovera, MS Gabriel Rübensam, MS Cristophod de Souza dos Santos Luísa Kleveston Bruna Fernandes da Rocha, MS Allana Almeida Moraes, PhD Irani Iracema de Lima Argimon, PhD Elke Bromberg, PhD
Abstract:	Chronic stress is related to an early and exacerbated decline in cognitive function in the elderly, which appears to be mediated by cortisol. However, studies seeking to establish associations between cortisol levels and cognitive performance in the elderly are controversial, perhaps because of the type of biological sample they use (serum, urine saliva), which is not able to monitor long-term changes in the secretion of cortisol, and possibly for analyzing only cortisol, ignoring neuroprotective steroids, such as DHEA-S. The present study aimed to verify whether the cortisol/DHEA-S ratio of hair samples is a more sensitive biomarker of cognitive dysfunction in the elderly than hair cortisol alone. Elderly (70.60 ± 7.74 years, $n = 59$) were classified according to the Lipp Stress Symptoms Inventory for Adults into two groups, Stressed and Not Stressed (control), and subjected to a battery of neuropsychological tests that evaluated components of executive function (Trail Making A and B, Digit Span, Stroop, Semantic and Phonemic Fluency) and declarative memory (Logical Memory I and II). Hair samples were collected to measure cortisol and DHEA-S levels by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Elderly of the Stressed group presented a slight cognitive impairment in comparison to the control (Not Stressed) group and higher levels of cortisol and cortisol/DHEA-S ratios. Cortisol showed a more robust association with stress than the cortisol/DHEA-S ratio. However, no significant associations were found between cortisol or the cortisol/DHEA-S ratio and cognitive performance in the elderly. In conclusion, hair cortisol was a more sensitive marker of stress than the cortisol/DHEA-S ratio. Still, none of the measures was able to predict the cognitive performance of the elderly.
Suggested Reviewers:	Skye McLennan Australian Catholic University Skye.McLennan@acu.edu.au Published a study about hair cortisol and cognitive performance in adults. Juliana Souza-Talarico The University of Iowa College of Nursing talaricoj@uiowa.edu Experience in the field of stress, glucocorticoids, cognition and aging

	<p>Peter Vitaliano University of Washington Seattle Campus: University of Washington pvital@uw.edu</p>
	<p>Linda Becker Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Numberg linda.becker@fau.de Experience in the field of cognitive aging, stress and glucocorticoid levels.</p>
	<p>Pauline Hamers Erasmus University Rotterdam: Erasmus Universiteit Rotterdam p.hamers@erasmusmc.nl Experience in the field of long-term stress, adrenal steroids and intellectual disabilities</p>
Opposed Reviewers:	

Cover Letter

Porto Alegre, March 4th, 2022

To

Christiaan Leeuwenburgh, PhD
Editor-in-Chief of Experimental Gerontology

Dear Editor

Find attached the manuscript entitled “IS THE HAIR CORTISOL/DHEA-S RATIO OF OLDER ADULTS A MORE EFFICIENT BIOMARKER FOR CHRONIC STRESS AND COGNITIVE STATUS THAN HAIR CORTISOL ALONE? AN EXPLORATORY STUDY”, by Lovera and colleagues, which we are submitting for publication in EXPERIMENTAL GERONTOLOGY.

Chronic stress is related to an early and exacerbated decline in cognitive function in the elderly, which appears to be mediated, at least partially, by cortisol. Studies seeking to establish associations between cortisol levels and cognitive performance in the elderly are controversial, perhaps because of the type of biological sample they use (serum, urine saliva), which is inappropriate to monitor long-term changes in the secretion of cortisol, and possibly for analyzing only cortisol, ignoring neuroprotective steroids, such as DHEA-S. The aim of this study was to verify if the hair cortisol/DHEA-S ratio is a more sensitive marker for cognitive disfunctions in the elderly than hair cortisol in isolation. Our results indicate that hair cortisol has a stronger association with stress than the hair cortisol/DHEA-S ratio. Moreover, neither hair cortisol nor the hair cortisol/DHEA-S ratio had significant associations with cognitive performance in stressed elderly. As the subject of this study has been little investigated so far and the existing evidence is still conflicting, we believe that our findings, and the discussion of their meanings, will contribute significantly to the field of stress, aging and cognitive decline. We hope you will find that our paper is acceptable for publication in EXPERIMENTAL GERONTOLOGY.

This research has not been published or submitted elsewhere for publication, in whole or in part, and if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright holder. All authors have contributed significantly to this research and approved the manuscript and its submission to EXPERIMENTAL GERONTOLOGY. The authors have no conflict of interest to disclose. The study conforms to the provisions of the Declaration of Helsinki and all experimental procedures were approved by the local

Ethics Committee. The manuscript is also in accordance with the statement of ethical standards for manuscripts submitted to EXPERIMENTAL GERONTOLOGY.

Elke Bromberg, PhD
School of Health and Life Sciences
Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul
Av. Ipiranga, 6681, Porto Alegre, RS - Brazil
ZIP Code: 90619-900
Phone: +55 51 3320 3500; fax: +55 51 3320 3612
E-mail: bromberg@pucrs.br

Highlights

HIGHLIGHTS

Elderly with greater stress levels have lower cognitive performance.

Stressed elderly show higher hair cortisol and cortisol/DHEA-S ratio.

Hair cortisol has a stronger association with stress than hair cortisol/DHEA-S ratio.

Cognitive performance cannot be predicted by hair cortisol and cortisol/DHEA-S ratio.

ABSTRACT

Chronic stress is related to an early and exacerbated decline in cognitive function in the elderly, which appears to be mediated by cortisol. However, studies seeking to establish associations between cortisol levels and cognitive performance in the elderly are controversial, perhaps because of the type of biological sample they use (serum, urine saliva), which is not able to monitor long-term changes in the secretion of cortisol, and possibly for analyzing only cortisol, ignoring neuroprotective steroids, such as DHEA-S. The present study aimed to verify whether the cortisol/DHEA-S ratio of hair samples is a more sensitive biomarker of cognitive dysfunction in the elderly than hair cortisol alone. Elderly (70.60 ± 7.74 years, $n = 59$) were classified according to the Lipp Stress Symptoms Inventory for Adults into two groups, Stressed and Not Stressed (control), and subjected to a battery of neuropsychological tests that evaluated components of executive function (Trail Making A and B, Digit Span, Stroop, Semantic and Phonemic Fluency) and declarative memory (Logical Memory I and II). Hair samples were collected to measure cortisol and DHEA-S levels by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Elderly of the Stressed group presented a slight cognitive impairment in comparison to the control (Not Stressed) group and higher levels of cortisol and cortisol/DHEA-S ratios. Cortisol showed a more robust association with stress than the cortisol/DHEA-S ratio. However, no significant associations were found between cortisol or the cortisol/DHEA-S ratio and cognitive performance in the elderly. In conclusion, hair cortisol was a more sensitive marker of stress than the cortisol/DHEA-S ratio. Still, none of the measures was able to predict the cognitive performance of the elderly.

Keywords: LC-MS/MS, allostatic load, executive function, memory, aging, elderly

1 INTRODUCTION

Aging is associated to cognitive decline in a considerable portion of the elderly (HUGO; GANGULI, 2014) and different studies have been pointing to chronic stress as one of the risk factors involved in the evolution of cognitive impairment (SANDI, 2013). Among the cognitive components affected are executive function and declarative memory (SHIELDS, *et al.*, 2016; SANTOS, *et al.*, 2018), especially dependent on the prefrontal cortex and hippocampal formation, respectively (LUPIEN, *et al.*, 2007). These structures are also heavily sensitive to alterations of cortisol levels, which can impact mechanisms underlying cognitive processing (VEDHARA, *et al.*, 2000; MIZOGUCHI, *et al.*, 2003).

Cortisol has been widely used as a stress biomarker (ALLEN *et al.*, 2017; VAN UUM *et al.* 2008; RUSSELL *et al.* 2012). Secreted under stimulus of the Hypothalamic–Pituitary–Adrenal axis, this hormone has the function of mobilizing energy reserves and modulating the immune system to give conditions to the organism to face different kinds of stressors. Although its role as mediator of physiological responses to stress is widely known (NATER; SKOLUDA; STRAHLER, 2013), cortisol’s capacity as a chronic stress marker has been limited (RUSSELL *et al.*, 2012). This aspect is related to the biological matrices usually employed in the evaluation of cortisol levels. Most studies utilize blood (plasma or serum), saliva or urine to evaluate cortisol (GATTI *et al.*, 2009). These samples reflect the cortisol levels in a timeframe ranging from minutes to hours, being adequate to evaluate acute stress. Additionally, the circadian secretion of cortisol follows a pulsatile pattern, presenting maximal levels in the early morning, after which it slowly decreases until the end of the day (WEITZMAN *et al.*, 1971). Thus, most studies take multiple samples along the day, which permits to evaluate daily secretion of the hormone (PALMA *et al.*, 2011; KHOO *et al.*, 2017). However, this method is quite hard to be experimentally applied, due to the inherent discomfort and difficulties associated with this collection method, and only evaluates a restricted timeframe.

An interesting alternative to analyze chronic alterations of cortisol is its hair evaluation. Hair has a very predictable growth rate, of 1cm/month and is a matrix in which circulating cortisol is deposited (LEBEAU; MONTGOMERY; BREWER, 2011). Therefore, the first centimeter closest to the scalp reflects cortisol levels of the anterior month, the second centimeter reflects the second-to-last month, and so on. Thus, this matrix allows for a retrospective analysis of the cortisol levels throughout various months.

Additionally, the collection and storage of hair samples is simpler than that of any other biological matrices utilized for the evaluation of cortisol (RUSSEL *et al.*, 2012).

Although several studies have already identified correlations between stress and hair cortisol (STALDER *et al.*, 2012, KARLÉN *et al.*, 2011), the association between hair cortisol and cognitive and mental health of the elderly has been relatively weak, although significant (FELLER *et al.*, 2014; PULOPULOS; 2014; MCLENNAN *et al.*, 2016). As what occurs in other kinds of biological samples (VAN NIEKERK, HUPPERT; HERBERT, 2001), maybe the hair cortisol/dehydroepiandrosterone (DHEA) ratio analysis is a more sensitive indicator of mental health (KALMIJN *et al.*, 1998).

Besides increasing the cortisol levels, stressor events also increase DHEA levels, which circulates mainly in its sulfated form, DHEA-S. Utilized as allostatic load biomarkers (MCEWEN, 2003), these steroids feature anti-glucocorticoid effects. DHEA and DHEA-S can reduce cortisol secretion and glucocorticoid receptors availability, in addition to favoring the inactivation of cortisol by its conversion into cortisone (HENNEBERT *et al.*, 2007; BALAZS *et al.*, 2008; HU *et al.*, 2000). Thus, DHEA(s) would be capable of mitigating the negative effects of chronic stress in the central nervous system. Additionally, these steroids are capable of modulating various neurotransmitter systems, and in this fashion to facilitate some kinds of cognitive functions, as is the case for memory (RHODES; LI; BURKE; JOHNSON, 1997; MARKOWSKI *et al.*, 2001; ALHAJ; MASSEY; MCALLISTER-WILLIAMS, 2006). Therefore, from the physiological perspective, it seems to be more adequate to evaluate the proportion between cortisol (that can lead to cognitive impairments when in excess) and DHEA or DHEA-S (that are neuroprotectors), than to analyze the levels of either steroid separately.

The aim of this study was to verify if the hair cortisol/DHEA-S ratio is a more sensitive marker for cognitive disfunctions in the elderly than hair cortisol in isolation. DHEA-S was evaluated because it is a more trustworthy marker than DHEA for disfunctions of the central nervous system related to cognitive decline (SCOTT *et al.*, 1999; KIM *et al.*, 2006). We utilized Lipp Inventory of Stress Symptoms for Adults (ISSL) to classify the individuals as Stressed and Not Stressed (control), comparing the groups as to their cognitive performance, cortisol levels, DHEA-S and the cortisol/DHEA-S ratio. Our hypothesis was that the Stressed group would show (I) lower cognitive performance, higher cortisol and lower DHEA-S levels, and (II) that the cognitive performance would be more strongly related to the cortisol/DHEA-S ratio than to the hair cortisol levels.

2 EXPERIMENTAL PROCEDURES

2.1 PARTICIPANTS

To obtain samples from individuals with different degrees of stress, the elderly (n=59, 70.60 ± 7.74 years old, 1 man) were recruited in different environments: from the community, from senior citizenship groups and from the Brazilian Association of Alzheimer (ABRAZ) of the cities Santa Maria and Porto Alegre (RS, Brazil). In the ABRAZ only the familial caretakers of demented patients were recruited, seeing as the caregiving activity is normally related to high levels of stress (CORRÊA, *et al.*, 2015; CASWELL *et al.*, 2003; VITALIANO *et al.*, 2010). The criteria of exclusion were: sensorial deficits (auditory and visual) incompatible with the realization of the neuropsychological tests; Mini-Mental State Examination (MMSE) (FOLSTEIN *et al.*, 1975) scores compatible with the dementia cut-off (BERTOLUCCI *et al.*, 1994); neurological impairment, in the present or past (disease, trauma); major unstable medical illnesses (as diabetes, hypo/hyperthyroidism, and cardiovascular disfunctions); use of psychoactive drugs or medicine that affects the HPA axis. The Lipp Inventory of Stress Symptoms for Adults (ISSL) was utilized to classify the volunteers into two groups, Not Stressed and Stressed. The individuals in the second group were characterized further by the stress phase in which they found themselves (alarm, resistance, pre-exhaustion and exhaustion) (LIPP, 2005).

This study was approved by the Ethics Committee in Research of the Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (Porto Alegre, Brazil) and, therefore, was performed according to the ethical standards of the Helsinki Declaration of 1964. All the participants gave their informed consent.

2.2 NEUROPSYCHOLOGICAL AND NEUROPSYCHIATRIC EVALUATION

The functions of the prefrontal cortex have been evaluated with neuropsychological tests that measured different components of executive function. The Forward and Backward Digit Span Tests were employed to evaluate working memory

(WECHSLER, 2004; FIGUEIREDO; NASCIMENTO, 2007). The Trail Making test, versions A and B, was utilized to evaluate attention and processing speed (STRAUSS; SHERMAN; SPREEN, 2006). The Stroop test was applied to evaluate inhibitory control (STRAUSS; SHERMAN; SPREEN, 2006).

The tasks of Semantic and Phonemic Verbal Fluency were utilized to evaluate mnemonic (semantic memory skills) as well as executive (selection and search) components (STRAUSS; SHERMAN; SPREEN, 2006). Esteves, *et al.* (2015) present normative data for the elderly public. Declarative memory was also evaluated with the task of Logical memory, in the versions I and II (WECHSLER, 1987). This task analyzes the immediate and delayed memories, being utilized as an indicator of the function of the temporal lobe, as it is strongly dependent on the hippocampal formation (KOZISEK; MIDDLEMAS; BYLUND, 2008; YAMADA; NABESHIMA, 2003; HOLMES; WELLMAN, 2009; LINDAUER *et al.*, 2006; SANDI, 2004; BREMNER, 1999).

All the procedures related to the neuropsychological evaluations have followed the guidelines recommended for each specific task. The depressive and anxious symptoms were tracked through the validated Brazilian versions of the Geriatric Depression Scale (GDS-15), and Geriatric Anxiety Inventory (GAI) (ALMEIDA AND ALMEIRA, 1999; MASSENA *et al.*, 2015). The characterization of presence or absence of stress, as well as the staging of stress was performed through the ISSL, that evaluates physical as well as psychological symptoms related to different stress phases (LIPP, 2005). Additionally, volunteers were submitted to the Perceived Stress Scale (PSS), which measures only the psychological symptoms related to stress (LUFT *et al.*, 2007).

2.3 DETERMINATION OF HAIR CORTISOL AND DHEA-S BY LC-MS/MS

Hair samples were collected from the posterior vertex of the cranium, as closest as possible from the scalp, wrapped with aluminum foil and stored in ZIP plastic bags, at room temperature, until processing.

Sample preparation was adapted from the published procedures elsewhere for the simultaneous determination of cortisol and DHEA-S (CHEN *et al.*, 2013; NOPPE *et al.*, 2015; GAUDL *et al.*, 2016; GAO *et al.*, 2016). Only 2 cm of hair, starting from the scalp, were used for analysis to estimate the cumulative levels of cortisol and DHEA-S in the patients' organism across two months, based on a growth rate of 1cm/month (WENNIG, 2000). Samples were manually fragmented in parts of approximately 1mm and weighed

in 2 ml centrifuge tubes (eppendorfs). Before extraction, each sample was cleaned with the addition of 1mL of isopropyl alcohol, agitated for 30 seconds in a vortex and alcohol was further removed with a pipete. Next, there were added 50 μ L/sample of the deuterated internal standards of cortisol-D4 and DHEAS-D5. Sample extraction was performed with the addition of 0.75 mL of 2,8% ammonium hydroxide in methanol and heating at 55 °C for 1h in water bath. The extract was then transferred to a 15 mL centrifuge tube and evaporated at room temperature with compressed air. Lastly, each dry extract was resuspended with 50 μ L of methanol, agitated in vortex for approximately 30 seconds, transferred to vials of 0.25mL and injected into the LC-MS/MS.

The quantifications were performed considering the cortisol-D4 and DHEAS-D5 as internal standards and the calibration curves constructed by addition of the standards in samples of hair free of cortisol and DHEAS in the concentrations of 0,5; 1,0; 5,0; 10,0; 15,0 and 25 pg/mg, starting from individual standard solutions of 0,1 μ g/mL. The equipment utilized were an ultra-high-performance chromatographer model UPLC Acquity 1 Class Plus and a mass spectrometer model Xevo TQ-S micro (Waters Waters, Milford, MA, USA). The separation of analytes was performed in chromatographic column ZORBAX RRHT Extend-C18 (2.1 x 50 mm, 1.8 μ m, Agilent, Paolo Alto, USA) with mobile phase (A) 0,1% of formic acid and (B) 0,1% of formic acid: 49,9% of methanol: 50,0 of acetonitrile. The gradient initiated with 0,5 mL/min of 40% of mobile phase B, going to 80% of B in 1,50 min, remaining in this proportion for 3 min for the elution of the analytes. Next, a cleaning step of the chromatographic column was performed, increasing the flux of the mobile phase to 1.0mL/min with 100% of mobile phase B. This cleaning was proceeded for 4 min and then the initial chromatographic condition was restored. The temperature of the chromatographic column was maintained at 50 °C and the injection volume was 5 μ L. The analytes were ionized in an electrospray source (ESI) operated in the negative mode, utilizing nitrogen as desolvation gas with flux of 10 L/min and cone gas of 11 L/min and capillary of 1.0 KV, with ESI temperature at 550 °C. The collision gas was argonium. . The spectrometer was operated with multiple reaction monitoring (MRM) mode with the following transitions (m/z): cortisol (quantification, 407,2>331,2; confirmation, 407,2>282,1), cortisol-D4 (quantification, 411,2>335,1), DHEA-S (quantification, 367,3>96,9; confirmation, 367,3>367,3) e DHEAS-D5 (quantification, 372,3>97,9). For DHEA-S confirmation, it was used a pseudo-MRM transition, in which the parent and product ions are the same.

2.4 STATISTICAL ANALYSIS

The comparison of demographic, neuropsychiatric and neuropsychological variables between groups was performed with the Student t test for independent samples or with the chi-square test, when appropriate. The association between stress, cognitive performance and hormonal levels was analyzed by means of linear regressions. The hormonal results were converted to decimal logarithm (Log10) to perform statistical analysis. The data are expressed as mean \pm standard deviation, unless indicated otherwise in the text or tables. $P < 0.05$ was considered statistically significant.

5 RESULTS

5.1 DEMOGRAPHICAL AND CLINICAL CHARACTERISTICS

There were not found any significant differences between groups for age, schooling, and MEEM score (all $p > 0.05$). However, it was observed that the Stressed group presented significantly higher scores on anxious (GAI, $df = 57$, $t = -4.121$, $p < 0.001$) and depressive (GDS, $df = 57$, $t = -3.817$, $p < 0.001$) symptoms than the group without stress, as well as the highest score in the perceived stress scale (PSS, $df = 57$, $t = -3.654$, $p < 0.001$) (Table 1). According to ISSL the greater portion of volunteers of the stressed group was situated in the resistance phase (74%) and the physical symptoms were present in 100% of the subject in this group (Table 2).

Table 1 - Demographic and neuropsychiatric measurements (mean \pm standard deviation) of the Not Stressed and Stressed groups.

	Not Stressed (n=32)	Stressed (n=27)	<i>P</i>
Age (years)	69.37 \pm 6.87	71.85 \pm 8.75	0.22
Sex (F/M)	31 /1	27 / 0	0.35
Years of study (years)	12.28 \pm 5.57	10.25 \pm 4.71	0.14
MMSE	27.37 \pm 2.33	27.25 \pm 2.47	0.85
GDS	1.31 \pm 1.20	3.18 \pm 2.45	<0.001
GAI	4.75 \pm 4.20	10.37 \pm 6.21	<0.001
PSS	17.06 \pm 6.67	24.48 \pm 8.90	<0.001

Abbreviations: MMSE, Mini-Mental State Evaluation; GDS, Geriatric Depression Scale; GAI, Geriatric Anxiety Inventory; PSS, Perceived Stress Scale.

Table 2 - Stressed Group: Phase characterization and stress symptomatology

ISSL Classification	
Stress Phases (ISSL) n (%)	Stressed
Alert	0 (0)
Resistance	20 (74)
Almost Exhaustion	2 (7)
Exhaustion	5 (19)
Stress Symptoms (ISSL) n (%)	
Physical	27 (100)
Psychological	25 (92)

Abbreviations: ISSL, Lipp Inventory of Stress Symptoms for Adults

5.2 NEUROPSYCHOLOGICAL CHARACTERISTICS

The statistical analysis indicated significant differences between groups in the Stroop III (df=57, $t=2.890$, $p=0.05$), Trail B (df=57, $t=-2.379$, $p=0.021$), forward (df=57, $t=2.197$, $p=0.032$) and backward Digit Span (df=57, $t=3.500$, $p=0.001$) tasks, as

well as in the Logic Memory I test ($df=57$, $t= 2.852$, $p =0.012$). These results suggest a worse performance of the individuals with stress symptoms in different components of executive function (inhibitory capacity, attention, processing speed and working memory) and lower scores for immediate declarative memory (Table 3).

Table 3 - Performance (mean \pm standard deviation) of individuals with and without stress symptoms in neuropsychological tests.

	Not Stressed (n=32)	Stressed (n=27)	<i>P</i>
Stroop word	69.21 \pm 18.05	69.74 \pm 15.05	0.90
Stroop color	52.37 \pm 15.88	48.29 \pm 10.16	0.25
Stroop color-word	30.18 \pm 10.93	23.44 \pm 5.67	<0.001
Trail Making A (s)	59.62 \pm 27.47	76.65 \pm 37.44	0.49
Trail Making B (s)	144.25 \pm 84.24	201.99 \pm 97.38	0.02
Total FAS	34.71 \pm 13.13	29.74 \pm 11.81	0.13
SVF animal	16.93 \pm 4.92	15.62 \pm 4.45	0.29
Forward Span	7.34 \pm 1.78	6.44 \pm 1.25	0.03
Backward Span	4.81 \pm 1.59	3.44 \pm 1.36	<0.001
MEM I	18.31 \pm 6.00	14.40 \pm 5.51	0.01
MEM II	14.25 \pm 6.10	11.33 \pm 5.23	0.05

Abbreviations: total FAS, Total Phonemic Verbal Fluency (letters F, A and S); SVF Animal, Semantic Verbal Fluency (animals); MEM I, Logical Memory I; MEM II, Logical Memory II.

Regression analyses, utilizing as predictor variable the group (Stressed X Not Stressed) and as dependent variables the results of the neuropsychological tests that had shown significant differences between groups (Stroop color-word, Trail B, Direct and Reverse Span, Logical Memory I), confirmed the negative associations between stress and performance in tasks that evaluate executive function, as the Stroop color-word test [$R^2= 0.128$, $B= -6.743$, $p= 0.005$], Direct Span [$R^2=0.075$, $B= -0.33$, $p= 0.035$] and Reverse Span [$R^2= 0.157$, $B= -0.483$, $p= 0.002$], as well as the positive association

between stress and the necessary time for the execution of Trail B [$R^2= 0.137$, $B= 26.733$, $p= 0.005$].

The findings described above have led us to investigate a possible association between the stress phase (resistance, almost exhaustion, exhaustion) and the cognitive performance of the elderly in tasks that evaluate attention, working memory, inhibition capacity and processing speed. New regression analyses, now considering only individuals of the Stressed group, were performed. The stress phase was utilized as the predictor variable and the performance on the cognitive tests (Stroop color-word, Trail B, Direct and Reverse Span) as dependent variables. None of these regressions has evidenced significant associations between the stress phase and cognitive performance (all $p>0.05$).

5.3 CORTISOL, DHEA-S AND THE CORTISOL/DHEA-S RATIO

Only a portion of the voluntaries in this study (47%) had the results of hair cortisol and DHEA-S analyzed statistically. The samples of the remaining subjects were excluded because either the cortisol or DHEA-S have presented values below the detection level of the utilized method (<0.5 pg/ml for cortisol and <0.2 for DHEA-S), or because the values were extreme (> 2.5 standard deviations from the mean). In most of these cases the extreme values appeared to be related to tincture or oiliness of the hairs, and in others they were possibly associated to medications or health conditions not referred to by the voluntaries. Thus, the final sample of elderly for the evaluation of the relation between cortisol, DHEA-s and cortisol/DHEA-S ratio with stress and with the neuropsychological performance has resulted in 28 subjects.

Although smaller, this sample has presented the same pattern of demographical and clinical characteristics (Table 4) presented by the experimental groups of the larger sample (Table 1). The characterization of phases and symptomatology of the Stressed group has remained unaltered in the 28-subject group (Table 5) in relation to the 59-subject group (Table 2).

Table 4 - Demographic and neuropsychiatric (mean \pm standard deviation) of the subgroups Stressed and Not Stressed (n=28)

	Not Stressed (n=16)	Stressed (n=12)	<i>P</i>
Age (years)	68.18 \pm 6.42	73.58 \pm 8.55	0.06
Sex (F/M)	16/0	12/0	-
Years of Study (years)	12.75 \pm 5.37	10.66 \pm 5.44	0.32
MMSE	27.68 \pm 1.92	27.08 \pm 2.19	0.44
GDS	1.12 \pm 1.31	3.33 \pm 2.99	0.01
IAG	5.62 \pm 3.99	10.16 \pm 6.10	0.02
PSS	18.43 \pm 4.68	26 \pm 8.35	<0.001

Abbreviations: MMSE, Mini-Mental State Evaluation; GDS, Geriatric Depression Scale; GAI, Geriatric Anxiety Inventory; PSS, Perceived Stress Scale.

Table 5 - Stressed Subgroup (n=12): Characterization of phases and stress symptomatology

Lipp phases (ISSL) n (%)	Stressed
Alert	0 (0)
Resistance	9 (75)
Almost Exhaustion	1 (8)
Exaustão	2 (17)
Stress Symptoms (ISSL) n (%)	
Physical	12 (100)
Psychological	12 (100)

Abbreviations: ISSL, Lipp Inventory of Stress Symptoms for Adults

Cognitive performance was also similar between the larger (Table 1) and smaller (Table 6) samples, with the exception of the scores of Logical Memory II, which became significantly lower in the stressed group in comparison to the not stressed group ($df = 26$, $t = 2.426$, $p = 0.03$).

Table 6 - Performance (mean \pm standard deviation) of the subgroups with and without stress symptoms in neuropsychological tests (n=28)

	Not Stressed (n=16)	Stressed (n=12)	<i>p</i>
Stroop word	67.31 \pm 14.92	73.91 \pm 17.33	0.28
Stroop color	57.06 \pm 17.05	47.66 \pm 7.74	0.08
Stroop color-word	30.50 \pm 10.91	24 \pm 6.43	0.007
Trail A (s)	62.28 \pm 33.20	71.12 \pm 24.80	0.44
Trail B (s)	135.28 \pm 90.65	224.17 \pm 89.54	0.03
FAS F	12.18 \pm 5.44	9.83 \pm 3.92	0.21
FAS A	11.56 \pm 4.25	10.25 \pm 4.61	0.44
FAS S	11.06 \pm 4.40	10.16 \pm 4.52	0.60
FAS total	34.81 \pm 12.80	30.25 \pm 12.21	0.35
FAS animal	17 \pm 5.52	14.75 \pm 4.33	0.25
Direct Span	7.31 \pm 1.04	6.50 \pm 1.50	0.02
Reverse Span	4.87 \pm 1.74	3.50 \pm 1.78	0.05
MEM I	18.37 \pm 6.78	11.66 \pm 4.47	<0.001
MEM II	14.56 \pm 6.79	9.33 \pm 4.59	0.03

Abbreviations: total FAS, Total Phonemic Verbal Fluency (letters F, A and S); SVF Animal, Semantic Verbal Fluency (animals); MEM I, Logical Memory I; MEM II, Logical Memory II.

The comparison of hormonal levels between groups indicated significantly higher values for cortisol (df= 26, $t = -3.150$, $p = 0.002$) and for the cortisol/DHEA-S ratio (df= 26, $t = -2.286$, $p = 0.031$) in stressed individuals. DHEA-S showed lower levels in the stressed volunteers, but this between group difference did not reach statistical significance (df= 26, $t = 0.683$, $p = 0.51$).

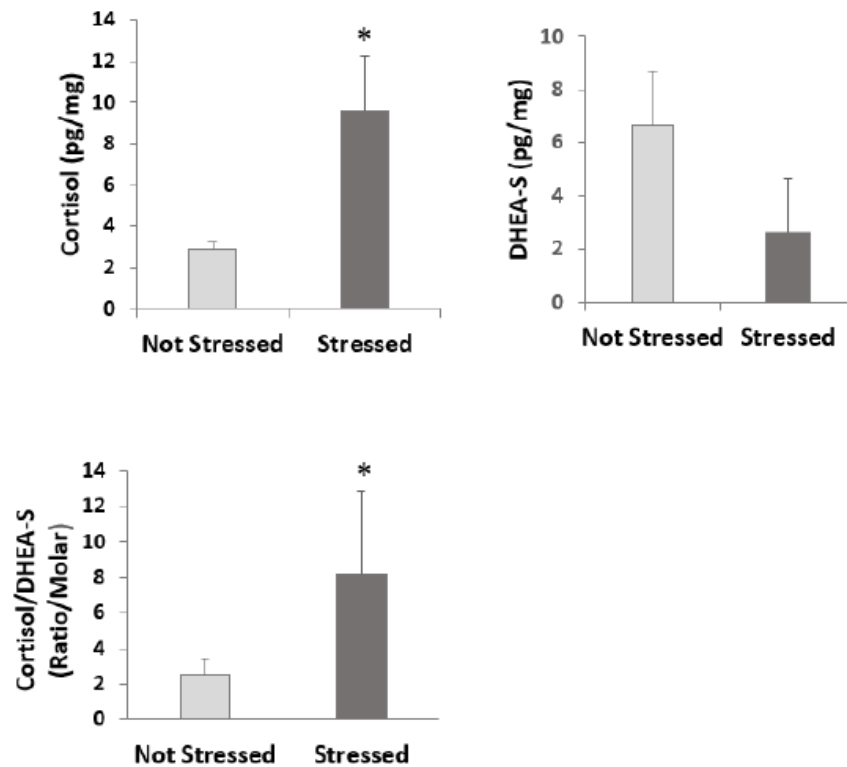


Figure 1. Cortisol (A), DHEA-S (B) and cortisol/DHEA-S ratio (C) in hair samples (first 2cm starting from the scalp) of elderly subjects of the Not Stressed and Stressed groups (n=28). Results expressed as mean \pm standard deviation. * $p \leq 0.05$ in comparison to the Not Stressed group.

Linear regressions utilizing as predictor variable the group (Stressed X Not Stressed) and as dependent variables the hormonal levels (cortisol, DHEA-S or cortisol/DHEA-S ratio) indicated a stronger association between stress and cortisol levels [R²=0.31, B=0.402, p= 0.002] than between stress and values of the cortisol/DHEA-S ratio [R²=0.167, B= 0.551, p=0.03]. However, regression analyses, utilizing as predictor variables the hormonal levels (cortisol, DHEA-S or cortisol/DHEA-S ratio) and as dependent variables the results of the neuropsychological tests that had shown significant differences between groups (Stroop color-word, Trail B, Reverse Span, Logical Memory I and II), did not show any significant association between cortisol levels and cognitive performance

6 DISCUSSION

The objective of the present study was to verify if the hair cortisol/DHEA-S ratio could be a more sensitive marker for chronic stress and cognitive dysfunctions in the elderly than hair cortisol in isolation. Our results indicate that elderly with greater stress levels had lower cognitive performance, higher levels of hair cortisol and higher values for the cortisol/DHEA-S ratio. However, cortisol has shown a stronger association with stress than the cortisol/DHEA-S ratio. Additionally, neither the hair cortisol nor its cortisol/DHEA-S ratio were significant predictors of cognitive performance.

The classification of the elderly in Stressed and Not Stressed groups was performed with basis on the ISSL, an instrument widely utilized for the evaluation of stress in different populations (KNUTH *et al.*, 2016; BANDEIRA., 2007; KIRCHNER., 2019). This instrument has as an advantage the analysis of physical symptoms, besides psychological ones, related to stress. Furthermore, it classifies the stress responses in four phases according to duration and severity of the symptoms, identifying from its earliest to the most advanced stage of stress. The alert phase encompasses the symptoms associated with the reactions to acute stress, called “alarm reaction” by Selye (1965). The resistance, near-exhaustion and exhaustion phases comprise the chronic effects of stress and are characterized by increasingly severe of symptoms (Lipp and Lipp, 2019). As expected with basis in the literature, the stressed elderly presented greater depressive and anxious symptomatology, and greater scoring in the PSS, that evaluates psychological symptoms associated to stress (LUFT *et al.*, 2007; CORRÊA *et al.*, 2016; FERRARA, 2008).

However, most of our sample of stressed individuals (75%) was in the resistance phase, which is characterized by the induction of physiological and biochemical adaptations that have as its function to maintain homeostasis, in a way that clinically relevant dysfunctions or illnesses are not yet observed. Therefore, it is not a phase where one would expect very pronounced alterations of cognitive performance. Our findings

corroborate this conception. The Stressed elderly have presented lower cognitive performance in relation to the control group (Not Stressed), especially in components of executive function, such as working memory, attention, processing speed and inhibitory capacity. These results are in accord with previous findings of ours (CORRÊA *et al.*, 2018; PALMA *et al.*, 2011) and other research groups (VITALIANO, 2010; NORTON, 2010). However, regression analyses indicated that the effect of stress on cognitive function was small, explaining no more than 15% of the variability in the performance of tasks that have shown significant between group differences. Other studies, analyzing populations with higher levels of stress, have shown more significant effects on cognitive performance (CORRÊA *et al.*, 2015; OKEN *et al.*, 2011; VITALIANO, 2010; 2011).

The pattern of results obtained in this study for the cortisol, DHEA-S levels and for the cortisol/DHEA-S ratio are in accordance with previous findings in plasma and saliva samples (JECKEL *et al.* 2010; CORRÊA *et al.*, 2015; MARKOPOULOU, 2009). The cortisol levels have increased, the DHEA-S decreased (although they have not attained statistical significance) and the cortisol/DHEA-S ratio increased in the Stressed group. These results are compatible with the decline in cognitive performance observed in the stressed elderly of this study. As the glucocorticoid receptors are concentrated in the prefrontal cortex and the hippocampus (revision in LUPIEN *et al.*, 2007), it is expected that an increase of the cortisol levels harms cognitive functions dependent on these structures, especially in situations in which cortisol alterations are not accompanied by the increase of the DHEA(s), which have anti-glucocorticoid effects (CORRÊA *et al.*, 2015; MANINGER *et al.*, 2009). This is precisely the case for our study, that has observed a decline in different components of executive function and declarative memory, dependent on the prefrontal cortex and hippocampus, respectively.

Even though there were hormonal and cognitive differences between the Stressed and Not Stressed groups, no significant correlations between hormonal levels and the cognitive performance of the elderly were found. To the present, few studies have sought to verify the relation between hair cortisol and cognitive performance. As in our study, McLennan and colleagues (2016) have not observed significant associations between the hair levels of cortisol and the cognitive tests that evaluated prefrontal (executive) and hippocampal (memory) functions of middle-aged adults. On the other hand, Pulpulos and collaborators (2014) identified a positive correlation between hair cortisol levels and performance in cognitive tasks that evaluated components of executive function (attention, working memory) and verbal memory (correlation coefficients ≤ 0.30) in a

sample of healthy older people. However, the same sample has shown a negative correlation between saliva cortisol and performance on attention and short-term verbal memory, whereas the ratio of salivary cortisol/hair cortisol showed a stronger negative relationship with working memory and short-term verbal memory than the association observed between the performance on these cognitive tasks and each cortisol outcome considered separately. Taken together, these results suggest that, under normal to slightly elevated cortisol levels, the acute effect of cortisol on cognitive performance (as indicated by the saliva or plasma cortisol) is more robust than, or interacts with, the history of chronically altered cortisol levels (as cortisol measured in hair samples). This hypothesis finds support in other experimental studies (COLUCCIA *et al.*, 2008; KEENAN *et al.*, 1996) and could explain the lack of association of cortisol to cognitive performance in the present study. Although we have not found significant associations between the hormonal levels and cognitive performance, we have observed significant associations of stress with cortisol levels and with the cortisol/DHEA-S ratio. In contrast with our initial hypothesis, the association of cortisol with stress was more robust than the association between the cortisol/DHEA-S ratio and stress. In this context, it becomes important to emphasize that, contrary to what happens to cortisol, the role and mechanisms of action of DHEA-S in the nervous system are still heavily debated, as well as the potential of the cortisol/DHEA-S ratio as a biomarker of the effects of chronic stress on the organism (MARKOPOULOU, 2009; JECKEL *et al.*, 2010; MANINGER *et al.*, 2009; de BRUIN, 2007). It is important to emphasize, however, that evidence that higher levels of DHEA-S or lower levels of the cortisol/DHEA-S ratio are associated to better performance in memory and attention tasks do exist, even in stressor conditions (BARRETT-CONNOR; EDELSTEIN, 1994; WOLF *et al.*, 1997; MORGAN *et al.*, 2009; RUSSO *et al.*, 2012). Therefore, in situations in which the increase in cortisol is not accompanied by an increase in DHEA-S, as we have observed in the present study, cognitive decline is expected.

One of the limitations of this study was the sample size. Although the significant differences between groups in cognitive performance and hormonal levels agrees with the literature in respect to the effects of stress on the organism, a larger sample would allow more robust conclusions in respect to the relation between cortisol levels and the cortisol/DHEA-S ratio with cognitive performance.

7 CONCLUSIONS

In conclusion, the findings of the present study suggest that neither hair cortisol nor the hair cortisol/DHEA-S ratio have significant associations with cognitive performance in stressed elderly. However, the analysis of these hormones in hair samples is still the most adequate technique to measure the impacts of chronic stress on the organism, fact supported by the findings in this study, that has identified an increase of the cortisol levels and the cortisol/DHEA-S ratio in the elderly with long term stress. Future investigations, with larger samples, homogeneous with regards to the different phases of stress, and simultaneous analyses of cortisol and DHEA-S in different types of samples, e.g., saliva and hair, are fundamental for the analysis of the potential of these steroids as biomarkers of stress and cognitive integrity, or impairment.

COMPETING INTERESTS

The authors declare no competing interests.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Prof. Dr. Kayla Ximenes de Aguiar for her valuable help in the recruitment of subjects for this study.

FUNDING

This research was supported by the National Institute of Science and Technology for Translational Medicine (INCT-TM), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brasília, Brazil and by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brazil (CAPES) – Finance code 001. E. Bromberg and I.L.L. Argimon are CNPq research fellows. J.R. Lovera, B.F. Rocha and A.A. Moraes had a CAPES fellowship and C.S. dos Santos had a FAPERGs fellowship. The funding sources were not involved in the study design, in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication.

REFERENCES

Alhaj HA, Massey AE, McAllister-Williams RH. Effects of DHEA administration on episodic memory, cortisol and mood in healthy young men: A double-blind, placebo-controlled study. *Psychopharmacology (Berl)*. 2006 Nov;188(4):541-51.

Doi:10.1007/s00213-005-0136-y.

Allen AP, Curran EA, Duggan Á, Cryan JF, Chorcóráin AN, Dinan TG, et al. A systematic review of the psychobiological burden of informal caregiving for patients with dementia: Focus on cognitive and biological markers of chronic stress. *Neurosci Biobehav Rev*. 2017 Feb;73:123-164.

Doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.12.006.

Almeida OP, Almeida SA. Confiabilidade da versão brasileira da Escala de Depressão em Geriatria (GDS) versão reduzida. *Arq Neuro-Psiquiatr* 1999 Jun;57(2B).

Doi:10.1590/s0004-282x1999000300013.

Balazs Z, Schweizer RAS, Frey FJ, Rohner-Jeanrenaud F, Odematt A. DHEA induces 11 β -HSD2 by acting on CCAAT/enhancer-binding proteins. *J Am Soc Nephrol*. 2008 Jan;19(1):92-101.

Doi: 10.1681/ASN.2007030263.

Bandeira DR, Pawlowski J, Gonçalves TR, Hilgert JB, Bozzetti MC, Hugo FN. Psychological distress in Brazilian caregivers of relatives with dementia. *Aging Ment Heal*. 2007 Jan;11(1):14-9.

Doi:10.1080/13607860600640814.

Barrett- Connor E, Edelman SL. A Prospective Study of Dehydroepiandrosterone Sulfate and Cognitive Function in an Older Population: The Rancho Bernardo Study. *J Am Geriatr Soc*. 1994 Apr;42(4):420-3.

Doi:10.1111/j.1532-5415.1994.tb07491.x.

Bertolucci PHF, Brucki SMD, Campacci SR, Juliano Y. O Mini-Exame do Estado

Mental em uma população geral: impacto da escolaridade. *Arq Neuro-Psiquiatr.* 1994 Mar;52(1).

Doi:10.1590/s0004-282x1994000100001.

Bremner JD. Does stress damage the brain. *Biol Psychiatry* 1999 Apr;45(7):797-805.

Doi:10.1016/S0006-3223(99)00009-8.

de Bruin WB, Parker AM, Fischhoff B. Can Adolescents Predict Significant Life Events? *J Adolesc Heal.* 2007;41(2):208-210.

Doi:10.1016/j.jadohealth.2007.03.014.

Caswell LW, Vitaliano PP, Croyle KL, Scanlan JM, Zhang J, Daruwala A. Negative associations of chronic stress and cognitive performance in older adult spouse caregivers. *Exp Aging Res.* 2003 Jul-Sep;29(3):303-18.

Doi:10.1080/03610730303721.

Chen Z, Li J, Zhang J, Xing X, Gao W, Lu Z, et al. Simultaneous determination of hair cortisol, cortisone and DHEAS with liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry in negative mode. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci.* 2013 Jun;929:187-94.

Doi:10.1016/j.jchromb.2013.04.026.

Coluccia D, Wolf OT, Kollias S, Roozendaal B, Forster A, De Quervain DJF. Glucocorticoid therapy-induced memory deficits: Acute versus chronic effects. *J Neurosci.* 2008 Apr;28(13):3474-8.

Doi:10.1523/JNEUROSCI.4893-07.2008.

Corrêa MS, Giacobbo BL, Vedovelli K, De Lima DB, Ferrari P, De Lima Argimon II, et al. Age effects on cognitive and physiological parameters in familial caregivers of Alzheimer's disease patients. *PLoS One.* 2016;11(10).

Doi:10.1371/journal.pone.0162619.

Corrêa MS, de Lima DB, Giacobbo BL, Vedovelli K, Argimon II de L, Bromberg E. Mental health in familial caregivers of Alzheimer's disease patients: are the effects of chronic stress on cognition inevitable? *Stress.* 2018 Nov;22:83-92.

Doi:10.1080/10253890.2018.1510485.

Corrêa MS, Vedovelli K, Giacobbo BL, de Souza CEB, Ferrari P, de Lima Argimon II, et al. Psychophysiological correlates of cognitive deficits in family caregivers of patients with Alzheimer Disease. *Neuroscience*. 2015 Feb;286:371-82.

Doi:10.1016/j.neuroscience.2014.11.052.

Esteves CS, Oliveira CR, Moret-Tatay C, Navarro-Pardo E, de Carli GA, Silva IG, et al. Phonemic and semantic verbal fluency tasks: normative data for elderly Brazilians. *Psicol reflex crit*. 2015 Apr-Jun;28(2), 350-355.

Doi: 10.1590/1678-7153.201528215

Feller S, Vigl M, Bergmann MM, Boeing H, Kirschbaum C, Stalder T. Predictors of hair cortisol concentrations in older adults. *Psychoneuroendocrinology*. 2014 Jan;39:132-140.

Doi: 10.1016/j.psyneuen.2013.10.007.

Ferrara M, Langiano E, Di Brango T, De Vito E, Di Cioccio L, Bauco C. Prevalence of stress, anxiety and depression in with Alzheimer caregivers. *Health Qual Life Outcomes*. 2008 Nov;6:93.

Doi:10.1186/1477-7525-6-93.

Figueiredo VLM de, Nascimento E do. Desempenhos nas duas tarefas do subteste dígitos do WISC-III e do WAIS-III. *Psicol Teor e Pesqui* 2007;23.

<https://doi.org/10.1590/s0102-37722007000300010>.

Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975 Nov;12(3):189-98.

Doi:10.1016/0022-3956(75)90026-6.

Gao W, Kirschbaum C, Grass J, Stalder T. LC-MS based analysis of endogenous steroid hormones in human hair. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2016 Sep;162:92-9.

Doi:10.1016/j.jsbmb.2015.12.022.

Gatti R, Antonelli G, Prearo M, Spinella P, Cappellin E, De Palo EF. Cortisol assays and diagnostic laboratory procedures in human biological fluids. *Clin Biochem*. 2009 Aug;42(12):1205-17.

Doi: 10.1016/j.clinbiochem.2009.04.011.

Gaudl A, Kratzsch J, Bae YJ, Kiess W, Thiery J, Ceglarek U. Liquid chromatography quadrupole linear ion trap mass spectrometry for quantitative steroid hormone analysis in plasma, urine, saliva and hair. *J Chromatogr A*. 2016 Sep;1464:64-71.

Doi:10.1016/j.chroma.2016.07.087.

Gerritsen L, Comijs HC, Deeg DJH, Penninx BWJH, Geerlings MI. Salivary cortisol, APOE-ε4 allele and cognitive decline in a prospective study of older persons. *Neurobiol Aging*. 2011;32(9):1615-1625.

Doi:10.1016/j.neurobiolaging.2009.09.007.

Hennebert O, Chalbot S, Alran S, Morfin R. Dehydroepiandrosterone 7α-hydroxylation in human tissues: Possible interference with type 1 11β-hydroxysteroid dehydrogenase-mediated processes. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2007 May;104(3-5):326-33.

Doi:10.1016/j.jsbmb.2007.03.026.

Holmes A, Wellman CL. Stress-induced prefrontal reorganization and executive dysfunction in rodents. *Neurosci Biobehav Rev*. 2009 Jun;33(6):773-83

Doi: 10.1016/j.neubiorev.2008.11.005.

Hu Y, Cardounel A, GURSOY E, Anderson P, Kalimi M. Anti-stress effects of dehydroepiandrosterone: protection of rats against repeated immobilization stress-induced weight loss, glucocorticoid receptor production, and lipid peroxidation.

Biochem Pharmacol. 2000 Apr;59(7):753-62.

Doi:10.1016/s0006-2952(99)00385-8.

Hugo J, Ganguli M. Dementia and Cognitive Impairment. *Epidemiology, Diagnosis, and Treatment*. *Clin Geriatr Med*. 2014 Aug;30(3):421-42.

Doi:10.1016/j.cger.2014.04.001.

Jeckel CMM, Lopes RP, Berleze MC, Luz C, Feix L, Argimon IIL, et al. Neuroendocrine and immunological correlates of chronic stress in 'strictly healthy' populations. *Neuroimmunomodulation*. 2010 Oct;17(1):9-18.
Doi: 10.1159/000243080

Kalmijn S, Launer LJ, Stolk RP, De Jong FH, Pols HAP, Hofman A, et al. A prospective study on cortisol, dehydroepiandrosterone sulfate, and cognitive function in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998 Oct;83(10):3487-92.
Doi:10.1210/jcem.83.10.5164.

Karlén J, Ludvigsson J, Frostell A, Theodorsson E, Faresjö T. Cortisol in hair measured in young adults - A biomarker of major life stressors? *BMC Clin Pathol*. 2011 Oct;11:12.
Doi: 10.1186/1472-6890-11-12.

Keenan PA, Jacobson MW, Soleymani RM, Mayes MD, Stress ME, Yaldoo DT. The effect on memory of chronic prednisone treatment in patients with systemic disease. *Neurology*. 1996 Dec;47(6): 1396-1402.
Doi:10.1212/WNL.47.6.1396-402

Khoo B, Boshier PR, Freethy A, Tharakan G, Saeed S, Hill N, et al. Redefining the stress cortisol response to surgery. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2017 Nov;87(5):451-458.
Doi:10.1111/cen.13439.

Kim JJ, Song EY, Kosten TA. Stress effects in the hippocampus: Synaptic plasticity and memory. *Stress*. 2006 Mar;9(1):1-11.
Doi: 10.1080/10253890600678004.

Kirchner LF. Behavioral intervention in women with Fibromyalgia: clinical significance and reliable change. *Psicol Am Lat*. 2019;32:157-67.

Knuth BS, Cocco RA, Radtke VA, Medeiros JRC, Oses JP, Wiener CD, et al. Stress, depression, quality of life and salivary cortisol levels in community health agents. *Acta Neuropsychiatr*. 2016 Jun;28(3):165-72.

Doi:10.1017/neu.2015.58.

Kozisek ME, Middlemas D, Bylund DB. Brain-derived neurotrophic factor and its receptor tropomyosin-related kinase B in the mechanism of action of antidepressant therapies. *Pharmacol Ther.* 2008 Jan;117(1):30–51.

Doi:10.1016/j.pharmthera.2007.07.001.

LeBeau MA, Montgomery MA, Brewer JD. The role of variations in growth rate and sample collection on interpreting results of segmental analyses of hair. *Forensic Sci Int.* 2011 Jul;210(1-3):110-6.

Doi:10.1016/j.forsciint.2011.02.015.

Lindauer RJL, Olf M, Van Meijel EPM, Carlier IVE, Gersons BPR. Cortisol, learning, memory, and attention in relation to smaller hippocampal volume in police officers with posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry.* 2006 Jan;59(2):171-7.

Doi:10.1016/j.biopsych.2005.06.033.

Lipp MEN. Manual do Inventário de Sintomas de Stress para Adultos de Lipp (ISSL). São Paulo: Casa do Psicólogo; 2005.

Lipp MN, Lipp LMN. Proposal for a Four-Phase Stress Model. *Psychology* 2019;10, 1435-1443

<https://doi.org/10.4236/psych.2019.1011094>.

Luft CDB, Sanches S de O, Mazo GZ, Andrade A. Versão brasileira da Escala de Estresse Percebido: tradução e validação para idosos. *Rev Saude Publica* 2007 Ago;41(4).

Doi:10.1590/s0034-89102007000400015.

Lupien SJ, Maheu F, Tu M, Fiocco A, Schramek TE. The effects of stress and stress hormones on human cognition: Implications for the field of brain and cognition. *Brain Cogn* 2007 Dec;65(3):209-37.

Doi:10.1016/j.bandc.2007.02.007.

Maninger N, Wolkowitz OM, Reus VI, Epel ES, Mellon SH. Neurobiological and

neuropsychiatric effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) and DHEA sulfate (DHEAS). *Front Neuroendocrinol.* 2009 Jan;30(1):65-91.

Doi:10.1016/j.yfrne.2008.11.002.

Markopoulou K, Papadopoulos A, Juruena MF, Poon L, Pariante CM, Cleare AJ. The ratio of cortisol/DHEA in treatment resistant depression. *Psychoneuroendocrinology.* 2009 Jan;34(1):19-26.

Doi:10.1016/j.psyneuen.2008.08.004.

Markowski M, Ungeheuer M, Bitran D, Locurto C. Memory-enhancing effects of DHEAS in aged mice on a win-shift water escape task. *Physiol Behav.* 2001 Mar;72(4):521-5.

Doi:10.1016/S0031-9384(00)00446-7.

Massena PN, De Araújo NB, Pachana N, Laks J, De Pádua AC, Oude Voshaar RC. Validation of the Brazilian Portuguese Version of Geriatric Anxiety Inventory - GAI-BR. *Int Psychogeriatr.* 2015 Jul;27(7):1113-9.

Doi:10.1017/S1041610214001021.

McEwen BS. Interacting mediators of allostasis and allostatic load: Towards an understanding of resilience in aging. *Metabolism.* 2003 Oct;52(10 Suppl 2):10-6.

Doi:10.1016/S0026-0495(03)00295-6.

McLennan SN, Ihle A, Steudte-Schmiedgen S, Kirschbaum C, Kliegel M. Hair cortisol and cognitive performance in working age adults. *Psychoneuroendocrinology.* 2016 May;67:100-3.

Doi: 10.1016/j.psyneuen.2016.01.029.

Mizoguchi K, Ishige A, Aburada M, Tabira T. Chronic stress attenuates glucocorticoid negative feedback: Involvement of the prefrontal cortex and hippocampus. *Neuroscience.* 2003;119(3):887-97.

Doi: 10.1016/S0306-4522(03)00105-2.

Morgan CA, Rasmusson A, Pietrzak RH, Coric V, Southwick SM. Relationships

Among Plasma Dehydroepiandrosterone and Dehydroepiandrosterone Sulfate, Cortisol, Symptoms of Dissociation, and Objective Performance in Humans Exposed to Underwater Navigation Stress. *Biol Psychiatry*. 2009 Aug;66(4):334-40.
Doi:10.1016/j.biopsych.2009.04.004.

Nater UM, Skoluda N, Strahler J. Biomarkers of stress in behavioural medicine. *Curr Opin Psychiatry*. 2013 Sep;26(5):440-5.
Doi:10.1097/YCO.0b013e328363b4ed.

Van Niekerk JK, Huppert FA, Herbert J. Salivary cortisol and DHEA: Association with measures of cognition and well-being in normal older men, and effects of three months of DHEA supplementation. *Psychoneuroendocrinology*. 2001 Aug;26(6):591-612.
Doi:10.1016/S0306-4530(01)00014-2.

Noppe G, De Rijke YB, Dorst K, Van Den Akker ELT, Van Rossum EFC. LC-MS/MS-based method for long-term steroid profiling in human scalp hair. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015 Aug;83(2):162-6.
Doi:10.1111/cen.12781.

Norton MC, Smith KR, Østbye T, Tschanz JT, Corcoran C, Schwartz S, et al. Greater risk of dementia when spouse has dementia? The Cache County study. *J Am Geriatr Soc*. 2010 May;58(5):895-900.
Doi: 10.1111/j.1532-5415.2010.02806.x

Oken BS, Fonareva I, Wahbeh H. Stress-related cognitive dysfunction in dementia caregivers. *J Geriatr Psychiatry Neurol*. 2011 Dec;24(4):191-8.
Doi:10.1177/0891988711422524.

Palma KAXA, Balardin JB, Vedana G, De Lima Argimon II, Luz C, Schröder N, et al. Emotional memory deficit and its psychophysiological correlate in family caregivers of patients with dementia. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2011 Jul-Sep;25(3):262-8.
Doi:10.1097/WAD.0b013e318209e453.

Pulopulos MM, Hidalgo V, Almela M, Puig-Perez S, Villada C, Salvador A. Hair

cortisol and cognitive performance in healthy older people. *Psychoneuroendocrinology*. 2014 Jun;44:100-11.

Doi: 10.1016/j.psyneuen.2014.03.002.

Rhodes ME, Li PK, Burke AM, Johnson DA. Enhanced plasma DHEAS, brain acetylcholine and memory mediated by steroid sulfatase inhibition. *Brain Res*. 1997 Oct;773(1-2):28-32.

Doi: 10.1016/S0006-8993(97)00867-6.

Russell E, Koren G, Rieder M, Van Uum S. Hair cortisol as a biological marker of chronic stress: Current status, future directions and unanswered questions.

Psychoneuroendocrinology. 2012 May;37(5):589-601.

Doi:10.1016/j.psyneuen.2011.09.009.

Russo SJ, Murrough JW, Han MH, Charney DS, Nestler EJ. Neurobiology of resilience.

Nat Neurosci. 2012 Nov;15(11):1475-84.

Doi:10.1038/nrn.3234.

Sandi C. Stress and cognition. *Wiley Interdiscip Rev Cogn Sci*. 2013

May/Jun;4(3):245–261.

Doi:10.1002/WCS.1222.

Sandi C. Stress, cognitive impairment and cell adhesion molecules. *Nat Rev Neurosci*.

2004 Dec;5(12):917-30.

Doi:10.1038/nrn1555.

Santos AT dos, Leyendecker DMD, Costa ALS, Souza-Talarico JN de. Relationship between cortisol reactivity to psychosocial stress and declarative memory decline during aging: Impact of age and sex. *Geriatr Gerontol Int* 2018 Jan;18(1):169-176.

Doi:10.1111/ggi.13139.

Shields GS, Sazma MA, Yonelinas AP. The effects of acute stress on core executive functions: A meta-analysis and comparison with cortisol. *Neurosci Biobehav Rev*. 2016

Sep;68:651-668

Doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.06.038

Scott L V., Salahuddin F, Cooney J, Svec F, Dinan TG. Differences in adrenal steroid profile in chronic fatigue syndrome, in depression and in health. *J Affect Disord.* 1999 Jul;54(1-2):129-37.

Doi:10.1016/S0165-0327(98)00169-4.

Singh-Manoux A, Dugravot A, Elbaz A, Shipley M, Kivimaki M, Kumari M. No evidence of a longitudinal association between diurnal cortisol patterns and cognition. *Neurobiol Aging.* 2014 Oct;35(10):2239-45).

Doi:10.1016/j.neurobiolaging.2014.03.015.

Strauss E, Sherman EMS, Spreen O. *A Compendium of Neuropsychological Tests: Administration, Norms, and Commentary* (3rd ed.), Oxford University Press, New York, 2006.

Stalder T, Steudte S, Alexander N, Miller R, Gao W, Dettenborn L, et al. Cortisol in hair, body mass index and stress-related measures. *Biol Psychol.* 2012 Jul;90(3):218-23.

Doi: 10.1016/j.biopsycho.2012.03.010.

Van Uum SHM, Sauvé B, Fraser LA, Morley-Forster P, Paul TL, Koren G. Elevated content of cortisol in hair of patients with severe chronic pain: A novel biomarker for stress. *Stress.* 2008 Nov;11(6):483-8.

Doi: 10.1080/10253890801887388.

Vedhara K, Hyde J, Gilchrist ID, Tytherleigh M, Plummer S. Acute stress, memory, attention and cortisol. *Psychoneuroendocrinology.* 2000 Aug;25(6):535-49.

Doi:10.1016/S0306-4530(00)00008-1.

Vitaliano PP. An ironic tragedy: Are spouses of persons with Dementia at higher risk for Dementia than spouses of persons without Dementia? *J Am Geriatr Soc.* 2010 May;58(5):976-978.

Doi:10.1111/j.1532-5415.2010.02843.x.

Vitaliano PP, Zhang J, Young HM, Caswell LW, Scanlan JM, Echeverria D. Depressed mood mediates decline in cognitive processing speed in caregivers. *Gerontologist*. 2009 Feb;49(1):12-22.

Doi:10.1093/geront/gnp004.

Wechsler D. WAIS-III: Escala de Inteligência Wechsler para Adultos: manual. São Paulo: Casa do Psicólogo; 2004.

Wechsler D. Manual for the wechsler Memory Scale- Revised. San Antonio: Psychological Corp; 1987.

Weitzman ED, Fukushima D, Nogueira C, Roffwarg H, Gallagher TF, Hellman L. Twenty-four hour pattern of the episodic secretion of cortisol in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 1971 Jul;33(1):14-22.

Doi: 10.1210/jcem-33-1-14.

Wennig R. Potential problems with the interpretation of hair analysis results. *Forensic Sci. Int.* 2000 Jan;107(1-3):5-12.

Doi:10.1016/S0379-0738(99)00146-2.

Wolf OT, Neumann O, Hellhammer DH, Geiben AC, Strasburger CJ, Dressendörfer RA, et al. Effects of a two-week physiological dehydroepiandrosterone substitution on cognitive performance and well-being in healthy elderly women and men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997 Jul;82(7):2363-7.

Doi:10.1210/jc.82.7.2363.

Yamada K, Nabeshima T. Brain-derived neurotrophic factor/TrkB signaling in memory processes. *J Pharmacol Sci*. 2003 Apr;91(4):267-70.

Doi:10.1254/jphs.91.267.

**IS THE HAIR CORTISOL/DHEA-S RATIO OF OLDER ADULTS A MORE
EFFICIENT BIOMARKER FOR CHRONIC STRESS AND COGNITIVE
STATUS THAN HAIR CORTISOL ALONE? AN EXPLORATORY STUDY**

Juliana de Rezende Lovera^{1,2,3}, Cristophod de Souza dos Santos^{1,2}, Luisa Kleveston^{1,2},
Gabriel Rübensam⁴, Bruna Fernandes da Rocha⁵, Allana Almeida Moraes⁵, Irani
Iracema de Lima Argimon⁵, Elke Bromberg*^{1,2,3,5}

¹Laboratory of Biology and Development of the Nervous System, Pontifical Catholic
University of Rio Grande do Sul, PUCRS /Brazil

²National Institute of Science and Technology in Translational Medicine (INCT-TM),
National Council of Scientific and Technological Development (CNPq), Brasília, Brazil

³Graduate Program in Cellular and Molecular Biology, Pontifical Catholic University of
Rio Grande do Sul, PUCRS/Brazil

⁴Center of Toxicology and Pharmacology Reseach, School of Health
and Life Sciences, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul PUCRS/Brazil

⁵Graduate Program in Biomedical Gerontology, Institute of Geriatrics and Gerontology,
Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, PUCRS/Brazil

*Corresponding author:

Elke Bromberg

Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul

Avenida Ipiranga, 6681

Porto Alegre, Brazil Zip Code: 90619-900

Phone: +55 51 33203683

Email: bromberg@pucrs.br

COMPETING INTERESTS

The authors declare no competing interests.

7 CONCLUSÃO

Idosos estressados são considerados um modelo para estudos sobre os efeitos do estresse sobre o organismo. O estresse associado a sintomatologia ansiosa e depressiva, tornam estes indivíduos suscetíveis aos efeitos negativos do estresse, os quais comprometem diferentes mecanismos e funções fisiológicas. Um dos mecanismos mais alterado é a produção e secreção dos glicocorticóides, sendo o hormônio cortisol um dos biomarcadores mais estudados.

Diante do exposto, nossa hipótese inicial, foi analisar se a razão cortisol/DHEAS capilar são indicativos de nível de estresse e declínio cognitivo em idosos. Os resultados de nosso experimento mostraram que idosos com estresse tem menor desempenho cognitivo, níveis mais elevados de cortisol capilar e valores mais altos para a razão cortisol/DHEAS, o cortisol mostrou uma associação mais forte com o estresse do que a razão cortisol/DHEAS. Adicionalmente, nem o cortisol nem a razão cortisol/DHEAS foram preditores significativos de desempenho cognitivo.

Como esperado na literatura, os idosos estressados apresentaram maior sintomatologia depressiva e ansiosa. A maior parte da nossa amostra de indivíduos estressados encontravam-se na fase de resistência, conforme a pontuação na ESL, nesta fase ainda não se observa disfunções clinicamente relevantes ou adoecimento. Com isso, não é uma fase onde se esperaria encontrar alterações muito pronunciadas do desempenho cognitivo. Nossos achados corroboram esta concepção.

Os resultados obtidos para níveis de cortisol, DHEAS e para a razão cortisol/DHEAS estão de acordo com o esperado. Os níveis de cortisol aumentaram, os valores de DHEAS decresceram e a razão cortisol/DHEAS aumentaram no grupo estressado, esses resultados são compatíveis com a queda na performance cognitiva observada nos idosos estressados em nosso estudo. Como os receptores para glicocorticóides concentram-se no córtex frontal e no hipocampo (revisão em Lupien et al., 2007), espera-se que um aumento dos níveis de cortisol prejudique funções cognitivas dependentes destas estruturas, especialmente em situações nas quais as alterações de cortisol não são acompanhadas pela elevação do DHEAS. Este é o caso de nosso estudo ao qual observou declínio em diferentes componentes da função executiva e na memória declarativa, dependentes do córtex pré-frontal e hipocampo, respectivamente.

Em contraste com a nossa hipótese inicial, a associação do cortisol com o estresse foi mais robusta do que a associação entre a razão cortisol/DHEAS e o estresse. Ao contrário do que ocorre com o cortisol, o papel e os mecanismos de ação do DHEAS no sistema nervoso

central ainda são muito debatidos, assim como o potencial da razão cortisol/DHEAS como biomarcador dos efeitos do estresse crônico no organismo.

Estudos futuros, com amostras maiores, composição homogêneas nas diferentes fases do estresse e análises simultâneas do cortisol e DHEA-S em diferentes amostras são essenciais para análise do potencial destes esteroides como biomarcadores do estresse e comprometimento cognitivo.

Diante do exposto, acreditamos que esses achados são de extrema importância para a compreensão do comprometimento cognitivo e neurofisiológico dos efeitos do estresse crônico e da população idosa. Estamos confiantes de que nossos resultados são importantes para expandir ainda mais o conhecimento nessa área, trazendo entendimento para o estabelecimento das técnicas para uma gestão adequada para essa população, garantindo à eles um envelhecimento de qualidade

REFERÊNCIAS

AHN, R. *et al.* Salivary Cortisol and DHEA Levels in the Korean Population: Age-Related Differences, Diurnal Rhythm, and Correlations with Serum Levels. **Yonsei Medical Journal**, [S. l.], v. 48, n. 3, p. 379-388, 2007.

ALLEN, A. P. *et al.* A systematic review of the psychobiological burden of informal caregiving for patients with dementia: focus on cognitive and biological markers of chronic stress. **Neurosci Biobehav Rev.**, [S. l.], v. 73, p. 123- 64, Feb. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763416302792>. Acesso em: 28 mar. 2020.

ARTOLA, A. *et al.* Long-lasting modulation of the induction of LTD and LTP in rat hippocampal CA1 by behavioural stress and environmental enrichment. **European Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 23, n. 1, 261-72, Jan. 2006. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1460-9568.2005.04552.x>. Acesso em: 28 mar. 2020.

BERTOLUCCI, P. H. F. *et al.* O Mini-Exame do Estado Mental em uma população geral: impacto da escolaridade. **Arquivos de Neuro-psiquiatria**, [S. l.], v. 52, n. 1, p.01-07, Mar. 1994. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-282X1994000100001&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 28 mar. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas e Estratégicas. **Atenção à Saúde da Pessoa Idosa e Envelhecimento**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2010. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/pacto_saude_volume12.pdf. Acesso em: 28 mar. 2020.

BRAVER, T. S. *et al.* Context processing in older adults: evidence for a theory relating cognitive control to neurobiology in healthy aging. **Journal of Experimental Psychology: General**, [S. l.], v. 130, n. 4, p. 746-63, Dec. 2001. Disponível em: <https://psycnet.apa.org/record/2001-05320-009>. Acesso em: 28 mar. 2020.

BREMNER, J.D. Does Stress Damage the Brain? **Biol Psychiatry**, [S. l.], v. 45, n. 7, p. 797-805, Apr. 1999. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322399000098>. Acesso em: 28 mar. 2020.

BRUCKI, S. M. D.; ROCHA, M. S. G. Category fluency test: Effects of age, gender and education on total scores, clustering, in Brazilian Portuguese-speaking subjects. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 37, n. 12, p. 1771-1777, dez. 2004. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2004001200002. Acesso em: 28 mar. 2020.

BRUIN, W. B.; PARKER, A. M.; FISCHHOFF, B. Can adolescents predict significant life events? **Journal of Adolescent Health**, [S. l.], v. 41, n. 2, p. 208-210, Agu. 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1054139X07001814>. Acesso em: 28 mar. 2020.

BUWALDA, B. *et al.* Long-term effects of social stress on brain and behavior: a focus on hippocampal functioning. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, [S. l.], v. 29, n. 1, p. 83-97, Feb. 2005. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763404001538>. Acesso em: 28 mar. 2020.

CARLSON, L. E.; SHERWIN, B. B.; CHERKTKOW, H. M. Relationships between Dehydroepiandrosterone Sulfate (DHEAS) and Cortisol (CRT) Plasma Levels and Everyday Memory in Alzheimer's Disease Patients Compared to Healthy Controls. **Horm Behav.** [S. l.], v. 35, n. 3, p. 254-63, Jul. 1999. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0018506X99915180?via%3Dihub>. Acesso em: 28 mar. 2020.

CARRION, V. G. *et al.* Attenuation of Frontal Asymmetry in Pediatric Posttraumatic Stress Disorder. **Biol Psychiatry.**, [S. l.], v. 50, n. 12, p. 943-951, Dec. 2001. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322301012185?via%3Dihub>. Acesso em: 28 mar. 2020.

CHEN, Z.; LI. Simultaneous determination of hair cortisol, cortisone and DHEAS with liquid chromatography–electrospray ionization–tandem mass spectrometry in negative mode.

Journal Of Chromatography B, [S. l.], v. 929, p.187-194, Jun. 2013. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1570023213002365>. Acesso em: 27 mar. 2020.

COMIJS, H. C. *et al.* The association between sérum cortisol and cognitive decline in older person. **Am. J. Geriatr. Psychiatry**, [S. l.], v. 18, n. 1, p. 42-50, Jan. 2010. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1064748112602711?via%3Dihub>. Acesso em: 28 mar. 2020.

CONRAD, C. D. Chronic Stress -Induced Hippocampal Vulnerability: the Glucocorticoid Vulnerability Hypothesis. **Rev Neurosci.**, [S. l.], v. 19, n. 6, p. 395-411, 2008. Disponível em:

<https://www.degruyter.com/view/journals/revneuro/19/6/article-p395.xml>. Acesso em: 28 mar. 2020.

CRUZ, M. N.; HAMDAN, A. C. O impacto da doença de Alzheimer no cuidador. **Psicologia em Estudo**, Maringá, v. 13, n. 2, p. 223-229, abr./jun. 2008. Disponível em:

[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-73722008000200004&script=sci_abstract&tlng=pt)

[73722008000200004&script=sci_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-73722008000200004&script=sci_abstract&tlng=pt). Acesso em: 29 mar. 2020.

DATSON, N. A. *et al.* Central corticosteroid actions: search for gene targets. **European Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 583, n. 2-3, p. 272-289, Apr. 2008. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299908000356?via%3Dihub>. Acesso em: 28 mar. 2020.

FERREIRA, O. G. L. *et al.* Active aging from the perspective of aged individuals who are functionally independent. **Rev Esc Enferm USP**, São Paulo, v. 44, n. 4, p. 1065-1069, Dec. 2010. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_isoref&pid=S0080-62342010000400030&lng=en&tlng=en. Acesso em: 28 mar. 2020.

FOLSTEIN, M. F.; FOLSTEIN, S. E.; MCHUGH, P. R. "Mini-mental state". **Journal of Psychiatric Research**, [S. l.], v. 12, n. 3, p.189-198, Nov. 1975. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022395675900266?via%3Dihub>. Acesso em: 28 mar. 2020.

GALLAGHER, P. *et al.* Plasma cortisol-dehydroepiandrosterone (DHEA) ratios in schizophrenia and bipolar disorder. **Schizophrenia Research**, [S. l.], v. 90, n. 1-3, p. 258-265, Feb. 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920996406004889?via%3Dihub>. Acesso em: 28 mar. 2020.

GAO, W. LC–MS based analysis of endogenous steroid hormones in human hair. **The Journal Of Steroid Biochemistry And Molecular Biology**, [S. l.], v. 162, p. 92-99, Sep. 2016. Elsevier BV. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960076015301667?via%3Dihub>. Acesso em: 27 mar. 2020.

GAUDL, A. Liquid chromatography quadrupole linear ion trap mass spectrometry for quantitative steroid hormone analysis in plasma, urine, saliva and hair. **Journal Of Chromatography A**, [S. l.], v. 1464, p.64-71, Sep. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967316310287?via%3Dihub>. Acesso em: 27 mar. 2020.

GERBER, M. *et al.* Concerns Regarding Hair Cortisol as a Biomarker of Chronic Stress in Exercise and Sport Science. **Journal of sports science & medicine**, [S. l.], v. 11, n. 4, 571-581, Dec. 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3763301/>. Acesso em: 29 mar. 2020.

GERRITSEN, L. Salivary cortisol, APOE-ε4 allele and cognitive decline in prospective study of older persons. **Neurob. Aging**, [S. l.], v. 32, n. 9, p. 1615-1625. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0197458009003133?via%3Dihub>. Acesso em: 28 mar. 2020.

GUAZZO, E. P. Cortisol, dehydroepiandrosterone (DHEA), and DHEA sulfate in the cerebrospinal fluid of man: relation to blood levels and the effects of age. **J Clin Endocrinol Metab.**, [S. l.], v. 81, n. 11, p. 3951-60, Nov.1996. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8923843>. Acesso em: 28 mar. 2020.

HANSON, N. D. *et al.* Several stressors fail to reduce adult hippocampal neurogenesis. **Psychoneuroendocrinology**, [S. l.], v. 36, n. 10, p. 1520-1529, Nov. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306453011001302?via%3Dihub>. Acesso em: 28 mar. 2020.

HASSANI, A. S. DHEA provides a microenvironment for endometrial stem cells neurogenesis. **Medical Hypotheses**, [S. l.], v. 76, n. 6, p. 843-846, Jun. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306987711000843?via%3Dihub>. Acesso em: 28 mar. 2020.

HECHTER, O.; GROSSMAN, A.; CHATTERTON, R. T. J. Relationship of dehydroepiandrosterone and cortisol in disease. **Medical Hypotheses**, [S. l.], v. 49, n. 1, p.

85-91, Jul.1997. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306987797902589?via%3Dihub>. Acesso em: 28 mar. 2020.

HENCKENS, M. J. A.G. *et al.* Pu, Z. Dynamically changing effects of corticosteroids on human hippocampal and prefrontal processing. **Hum Brain Mapp**, [S. l.], v. 33, n. 12, p. 2885-2897, 2012. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/hbm.21409>. Acesso em: 28 mar. 2020.

HENNEBERT, O. *et al.* Dehydroepiandrosterone 7 α -hydroxylation in human tissues: possible interference with type 1 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-mediated processes. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, [S. l.], v. 104, n. 3-5, p. 326-33, Jun. 2007.

HOLMES, A.; WELLMAN, C. L. Stress-induced pré-frontal reorganization and executive dysfunction in rodents. *Neurosci Biobehav Rev.*, [S. l.], v.33, n. 6, p. 773-783, Jun. 2009.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763408002030?via%3Dihub>. Acesso em: 28 mar. 2020.

HUANG, C. C., YANG, C. H., HSU., K. S. Do Stress and Long-Term Potentiation Share the Same Molecular Mechanisms?. **Molecular Neurobiology**, [S. l.], v. 32, n. 3, p. 223-235, Nov. 2005. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/16385139>. Acesso em: 28 mar. 2020.

JOELS, M., KRUGERS, H. J. LTP after Stress: UP or Down? **Neural Plasticity**, [S. l.], Mar. 2007. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/np/2007/093202/>. Acesso em: 28 mar. 2020.

KALMIJN *et al.* A Prospective Study on Cortisol, Dehydroepiandrosterone Sulfate, and Cognitive Function in the Elderly. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, [S. l.], v. 83, n. 10, p. 3487-3492, Oct. 1998. Disponível em:

<https://academic.oup.com/jcem/article/83/10/3487/2865433>. Acesso em: 28 mar. 2020.

KAMINSKA, M. *et al.* Deydroepaindrosterone sulfate (DHEAS) counteracts decremental effects of corticosterone on dentate gyrus LTP. Implication for depression. **Brain Research Bulletin**, [S. l.], v. 52, n. 3, p. 229-34, Jun. 2000. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0361923000002513?via%3Dihub>. Acesso em: 28 mar. 2020.

KARKAMENGLA, A. S. *et al.* Urinary cortisol excretion as a predictor of incident cognitive impairment. **Neurobiol.Aging**, [S. l.], v. 26, n. 1, p. 80-84, 2005. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0197458005003052>. Acesso em: 28 mar. 2020.

KARL, A. *et al.* A metanalysis of structural brain abnormalities in PTSD. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, [S. l.], v. 30, n. 7, p. 1004-1031, May, 2006. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763406000285?via%3Dihub>. Acesso em: 28 mar. 2020.

KIM, J. J. *et al.* Stress effects in the hippocampus: synaptic plasticity and memory. **Stress**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 1-11, 2006. Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10253890600678004>. Acesso em: 28 mar. 2020.

KIM, J. J.; DIAMOND, D. M. The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories. **Nature Reviews Neuroscience**, [S. l.], v. 3, n. 6, p.453-462, Jun. 2002. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrn849>. Acesso em: 28 mar. 2020.

KOZISEK. M. E.; MIDDLEMAS, D.; BYLUND, D. B. Brain-derived neurotrophic fator and its receptor tropomyosin-related kinase B in the mechanism of action of antidepressant therapies. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 117, n. 1, p. 30-51, Jan. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163725807001520?via%3Dihub>. Acesso em: 28 mar. 2020.

KUMAR, A. Long-term potentiation at CA3-CA1 hippocampal synapses with special emphasis on aging, disease, and stress. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 3, n. 7, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3102214/>. Acesso em: 28 mar. 2020.

LAMPERT, S. S. **Rede de Apoio Social, Resilência e Marcadores Imunológicos em Idosos Cuidadores de Pacientes com Demência**. 2009. Dissertação (Mestrado Gerontologia Biomédica) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

LEBLHUBER *et al.* Serum dehydroepiandrosterone and cortisol measurements in Huntington's chorea. **Journal of the Neurological Sciences**, [S. l.], v. 132, n.1, p. 76-79, Sep. 1995. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022510X9500114H>. Acesos em: 29 mar. 2020.

LEE, S. *et al.* Simultaneous quantitative analysis of salivary cortisol and cortisone in Korean adults using LC-MS/MS. **Bmb Reports**, [S. l.], v. 43, n. 7, p. 506-511, 31 Jul. 2010.

Li, G. *et al.* Salivary cortisol and memory function in human aging. **Neurobiology of Aging**, [S. l.], v. 27, n. 11, p. 1705-1714, Nov. 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0197458005003076?via%3Dihub>. Acesos em: 29 mar. 2020.

LINDAUER, R. J. L. *et al.* Cortisol, learning, memory and attention in relation to smaller hippocampal volume in police officers with posttraumatic stress disorder. **Biol Psychiatry**, [S. l.], v. 59, n. 2, p. 171-177, Jan. 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322305008474?via%3Dihub>. Acesos em: 29 mar. 2020.

LIPP, M. E. N. **Manual do Inventário de Sintomas de Stress para Adultos de Lipp (ISSL)** 3. ed. São Paulo: Casa do Psicólogo, 2005.

LONGONE, P. *et al.* Neurosteroids as neuromodulators in the treatment of anxiety disorders. **Fron Endocrinol**, [S. l.], v. 19, n. 2, p. 55, 2011. Disponível em: http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1808-56872008000200008&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: 29 mar. 2020.

LUFT, C. B. *et al.* Versão brasileira da Escala de Estresse Percebido: tradução e validação para idosos. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 41, n. 4, Aug. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsp/v41n4/5932.pdf>. Acesso em: 29 mar. 2020.

LUPIEN, S. J. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. **Nature Reviews Neuroscience**, [S. l.], v. 10, p. 434-445, 2009. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrn2639>. Acesso em: 29 mar. 2020.

MACLULLICH, A. M. Plasma cortisol levels, brain volumes and cognition in healthy elderly men. **Psychoneuroendocrinology**, [S. l.], v. 30, n. 5, p. 505-515, Jun. 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306453004001891?via%3Dihub>. Acesso em: 29 mar. 2020.

MANINGER, N. Neurobiological and neuropsychiatric effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) and DHEA sulfate (DHEAS). **Front Neuroendocrinol**, [S. l.], v. 30, p. 65-91, Jan. 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091302208000514>. Acesso em: 29 mar. 2020.

MANIZINI *et al.* Factors associated with the resilience of family caregivers of persons with dementia: a systematic review. **Rev. bras. geriatr. gerontol.**, Rio de Janeiro, v.19, n. 4, Jul./Aug. 2016. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1809-98232016000400703. Acesso em: 28 mar. 2020.

MCEWEN, B. S. Brain on stress: how the social environment gets under the skin. **Proc Natl Acad Sci**, [S. l.], v. 109, n. 2, p. 17180-17185, Oct. 2012. Disponível em: https://www.pnas.org/content/109/Supplement_2/17180.long. Acesso em: 29 mar. 2020.

MCEWEN, B. S. Protection and damage from acute and chronic stress: allostasis and allostatic overload and relevance to the pathophysiology of psychiatric disorders. **Annals of the New York Academy of Sciences**, [S. l.], v. 1032, p. 1-7, 2004. Disponível em: <https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1196/annals.1314.001?sid=nlm%3Apubmed>. Acesso em: 29 mar. 2020.

MCEWEN, B. S. Stress and hippocampal plasticity. **Annual Review of Neuroscience**, [S. l.], v. 22, p. 105-122, Mar.1999. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.neuro.22.1.105>. Acesso em: 29 mar. 2020.

MCEWEN, B. S. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. **Brain Research**, [S. l.], v. 886, n. 1-2, p. 172-189, 2000. Disponível em: <http://psych.colorado.edu/~munakata/csh/mcewen.pdf>. Acesso em: 29 mar. 2020.

MCEWEN, B. S.; GOULD, E. A.; SAKAI, R. R. The vulnerability of the hippocampus to protective and destructive effects of glucocorticoids in relation to stress. **Br J Psychiatry**, [S. l.], v. 15, p. 18-23, Feb.1992.

MEYER, J. S.; NOVAK, M. A. Minireview: Hair cortisol: a novel biomarker of hypothalamic-pituitary-adrenocortical activity. **Endocrinology**, [S. l.], v. 153, n. 9, p. 4120-

4127, Sep. 2012. Disponível em: <https://academic.oup.com/endo/article/153/9/4120/2423884>. Acesso em: 29 mar. 2020.

NOOSHINFAR, E.; AKBARZADEH-BAGHBAN, A.; MEISAMI, E. Effects of increasing durations of immobilization stress on plasma corticosterone level, learning and memory and hippocampal BDNF gene expression in rats. **Neuroscience Letters**, [S. l.], v. 500, n. 1, p. 63-66, Aug. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304394011008822?via%3Dihub>. Acesso em: 29 mar. 2020.

NOPPE, G. LC-MS/MS-based method for long-term steroid profiling in human scalp hair. **Clinical Endocrinology**, [S. l.], v. 83, n. 2, p.162-166, 27 Apl. 2015. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/cen.12781>. Acesso em: 27 mar. 2020.

PLUCHINO, N. *et al.* Steroid hormones and BDNF. **Neuroscience**, [S. l.], v. 239, p. 271-179, Jun. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306452213000626?via%3Dihub>. Acesso em: 29 mar. 2020.

PULOPULOS *et al.* Hair cortisol and cognitive performance in healthy older people. **Psychoneuroendocrinology**, [S. l.], v. 44, Jun. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306453014000857?via%3Dihub>. Acesso em: 29 mar. 2020.

RAMSAY, D. S.; WOODS, S. C.. Clarifying the Roles of Homeostasis and Allostasis in Physiological Regulation. **Psychological Review**, [S. l.], v. 121, n. 2, p. 225-247, 2014. Disponível em: <https://psycnet.apa.org/fulltext/2014-13258-004.html>. Acesso em: 29 mar. 2020.

ROSSETTI, M. O. *et al.* O inventário de sintomas de stress para adultos de lipp (ISSL) em servidores da polícia ederal de São Paulo. **Rev. bras.ter. cogn.**, Rio de Janeiro, v. 4, n. 2, p. 108-120, dez. 2008. Disponível em: http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1808-56872008000200008&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: 29 mar. 2020.

RUSSELL E. *et al.* Hair cortisol as a biological marker of chronic stress: current status, future directions and unanswered questions. **Psychoneuroendocrinology**, [S. l.], v. 37, n. 5, p. 589-601. May. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306453011002794?via%3Dihub>. Acesso em: 29 mar. 2020.

SANDI, C. Stress, Cognitive Impairment and Cell Adhesion Molecules. **Nature Reviews Neuroscience**, [S. l.], v. 5, n. 12, p. 917-30, Dec. 2004. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrn1555>. Acesso em: 29 mar. 2020.

SHANSKY, R. M.; MORRISON, J. H. Stress-induced dendritic remodeling in the medial prefrontal cortex: effects of circuit, hormones and rest. **Brain Research**, [S. l.], v.1293, p. 108-113, Oct. 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899309006556?via%3Dihub>. Acesso em: 29 mar. 2020.

SHARPLEY, C. F. *et al.* Stress-linked cortisol concentrations in hair: what we know and what we need to know. **Reviews In The Neurosciences**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 111-121, 1 Jan. 2012. Disponível em: <https://www.degruyter.com/view/journals/revneuro/23/1/article-p111.xml>. Acesso em: 29 mar. 2020.

SKOLUDA *et al.* Elevated hair cortisol concentrations in endurance athletes. **Psychoneuroendocrinology**, [S. l.], v. 37, n. 5, p. 611-617, Sep. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030645301100271X?via%3Dihub>. Acesso em: 29 mar. 2020.

STALDER, T. *et al.* Cortisol in hair, body mass index and stress-related measures. **Biological Psychology**, [S. l.], v. 90, n. 3, p. 218-223. Jul. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301051112000725?via%3Dihub>. Acesso em: 29 mar. 2020.

STALDER, T. *et al.* The assessment of cortisol in human hair: Associations with sociodemographic variables and potential confounders. **Stress**, Amsterdam, v. 15, n. 6, p. 578-588, Feb. 2012. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/10253890.2012.654479>. Acesso em: 28 mar. 2020.

STÁRKA, L. DUŠKOVÁ, M.; HILL, M. Dehydroepiandrosterone: a neuroactive steroid. **J Steroid Biochem Mol Biol.**, [S. l.], v. 145, p. 254-60, Jan. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960076014000685?via%3Dihub>. Acesso em: 29 mar. 2020.

STRAUSS, E.; SHERMAN, E. M. S.; SPREEN, O. **A compendium of neuropsychological tests: administration, norms, and commentary**. 3. ed. New York: Oxford Press, 2006.

TA *et al.* Aged-Related Vulnerabilities Along the Hippocampal Longitudinal Axis. **Human Brain Mapping**, [S. l.], v. 33, n. 10, p. 2415-2427, Sep. 2011. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/hbm.21364>. Acesso em: 29 mar. 2020.

WEBB *et al.* The Biological Action of Dehydroepiandrosterone Involves Multiple Receptores. **Drug Metabolism Reviews**, [S. l.], v. 38, n. 1-2, p. 89-116, 2006. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03602530600569877?journalCode=idmr20>. Acesso em: 29 mar. 2020.

WECHSLER, D. **Manual for the Wechsler Memory Scale**: revised. New York: The Psychological Corporation, 1987.

WENNIG, R. Potential problems with the interpretation of hair analysis results. **Forensic Science International**, [S. l.], v. 107, n. 1-3, p. 5-12, Jan. 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379073899001462?via%3Dihub>. Acesso em: 31 mar. 2020.

WILDE, N. J.; STRAUSS, E.; TULSKY, D. S. Memory Span on the Wechsler Scales. **Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology**, [S. l.], v. 26, n. 4, p. 539-549, Jun.

2004. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/13803390490496605>. Acesso em: 29 mar. 2020.

WOLKOWITZ, O. M. *et al.* Serum BDNF levels before treatment predict SSRI response in depression. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, [S. l.], v. 35, n. 7, p. 1623-1630, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S027858461100203X?via%3Dihub>. Acesso em: 29 mar. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Envelhecimento ativo**: uma política de saúde. Brasília, DF: OPAS, 2005. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/envelhecimento_ativo.pdf. Acesso em: 28 mar. 2020.

YAMADA, K.; NABESHIMA, T. Brain- Derived Neurotrophic Factor/TrkB Signaling in Memory Processes. **Journal of Pharmacological Sciences**, [S. l.], v. 91, n. 4, p. 267-270, 2003. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jphs/91/4/91_4_267/_article. Acesso em: 29 mar. 2020.

YOUNG, A. H.; GALLAGHER, P.; PORTER, R.J. Elevation of the cortisol dehydroepiandrosterone ratio in drug-free depressed patients. *Am J Psychiatry*, v. 159, n. 7, p. 1237-1239, Jul. 2002. Disponível em: https://ajp.psychiatryonline.org/doi/full/10.1176/appi.ajp.159.7.1237?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dpubmed&. Acesso em: 29 mar. 2020.

VITALIANO, P. P. *et al.* Does Caring for a Spouse with Dementia Promote Cognitive Decline? A Hypothesis and Proposed Mechanisms. **Journal Of The American Geriatrics Society**, [S. l.], v. 59, n. 5, p.900-908, May 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1532-5415.2011.03368.x>. Acesso em: 29 mar. 2020.

VITALIANO, P. P. *et al.* An Ironic Tragedy: Are Spouses of Persons with Dementia at Higher Risk for Dementia than Spouses of Persons without Dementia?. **Journal Of The American Geriatrics Society**, [S. l.], v. 58, n. 5, p. 976-978, maio 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1532-5415.2010.02843.x>. Acesso em: 29 mar. 2020.

APÊNDICE A– TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) - CUIDADORES

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA CUIDADORES

ANÁLISE DA RELAÇÃO ENTRE O DECLÍNIO COGNITIVO E O POLIMORFISMO rs 1360780 DA FKBP5 EM CUIDADORES DE PACIENTES COM DOENÇA DE ALZHEIMER

Antes de participar deste estudo, gostaríamos que você tomasse conhecimento do que ele envolve.

Justificativa e objetivos da pesquisa

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa que visa ampliar os conhecimentos a respeito dos efeitos do estresse crônico no organismo. O objetivo principal deste estudo é investigar os aspectos cognitivos (atenção, raciocínio, memória) de cuidadores adultos e idosos de pacientes com Alzheimer. Também pretendemos investigar as relações entre os níveis de dois tipos de substâncias que regulam as funções cognitivas: hormônios (cortisol e dehidroepiandrosterona) e neurotrofinas(fator neurotrófico derivado do cérebro). Este estudo você deverá ser cuidador de um familiar com diagnóstico de Doença de Alzheimer e ter mais de 18 anos de idade. Esta pesquisa é muito importante, pois pretende contribuir para a investigação de métodos capazes de prevenir ou amenizar eventuais prejuízos cognitivos em indivíduos expostos ao estresse crônico. Desta forma, esta pesquisa pretende contribuir para a manutenção da qualidade de vida dos cuidadores, já que a integridade cognitiva é extremamente importante para garantir a individualidade, a personalidade e a interação adequada do indivíduo com o seu meio, além de ser fundamental para um manejo adequado do paciente.

Rubrica do Pesquisador

Rubrica do Voluntário

Procedimentos a serem utilizados

Após a avaliação por um membro da equipe, e se você tiver as características necessárias para ingressar neste estudo avaliaremos sua compreensão, atenção, capacidade de raciocínio e memorização. Será recolhida uma amostra do seus fios de cabelo para analisarmos o cortisol. Além disso, um profissional da saúde irá coletar 5 ml de seu sangue para análise da neurotrofina.

Todas as avaliações descritas acima, serão realizadas em um encontro de duas horas.

Garantias asseguradas

Não deverá haver nenhum tipo de desconforto ou constrangimento durante o desenvolvimento da pesquisa. Caso venha ocorrer, fica assegurada a sua liberdade para abandonar a pesquisa em

qualquer etapa do seu desenvolvimento. Em qualquer etapa do trabalho e a qualquer participante fica garantido o direito de resposta a todas as dúvidas que possam surgir.

É assegurada a privacidade de todas informações que serão colhidas dos participantes. Os indivíduos serão mencionados na pesquisa de forma anônima.

Os participantes do projeto terão a oportunidade de conhecer sua condição com relação ao funcionamento cognitivo.

Declaração:

Eu, _____ fui informado dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada. Recebi informação a respeito dos testes aos quais serei submetido e esclareci as minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei pedir novas informações e modificar minhas decisões se assim desejar. O pesquisador _____ certificou-me de que todos os dados desta pesquisa serão sigilosos e de que poderei retirar meu consentimento de participação caso eu desejar.

 Rubrica do Pesquisador Rubrica do Voluntário

Caso tiver novas perguntas sobre o estudo, posso chamar a pesquisadora responsável, Dra. Elke Bromberg, no telefone (51) 98067436 ou a mestrandia Juliana de Rezende Lovera, no telefone (51) 99695-1800. Para qualquer pergunta sobre os meus direitos como participante deste estudo ou se penso que fui prejudicado pela minha participação, posso chamar o Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS, pelo telefone (51) 33203345.

Declaro que recebi cópia do presente Termo de Compromisso.

 Assinatura do participante Nome Data

 Assinatura do pesquisador Nome Data

Este formulário foi lido para _____ em ____/____/____ por _____ enquanto eu estava presente.

 Assinatura da testemunha Nome Data

APÊNDICE B– TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) - CONTROLE

1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA CONTROLES

ANÁLISE DA RELAÇÃO ENTRE O DECLÍNIO COGNITIVO E O POLIMORFISMO rs
1360780 DA FKBP5 EM CUIDADORES DE PACIENTES COM DOENÇA DE
ALZHEIMER

Antes de participar deste estudo, gostaríamos que você tomasse conhecimento do que ele envolve.

Justificativa e objetivos da pesquisa

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa que visa ampliar os conhecimentos a respeito dos efeitos do estresse crônico no organismo. O objetivo principal deste estudo é investigar os aspectos cognitivos (atenção, raciocínio, memória) de cuidadores adultos e idosos de pacientes com Alzheimer. Também pretendemos investigar as relações entre os níveis de dois tipos de substâncias que regulam as funções cognitivas: hormônios (cortisol e dehidroepiandrosterona) e neurotrofinas (fator neurotrófico derivado do cérebro). Para isso, precisamos comparar as características de cuidadores com voluntários saudáveis, que não estejam sob estado de estresse crônico. Convidamos você para fazer parte deste grupo. Para participar deste estudo você deverá ter mais de 18 anos de idade e submeter-se à uma avaliação neuropsicológica, na qual um membro da equipe lhe fará perguntas sobre sua saúde. Esta pesquisa é muito importante, pois pretende contribuir para a investigação de métodos capazes de prevenir ou amenizar eventuais prejuízos cognitivos em indivíduos expostos ao estresse crônico. Desta forma, esta pesquisa pretende contribuir para a manutenção da qualidade de vida dos cuidadores, já que a integridade cognitiva é extremamente importante para garantir a individualidade, a personalidade e a interação adequada do indivíduo com o seu meio, além de ser fundamental para um manejo adequado do paciente.

Rubrica do Pesquisador

Rubrica do Voluntário

Procedimentos a serem utilizados

Após a avaliação por um membro da equipe, e se você tiver as características necessárias para ingressar neste estudo avaliaremos sua compreensão, atenção, capacidade de raciocínio e memorização. Será recolhida uma amostra de fios de seu cabelo para analisarmos o cortisol. Além disso, um profissional da saúde irá coletar 5 ml de seu sangue para análise da neurotrofina.

Todas as avaliações descritas acima, serão realizadas em um encontro de duas horas.

Os riscos dos procedimentos aos quais você será submetido são mínimos e envolvem aspectos relacionados à coleta de sangue, algum desconforto que possa ser gerado pela entrevista, além de eventuais riscos oriundos da exposição de dados.

Garantias asseguradas

Não deverá haver nenhum tipo de desconforto ou constrangimento durante o desenvolvimento da pesquisa. Caso venha ocorrer, fica assegurada a sua liberdade para abandonar a pesquisa em qualquer etapa do seu desenvolvimento. Em qualquer etapa do trabalho e a qualquer participante fica garantido o direito de resposta a todas as dúvidas que possam surgir.

É assegurada a privacidade de todas informações que serão colhidas dos participantes. Os indivíduos serão mencionados na pesquisa de forma anônima.

Os participantes do projeto terão a oportunidade de conhecer sua condição com relação ao funcionamento cognitivo.

Declaração:

Eu, _____ fui informado dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada. Recebi informação a respeito dos testes aos quais serei submetido e esclareci as minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei pedir novas informações e modificar minhas decisões se assim desejar. A (o) pesquisadora (o) _____ certificou-me de que todos os dados desta pesquisa serão sigilosos e de que poderei retirar meu consentimento de participação caso eu desejar.

Rubrica do Pesquisador

Rubrica do Voluntário

Caso tiver novas perguntas sobre o estudo, posso chamar a pesquisadora responsável, Dra. Elke Bromberg, no telefone (51) 98067436 ou a mestranda Juliana de Rezende Lovera, no telefone (51) 99695-1800. Caso você tenha qualquer dúvida quanto aos seus direitos como participante de pesquisa, entre em contato com Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (CEP-PUCRS) em (51) 33203345, Av. Ipiranga, 6681/prédio 50 sala 703, CEP: 90619-900, Bairro Partenon, Porto Alegre, RS, e-mail: cep@pucrs.br, de segunda a sexta-feira das 8h às 12h e das 13h30 às 17h. O Comitê de Ética é um órgão independente constituído de profissionais das diferentes áreas do conhecimento e membros da comunidade. Sua responsabilidade é garantir a proteção dos direitos, a segurança e o bem-estar dos participantes por meio da revisão e da aprovação do estudo, entre outras ações

Declaro que recebi uma via do presente Termo de Compromisso.

Assinatura do participante	Nome	Data
----------------------------	------	------

Assinatura do pesquisador	Nome	Data
---------------------------	------	------

Este formulário foi lido para _____ em ____/____/____ por
 _____ enquanto eu estava presente.

Assinatura da testemunha	Nome	Data
--------------------------	------	------

APÊNDICE C – INSTRUMENTO DE PESQUISA AGRUPADO

QUESTIONÁRIO DE CARACTERIZAÇÃO

1) Data do início da avaliação:	
2) Nome do participante:	
5) Contato (telefone e e-mail):	
6) Data de nascimento:	7) Idade (em anos):
8) Sexo: () Masculino [0] () Feminino [1]	
9) Quantidade de anos que estudou (sem repetência):	
10) Lateralidade (com qual mão escreve): () Direita[0] () Esquerda [1] () Ambas [2]	
11) Estado civil:() Casado(a)/ Com companheira(o) [0] ()Separado(a)Divorciado(a) [1] () Viúvo (a)[2] () Solteiro(a) [3]	
12)Com quem mora: ()Sozinho [0] ()Com cônjuge/companheiro(a) [1] () Com filhos(as) e Netos (as) [2] () Com cônjuges/ filhos(as) e netos(as) [3] () Outros [4]	
14) Religião:	15) Praticante da religião: () Sim () Não() As vezes
16) Grau de importância da espiritualidade na vida cotidiana: () Muito () Razoável () Pouco () Nenhuma	
17) Profissão:	18) Aposentado: () Sim () Não

14) Critério de classificação econômica Brasil (2015)

A) Posse de itens - Quantos dos seguintes itens e/ou profissionais você possui em sua casa?

	0	1	2	3	4 ou +
Banheiros					
Empregados domésticos					
Automóveis					
Microcomputador					
Lava louça					
Geladeira					
Freezer					
Máquina de lavar roupa					
DVD					
Micro-ondas					
Motocicleta					
Secadora de roupa					

B) Grau de instrução do(a) chefe da família

OBS: considere como chefe da família a pessoa com a maior renda financeira, cujos proventos pagam a maior parte das despesas da família.

Nomenclatura antiga	Nomenclatura atual	Marcar um "x"
[a] Analfabeto / Primário incompleto	Analfabeto / Até 3ª série fundamental / Fundamental I Incompleto	[0]
[b] Primário completo / Ginásial incompleto	Até 4ª série fundamental I Completo/ Fundamental II Incompleto	[1]
[c] Ginásial completo / Colegial incompleto	Fundamental II completo / Médio Incompleto	[2]
[d] Colegial completo / Superior	Médio completo / Superior Incompleto	[4]

incompleto		
[e] Superior completo	Superior completo	[7]

A) SERVIÇOS PÚBLICOS – NA SUA RUA TEM:

	SIM	NÃO
ÁGUA ENCANADA	[4]	[0]
RUA PAVIMENTADA	[2]	[0]

TOTAL: ____/100

DADOS MÉDICOS E CONSUMO DE SUBSTÂNCIAS

15) Possui algumas destas doenças que tenham sido diagnosticadas por médico:

- A) Transtorno de humor (Depressão, Bipolar, por () Não [0] () Sim [1] Se sim, em que ano foi diagnosticada: exemplo)
- B) Transtorno de ansiedade (Fobia, Pânico, por () Não [0] () Sim [1] Se sim, em que ano foi diagnosticada: exemplo)
- C) Esquizofrenia () Não [0] () Sim [1] Se sim, em que ano foi diagnosticada:
- D) Acidente vascular cerebral (Isquemia, AVC) () Não [0] () Sim [1] Se sim, em que ano foi diagnosticada:
- E) Traumatismo cranioencefálico () Não [0] () Sim [1] Se sim, em que ano foi diagnosticada:
- F) Epilepsia () Não [0] () Sim [1] Se sim, em que ano foi diagnosticada:
- G) Esclerose múltipla () Não [0] () Sim [1] Se sim, em que ano foi diagnosticada:
- H) Parkinson () Não [0] () Sim [1] Se sim, em que ano foi diagnosticada:
- I) Alzheimer () Não [0] () Sim [1] Se sim, em que ano foi diagnosticada:
- J) Angina () Não [0] () Sim [1] Se sim, em que ano foi diagnosticada:
- K) Pressão alta () Não [0] () Sim [1] Se sim, em que ano foi diagnosticada:
- L) Infarto () Não [0] () Sim [1] Se sim, em que ano foi diagnosticada:
- M) Outra doença () Não [0] () Sim [1] Se sim, em que ano foi diagnosticada:

16) Faz uso de medicação atualmente? () Não [0] () Sim [1]

Se sim, qual?	Para que?	Desde quando usa?
A)		
B)		
C)		
D)		
E)		

17) No momento, você faz algum tipo de psicoterapia ou aconselhamento? Já fez em algum momento da vida?

18) Quais os profissionais de saúde que lhe acompanham?

19) No momento, você está com alguma infecção ou doença?

20) Você consome álcool? () Não [0] () Sim [1]

a. Se sim, administrar CAGE

A) Alguma vez você sentiu que deveria diminuir a quantidade de bebida ou parar de beber?	() Não [0]	() Sim [1]
B) As pessoas o(a) aborrecem porque criticam o seu modo de beber?	() Não [0]	() Sim [1]
C) Você se sente culpado pela maneira com que costuma beber?	() Não [0]	() Sim [1]
D) Você costuma beber pela manhã para diminuir o nervosismo ou a ressaca?	() Não [0]	() Sim [1]

TOTAL: ___/4

21) Você fuma cigarros? () Não [0] () Sim [1]

a. Se sim, administrar FAGERSTROM

1) Quanto tempo depois de acordar você fuma o seu primeiro cigarro? () Após 60 min [0] () 31-60 min [1] () 5-30 min [2] () Nos primeiros 5 min. [3]
2) Você tem dificuldades para evitar fumar em lugares onde é proibido, como por exemplo: igrejas, local de trabalho, cinemas, shoppings, etc.? () Não [0] () Sim [1]
3) Qual é o cigarro mais difícil de largar ou de não fumar? () Qualquer um [0] () O primeiro da manhã [1]
4) Quantos cigarros você fuma por dia? () 10 ou menos [0] () 11 a 20 [1] () 21 a 30 [2] () 31 ou + [3]
5) Você fuma mais frequentemente nas primeiras horas do dia do que durante o resto do dia? () Não [0] () Sim [1]
6) Você fuma mesmo estando doente ao ponto de ficar acamado a maior parte do dia? () Não [0] () Sim [1]

Total: ___/10

ESCALA DE DEPRESSÃO GERIÁTRICA- GDS 15 (Versão de Yesavage et al., 1983)

<p align="center">Por favor, responda às questões abaixo conforme <u>tem se sentindo na ÚLTIMA SEMANA</u>, incluindo hoje, marcando com um "X" as respostas SIM ou NÃO para cada uma das perguntas:</p>		
01. Você está basicamente satisfeito com sua vida?	SIM ()	NÃO ()
02. Você deixou muitos dos seus interesses e atividades?	SIM ()	NÃO ()
03. Você sente que sua vida está vazia?	SIM ()	NÃO ()
04. Você se aborrece com frequência?	SIM ()	NÃO ()
05. Você se sente de bom humor a maior parte do tempo?	SIM ()	NÃO ()
06. Você tem medo que algum mal vá lhe acontecer?	SIM ()	NÃO ()
07. Você se sente feliz na maior parte do tempo?	SIM ()	NÃO ()
08. Você sente que tua situação não tem saída?	SIM ()	NÃO ()
09. Você prefere ficar em casa do que sair e fazer coisas novas?	SIM ()	NÃO ()
10. Você se sente com mais problemas de memória do que a maioria das pessoas?	SIM ()	NÃO ()
11. Você acha maravilhoso estar vivo?	SIM ()	NÃO ()
12. Você se sente um inútil nas atuais circunstâncias?	SIM ()	NÃO ()
13. Você se sente cheio de energia?	SIM ()	NÃO ()
14. Você acha que sua situação é sem esperanças?	SIM ()	NÃO ()
15. Você sente que a maioria das pessoas está melhor que você?	SIM ()	NÃO ()

ESCALA DE ESTRESSE PERCEBIDO

As questões nesta escala perguntam sobre seus sentimentos e pensamentos durante o último mês. Em cada caso, será pedido para você indicar o quão frequentemente você tem se sentido de uma determinada maneira. Embora algumas das perguntas sejam similares, há diferenças entre elas e você deve analisar cada uma como uma pergunta separada. A melhor abordagem é responder a cada pergunta razoavelmente rápido. Isto é, não tente contar o número de vezes que você se sentiu de uma maneira particular, mas indique a alternativa que lhe pareça como uma estimativa razoável.

Para cada pergunta, escolha as seguintes alternativas:

1= nunca 2= quase nunca 3= às vezes 4= quase sempre 5= sempre

Neste último mês, com que frequência...		Nunca	Quase nunca	Às vezes	Quase sempre	Sempre
1	Você tem ficado triste por causa de algo que aconteceu inesperadamente?	1	2	3	4	5
2	Você tem se sentido incapaz de controlar as coisas importantes em sua vida?	1	2	3	4	5
3	Você tem se sentido nervoso e “estressado”?	1	2	3	4	5
4	Você tem tratado com sucesso dos problemas difíceis da vida?	1	2	3	4	5
5	Você tem sentido que está lidando bem as mudanças importantes que estão ocorrendo em sua vida?	1	2	3	4	5
6	Você tem se sentido confiante na sua habilidade de resolver problemas pessoais?	1	2	3	4	5
7	Você tem sentido que as coisas estão acontecendo de acordo com a sua vontade?	1	2	3	4	5
8	Você tem achado que não conseguiria lidar com todas as coisas que você tem que fazer?	1	2	3	4	5
9	Você tem conseguido controlar as irritações em sua vida?	1	2	3	4	5

10	Você tem sentido que as coisas estão sob o seu controle?	1	2	3	4	5
11	Você tem ficado irritado porque as coisas que acontecem estão fora do seu controle?	1	2	3	4	5
12	Você tem se encontrado pensando sobre as coisas que deve fazer?	1	2	3	4	5
13	Você tem conseguido controlar a maneira como gasta seu tempo?	1	2	3	4	5
14	Você tem sentido que as dificuldades se acumulam a ponto de você acreditar que não pode superá-las?	1	2	3	4	5

Fluência Verbal Semântica categoria animal

(material elaborado para fins de pesquisa)

Instruções: "Gostaria que você falasse o mais rápido possível o nome de diferentes animais. Pode ser qualquer animal, conhecido e desconhecido. Para isso, você terá um tempo curto, mas não precisa se preocupar que eu irei controlá-lo."

1.	11.	21.
2.	12.	22.
3.	13.	23.
4.	14.	24.
5.	15.	25.
6.	16.	26.
7.	17.	27.
8.	18.	28.
9.	19.	29.
10.	20.	30.

Controle do tempo: 1min

Fluência Verbal Fonêmica

(material elaborado para fins de pesquisa)

“Me diz o maior número de palavras que comecem com a letra F, não vale nomes próprios (nome de pessoas, cidades, ruas).

1.	11.	21.
2.	12.	22.
3.	13.	23.
4.	14.	24.
5.	15.	25.
6.	16.	26.
7.	17.	27.
8.	18.	28.
9.	19.	29.
10.	20.	30.

“Me diz o maior número de palavras que comecem com a letra A, não vale nomes próprios (nome de pessoas, cidades, ruas).

1.	11.	21.
2.	12.	22.
3.	13.	23.
4.	14.	24.
5.	15.	25.
6.	16.	26.
7.	17.	27.
8.	18.	28.
9.	19.	29.
10.	20.	30.

“Me diz o maior número de palavras que comecem com a letra S, não vale nomes próprios (nome de pessoas, cidades, ruas).

1.	11.	21.
2.	12.	22.
3.	13.	23.
4.	14.	24.
5.	15.	25.
6.	16.	26.
7.	17.	27.
8.	18.	28.
9.	19.	29.
10.	20.	30.

Controle do tempo: 1min

INVENTÁRIO DE ANSIEDADE GERIÁTRICA

Por favor, responda aos itens de acordo como o(a) senhor(a) tem se sentido na última semana. Marque o espaço CONCORDO se você concorda em maior grau que esse item descreve você; marque o espaço DISCORDO se você discorda em maior grau que esse item descreve você.

		CONCORDO	DISCORDO
		.	..
1	Eu me preocupo a maior parte do tempo.		
2	Eu acho difícil tomar uma decisão.
3	Sinto-me agitado(a) com frequência.		
4	Eu acho difícil relaxar.
5	Eu frequentemente não consigo aproveitar as coisas por causa de minhas preocupações.		
6	Pequenas coisas me aborrecem muito.
7	Eu frequentemente sinto como se tivesse um “frio na barriga”.		
8	Eu penso que sou preocupado (a).	.	..
9	Não posso deixar de preocupar-me mesmo com coisas triviais.		
10	Frequentemente me sinto nervoso (a).
11	Meus próprios pensamentos com frequência me deixam ansioso (a).	.	..
12	Tenho dor de estômago por causa das minhas preocupações		
13	Eu me vejo como uma pessoa nervosa.	.	..
14	Eu sempre espero que o pior irá acontecer.		
15	Frequentemente me sinto tremendo por dentro.	.	..
16	Eu acho que minhas preocupações interferem na minha vida.		
17	Minhas preocupações frequentemente me oprimem.		

18	Às vezes eu sinto como se tivesse um grande nó no estômago.	.	..
19	Eu perco coisas por me preocupar demais.		
.. 20 ..	Frequentemente me sinto chateado (a).		

QUADRO 1a

a) Marque com um FI os sintomas que tem experimentado nas últimas 24 horas.

- () 1. MÃOS E PÉS FRIOS
- () 2. BOCA SECA
- () 3. NÓ NO ESTÔMAGO
- () 4. AUMENTO DE SUDORESE
(Muito suor, suadeira)
- () 5. TENSÃO MUSCULAR
- () 6. APERTO DA MANDÍBULA/
RANGER OS DENTES
- () 7. DIARRÉIA PASSAGEIRA
- () 8. INSÔNIA
(Dificuldade para dormir)
- () 9. TAQUICARDIA
(Batedeira no peito)
- () 10. HIPERVENTILAÇÃO
(Respirar ofegante, rápido)
- () 11. HIPERTENSÃO ARTERIAL
SÚBITA E PASSAGEIRA
(Pressão alta)
- () 12. MUDANÇA DE APETITE

QUADRO 1b

b) Marque com um PI os sintomas que tem experimentado nas últimas 24 horas.

- () 13. AUMENTO SÚBITO DE
MOTIVAÇÃO
- () 14. ENTUSIASMO SÚBITO
- () 15. VONTADE SÚBITA DE
INICIAR NOVOS
PROJETOS

QUADRO 2a

a) Marque com um F2 os sintomas que tem experimentado na última semana.

- () 1. PROBLEMAS COM A MEMÓRIA
- () 2. MAL-ESTAR GENERALIZADO, SEM CAUSA ESPECÍFICA
- () 3. FORMIGAMENTO DAS EXTREMIDADES
- () 4. SENSAÇÃO DE DESGASTE FÍSICO CONSTANTE
- () 5. MUDANÇA DE APETITE
- () 6. APARECIMENTO DE PROBLEMAS DERMATOLÓGICOS (Problemas de pele)
- () 7. HIPERTENSÃO ARTERIAL (Pressão alta)
- () 8. CANSAÇO CONSTANTE
- () 9. APARECIMENTO DE ÚLCERA
- () 10. TONTURA/SENSAÇÃO DE ESTAR FLUTUANDO

QUADRO 2b

b) Marque com um F2 os sintomas que tem experimentado na última semana.

- () 11. SENSIBILIDADE EMOTIVA EXCESSIVA (Estar muito nervoso)
- () 12. DÚVIDA QUANTO A SI PRÓPRIO
- () 13. PENSAR CONSTANTEMENTE EM UM SÓ ASSUNTO
- () 14. IRRITABILIDADE EXCESSIVA
- () 15. DIMINUIÇÃO DA LIBIDO (Sem vontade de sexo)

QUADRO 3a

a) Marque com um F3 os sintomas que tem experimentado no último mês.

- 1. DIARRÉIA FREQUENTE
- 2. DIFICULDADES SEXUAIS
- 3. INSÔNIA
(Dificuldade para dormir)
- 4. NÁUSEA
- 5. TIQUES
- 6. HIPERTENSÃO ARTERIAL CONTINUADA
(Pressão alta)
- 7. PROBLEMAS DERMATOLÓGICOS PROLONGADOS
(Problemas de pele)
- 8. MUDANÇA EXTREMA DE APETITE
- 9. EXCESSO DE GASES
- 10. TONTURA FREQUENTE
- 11. ÚLCERA
- 12. ENFARTE

QUADRO 3b

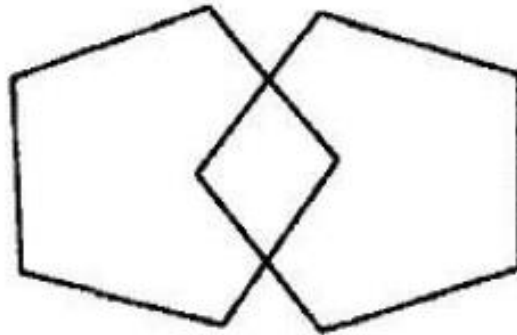
b) Marque com um P3 os sintomas que tem experimentado no último mês.

- 13. IMPOSSIBILIDADE DE TRABALHAR
- 14. PESADELÓS
- 15. SENSAÇÃO DE INCOMPETÊNCIA EM TODAS AS ÁREAS
- 16. VONTADE DE FUGIR DE TUDO
- 17. APATIA, DEPRESSÃO OU RAIVA PROLONGADA
- 18. CANSAÇO EXCESSIVO
- 19. PENSAR/FALAR CONSTANTEMENTE EM UM SÓ ASSUNTO
- 20. IRRITABILIDADE SEM CAUSA APARENTE
- 21. ANGÚSTIA/ANSIEDADE DIÁRIA
- 22. HIPERSENSIBILIDADE EMOTIVA
- 23. PERDA DO SENSO DE HUMOR

MINI-EXAME DO ESTADO MENTAL (MEEM)		
Orientação Temporal (05 pontos) <i>Dê um ponto para cada item</i>	Que ano nós estamos? Ano	
	Que mês nós estamos? Mês	
	Que dia do mês é hoje? Dia do mês	
	Que dia da semana é hoje? Dia da semana	
	Que hora é agora (aproximadamente) Semestre/Hora aproximada	
Orientação Espacial (05 pontos) <i>Dê um ponto para cada item</i>	Que estado é este que residimos? Estado	
	Que cidade que estamos? Cidade	
	Qual bairro ou rua próxima?	
	Local geral: que local é este aqui (apontando ao redor num sentido mais amplo: hospital, casa de repouso, própria casa)	
	Andar ou local específico: em que local nós estamos (consultório, dormitório, sala, apontando para o chão)	
Registro (3 pontos)	Repetir: GELO, LEÃO e PLANTA	
Atenção e Cálculo (5 pontos) Dê 1 ponto para cada acerto. Considere a tarefa com melhor aproveitamento.	Subtrair $100 - 7 = 93 - 7 = 86 - 7 = 79 - 7 = 72 - 7 = 65$	
	Soletrar inversamente a palavra MUNDO=ODNUM	
Memória de Evocação (3 pontos)	Quais os três objetos perguntados anteriormente?	
Nomear dois objetos (2 pontos)	Relógio e caneta	
Repetir (1 ponto)	"NEM AQUI, NEM ALI, NEM LÁ"	
Comando de estágios (3 pontos) Dê 1 ponto para cada ação correta)	"Apanhe esta folha de papel com a mão direita (1), dobre-a ao meio (1) e coloque-a no chão (1)"	
Escrever uma frase completa (1 ponto)	"Escreva alguma frase que tenha começo, meio e fim"	
Ler e executar (1 ponto)	FECHE SEUS OLHOS	
Copiar diagrama (1 ponto)	Copiar dois pentágonos com interseção	
PONTUAÇÃO FINAL (score = 0 a 30 pontos)		

Referências:

- Bertolucci, P. H., Brucki, S., Campacci, S. R., & Juliano, Y. (1994). O mini-exame do estado mental em uma população geral: impacto da escolaridade. *Arquivos de Neuropsiquiatria*, 52(1), 1-7. doi: 10.1590/S0004-282X1994000100001
- Folstein, M. F., Folstein, S. E., & McHugh, P. R. (1975). "Mini-mental state": a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of Psychiatric Research*, 12(3), 189-198.



MEMÓRIA LÓGICA I e II

(material reproduzido para fins de pesquisa)

Instruções: "Eu quero que você preste atenção, porque vou lhe contar uma história e depois você vai repeti-la o mais parecido possível. Use as mesmas palavras que eu."

MEMÓRIA LÓGICA I	Pontos
HISTÓRIA A	
Ana/ Xavier/ do Sul/ de São Paulo/ empregada/ como cozinheira/	___
no restaurante/ da universidade/ deu queixa/ na delegacia/ da cidade/	___
Ela foi assaltada/ na noite anterior/ na rua principal/	___
e roubada/ em 600 reais/. Ela tinha quatro/	___
crianças pequenas/ o aluguel estava vencido/ e eles não haviam comido/	___
por dois dias/. Os policiais/ emocionados pela história da mulher/	___
juntaram algum dinheiro/ para ela/.	___
	Máximo= 25
	Total da história A

HISTÓRIA B	
Roberto/ dos Santos/ estava dirigindo/ um caminhão/ de dez toneladas/	___
Descendo a estrada/ à noite/ perto de Foz/ de Iguazu/	___
Carregando ovos/ para Curitiba/ quando o seu eixo/ quebrou/.	___
O caminhão derrapou/ saindo da estrada/ caindo em uma vala/.	___
Ele foi atirado/ contra o painel/ fortemente sacudido/.	___
Não havia tráfego/ e ele duvidou que ajuda aparecesse/.	___
Logo a seguir seu rádio de comunicação/ chamou/ ele rapidamente respondeu/	___
"Aqui é gafanhoto"/.	___
	Máximo= 25
	Total da história B

	Máximo= 50
	Total geral

SPAN DE NÚMEROS (SN)

(material elaborado para fins de pesquisa)

Instruções: "Eu vou dizer alguns números. Ouça cuidadosamente e quando eu terminar, diga-os exatamente como eu."

ORDEM DIRETA

Escore

2,1 ou 0

5-8-2 6-9-4	
6-4-3-9 7-2-8-6	
4-2-7-3-1 7-5-8-3-6	
6-1-9-4-7-3 3-9-2-4-8-7	
5-9-1-7-4-2-8 4-1-7-9-3-8-6	
5-8-1-9-2-6-4-7 3-8-2-9-5-1-7-4	
2-7-5-8-6-2-5-8-4 7-1-3-9-4-2-5-6-8	
Total (máx.=14)	

Instruções: "Agora eu vou dizer mais alguns números, mas desta vez, quando eu parar, quero que você os diga de trás para diante. Por ex.: se eu digo 7-1-9, o que você diria?" (Se o sujeito responder corretamente diga certo vamos começar, caso erre diga da forma esperada)

ORDEM INVERSA

Escore

2,1 ou 0

2-4	
5-8	
6-2-9	
4-1-5	
3-2-7-9	
4-9-6-8	
1-5-2-8-6	
6-1-8-4-3	
5-3-9-4-1-8	
7-2-4-8-5-6	
8-1-2-9-3-6-5	
4-7-3-9-1-2-8	
9-4-3-7-6-2-5-8	
7-2-8-1-9-6-5-3	
Total (máx.=14)	

Total= OD ____+OI ____ = ____ (TOTAL BRUTO)

Leitura

	a	b	c	d	e
1	ROSA	AZUL	VERDE	ROSA	AZUL
2	VERDE	VERDE	ROSA	AZUL	VERDE
3	AZUL	ROSA	AZUL	VERDE	ROSA
4	VERDE	AZUL	ROSA	ROSA	AZUL
5	ROSA	ROSA	VERDE	AZUL	VERDE
6	AZUL	VERDE	AZUL	VERDE	ROSA
7	ROSA	AZUL	VERDE	AZUL	VERDE
8	AZUL	VERDE	ROSA	VERDE	ROSA
9	VERDE	ROSA	AZUL	ROSA	AZUL
10	AZUL	VERDE	VERDE	AZUL	VERDE
11	VERDE	ROSA	AZUL	ROSA	ROSA
12	ROSA	AZUL	ROSA	VERDE	AZUL
13	VERDE	ROSA	AZUL	ROSA	VERDE
14	AZUL	AZUL	ROSA	VERDE	ROSA
15	ROSA	VERDE	VERDE	AZUL	AZUL
16	AZUL	AZUL	ROSA	VERDE	ROSA
17	ROSA	VERDE	AZUL	ROSA	VERDE
18	VERDE	ROSA	VERDE	AZUL	AZUL
19	ROSA	AZUL	ROSA	VERDE	ROSA
20	VERDE	ROSA	VERDE	AZUL	VERDE

Stroop

1. Leitura

	A	B	C	D	E
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					

Nomeação

	a	b	c	d	e
1	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX
2	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX
3	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX
4	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX
5	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX
6	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX
7	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX
8	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX
9	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX
10	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX
11	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX
12	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX
13	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX
14	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX
15	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX
16	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX
17	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX
18	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX
19	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX
20	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX

2. Nomeação

	A	B	C	D	E
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					

Inibição

	a	b	c	d	e
1	ROSA	AZUL	VERDE	ROSA	AZUL
2	VERDE	VERDE	ROSA	AZUL	VERDE
3	AZUL	ROSA	AZUL	VERDE	ROSA
4	VERDE	AZUL	ROSA	ROSA	AZUL
5	ROSA	ROSA	VERDE	AZUL	VERDE
6	AZUL	VERDE	AZUL	VERDE	ROSA
7	ROSA	AZUL	VERDE	AZUL	VERDE
8	AZUL	VERDE	ROSA	VERDE	ROSA
9	VERDE	ROSA	AZUL	ROSA	AZUL
10	AZUL	VERDE	VERDE	AZUL	VERDE
11	VERDE	ROSA	AZUL	ROSA	ROSA
12	ROSA	AZUL	ROSA	VERDE	AZUL
13	VERDE	ROSA	AZUL	ROSA	VERDE
14	AZUL	AZUL	ROSA	VERDE	ROSA
15	ROSA	VERDE	VERDE	AZUL	AZUL
16	AZUL	AZUL	ROSA	VERDE	ROSA
17	ROSA	VERDE	AZUL	ROSA	VERDE
18	VERDE	ROSA	VERDE	AZUL	AZUL
19	ROSA	AZUL	ROSA	VERDE	ROSA
20	VERDE	ROSA	VERDE	AZUL	VERDE

3. Inibição

	A	B	C	D	E
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					

Trail Making Test (TMT) Parts A & B

Instructions:

Both parts of the Trail Making Test consist of 25 circles distributed over a sheet of paper. In Part A, the circles are numbered 1 – 25, and the patient should draw lines to connect the numbers in ascending order. In Part B, the circles include both numbers (1 – 13) and letters (A – L); as in Part A, the patient draws lines to connect the circles in an ascending pattern, but with the added task of alternating between the numbers and letters (i.e., 1-A-2-B-3-C, etc.). The patient should be instructed to connect the circles as quickly as possible, without lifting the pen or pencil from the paper. Time the patient as he or she connects the "trail." If the patient makes an error, point it out immediately and allow the patient to correct it. Errors affect the patient's score only in that the correction of errors is included in the completion time for the task. It is unnecessary to continue the test if the patient has not completed both parts after five minutes have elapsed.

- Step 1: Give the patient a copy of the Trail Making Test Part A worksheet and a pen or pencil.
- Step 2: Demonstrate the test to the patient using the sample sheet (Trail Making Part A – *SAMPLE*).
- Step 3: Time the patient as he or she follows the "trail" made by the numbers on the test.
- Step 4: Record the time.
- Step 5: Repeat the procedure for Trail Making Test Part B.

Scoring:

Results for both TMT A and B are reported as the number of seconds required to complete the task; therefore, higher scores reveal greater impairment.

	Average	Deficient	Rule of Thumb
Trail A	29 seconds	> 78 seconds	Most in 90 seconds
Trail B	75 seconds	> 273 seconds	Most in 3 minutes

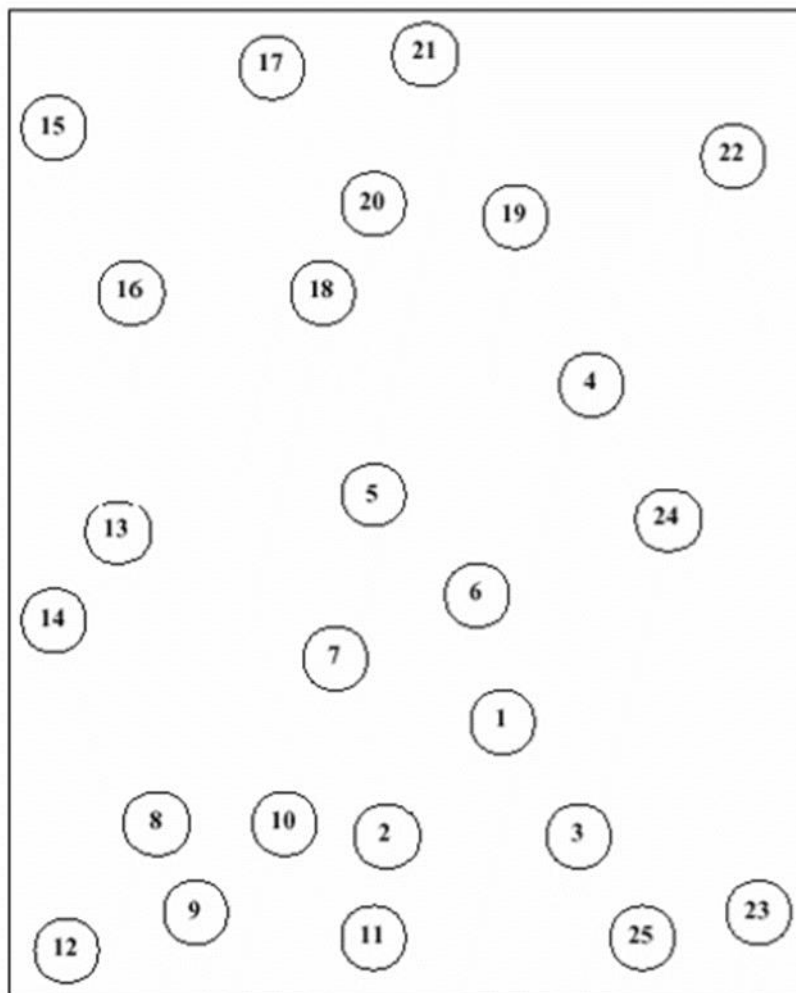
Sources:

- Corrigan JD, Hinkeldey MS. Relationships between parts A and B of the Trail Making Test. *J Clin Psychol.* 1987;43(4):402–409.
- Gaudino EA, Geisler MW, Squires NK. Construct validity in the Trail Making Test: what makes Part B harder? *J Clin Exp Neuropsychol.* 1995;17(4):529-535.
- Lezak MD, Howieson DB, Loring DW. *Neuropsychological Assessment.* 4th ed. New York: Oxford University Press; 2004.
- Reitan RM. Validity of the Trail Making test as an indicator of organic brain damage. *Percept Mot Skills.* 1958;8:271-276.

Trail Making Test Part A

Patient's Name: _____

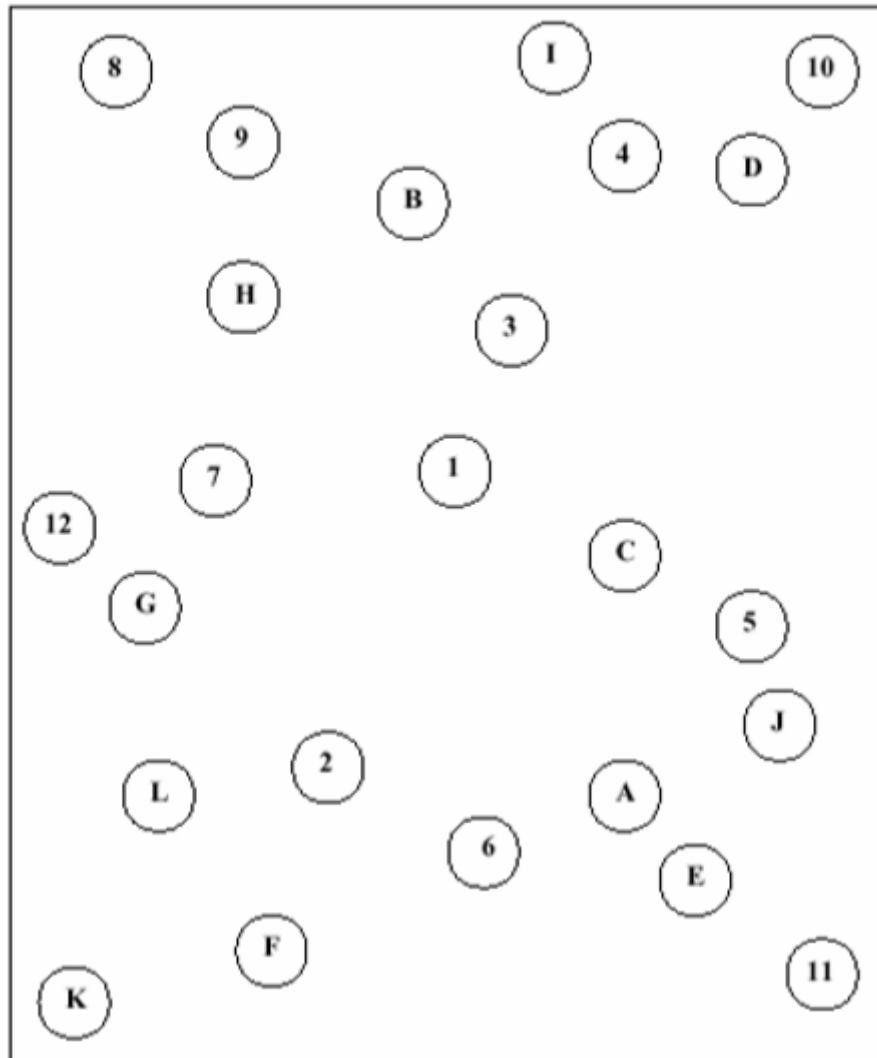
Date: _____



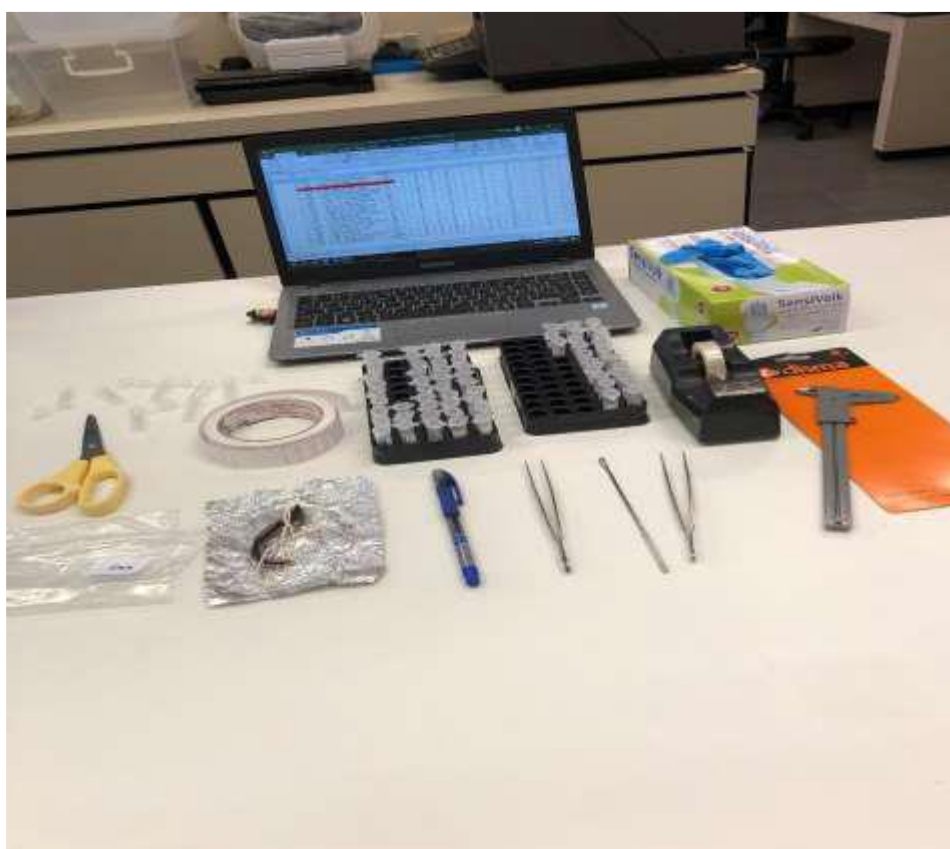
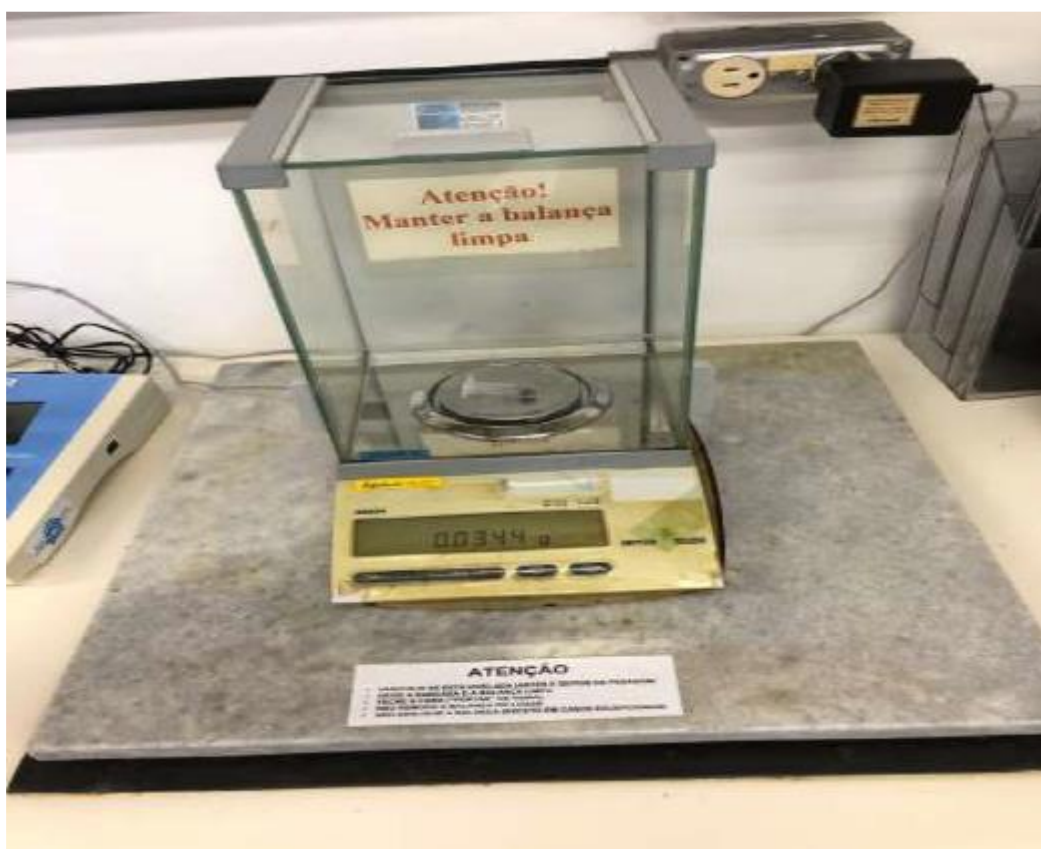
Trail Making Test Part B

Patient's Name: _____

Date: _____



PROCESSO DE PREPARO PARA ANÁLISE CORTISOL E DHEA-S CAPILAR



ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE DA RELAÇÃO ENTRE O DECLÍNIO COGNITIVO E O POLIMORFISMO rs 1360780 DA FKBP5 EM CUIDADORES DE PACIENTES COM DOENÇA DE ALZHEIMER

Pesquisador: Elke Bromberg

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 01681118.8.0000.5336

Instituição Proponente: UNIAO BRASILEIRA DE EDUCACAO E ASSISTENCIA

Patrocinador Principal: CONS NAC DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLOGICO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.064.013

Apresentação do Projeto:

O crescimento da população idosa é um fenômeno mundial e vem acompanhado do aumentando da incidência e prevalência de demências, principalmente a Doença de Alzheimer (DA). À medida que a DA progride cresce a demanda por cuidados especiais, tarefa desempenhada em grande parte por cuidadores familiares. Os cuidadores familiares (CF) de idosos demenciados, os quais muitas vezes são os cônjuges dos pacientes, estão sujeitos a uma condição de estresse crônico. A hiperatividade de eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) resultante desta condição parece ser a responsável pelo declínio cognitivo e maior o risco de demência observados em CF. A identificação de fatores de risco, capazes de exacerbar os efeitos negativos do estresse, é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de prevenção e manejo da população de CF. O polimorfismo de nucleotídeo único rs1360780 (C/T) da proteína de ligação ao FK506 (FKBP5) predispõe à hiperatividade do eixo HPA, a transtornos psiquiátricos associados ao estresse, como ansiedade, depressão e transtorno do estresse pós-traumático e ao declínio cognitivo no envelhecimento. Temos por objetivo analisar a relação entre o polimorfismo rs1360780 da FKBP5 e o desempenho cognitivo,

marcadores de carga alostática (cortisol e DHEA-S capilar, IL-6 e TNF plasmáticos) e níveis de BDNF em cuidadores familiares idosos de pacientes com doença de Alzheimer. Pretendemos com esse estudo, contribuir para a identificação de fatores de risco para o declínio cognitivo em

Endereço: Av. Ipiranga, 6681, prédio 50, sala 703

Bairro: Partenon **CEP:** 90.619-900

UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3320-3345 **Fax:** (51)3320-3345 **E-mail:** cep@puccs.br

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



Continuação do Parecer: 3.064.013

cuidadores de pacientes com DA e fornecer subsídios para o estabelecimento de políticas adequadas para o manejo desta população.

Metodologia Proposta:

POPULAÇÃO E AMOSTRA: A pesquisa será constituída de cuidadores familiares de pacientes com a DA (grupo experimental), recrutados na Associação Brasileira de Alzheimer (ABRAZ sub-regional Porto Alegre e sub-regional Santa Maria) e indivíduos que não cuidam de pacientes com essa doença (grupo controle), recrutados a partir da comunidade e de grupos de convivência terceira idade. Os grupos experimentais deverão se pareados quanto à idade, gênero e escolaridade. **INSTRUMENTOS PARA COLETA DE DADOS:** Todas as avaliações serão realizadas em um encontro (2 horas), durante o qual os voluntários serão submetidos: a um questionário contendo dados a respeito de identificação, saúde, escolaridade, atividades e hábitos de vida, perfil socioeconômico; aos instrumentos de rastreio de demências (MEEM) (FOLSTEIN, FOLSTEIN, e McHUGH, 1975), depressão (BDI) (CUNHA, 2001), ansiedade (BAI) (CUNHA, 2001) e níveis de estresse (ISS) (LIPP & GUEVARA, 1994); aos questionários de avaliação de sobrecarga do cuidador (ZARIT) (MONTEIRO, MAZIN & DANTAS, 2015), e de funcionalidade familiar (APGAR do cuidador) (SANTOS & PAVARINI, 2012); às tarefas para avaliação de memória de trabalho [Span de números direto e reverso (WECHSLER, 2004)],

velocidade de processamento e capacidade visuoespacial [Teste de Trilhas, partes A e B (WECHSLER, 1987)]; função executiva [Teste de Stroop (STRAUSS et al., 2006)]; memória declarativa imediata e tardia [Memória Lógica I e II (WESCHSLER, 1987)]; a coleta de fios de cabelo para análise de cortisol e DHEA-S; a coleta de sangue para análise de BDNF, IL-6 e TNF. **GENOTIPAGEM E PARÂMENTROS BIOQUÍMICOS**
Análise do Cortisol e DHEA-S capilar: A análise dos níveis de cortisol e DHEA-S capilar será realizada por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial (UHPLC-MS/MS) (CHENG et al., 2013; MWANZA et al., 2016). Fios de cabelo do vertex posterior serão cortados o mais próximo possível do escalpo com tesoura. O primeiro centímetro (mais próximo do escalpo) de cabelo será analisado para verificar os níveis de cortisol. O acondicionamento e preparo das amostras será feito de acordo com estudos prévios (CHENG et al., 2013; WESTER e ROSSUM, 2015). A determinação dos níveis de cortisol e DHEA-S será realizada no Laboratório de Análises Toxicológicas/Escola de Ciências da Saúde/PUCRS e solução de cortisol e DHEA-S (Sigma Aldrich, St. Louis, MO) será utilizada como padrão. **COLETA DE SANGUE:** O sangue (4ml) para genotipagem e análise dos níveis de BDNF, IL-6 e TNF será coletado por venopunção por um profissional habilitado. **GENOTIPAGEM:** Uma alíquota do

Endereço: Av. Ipiranga, 6681, prédio 50, sala 703

Bairro: Partenon **CEP:** 90.619-900

UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3320-3345 **Fax:** (51)3320-3345 **E-mail:** oep@puccs.br

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



Continuação do Parecer: 3.064.013

sangue total coletado será utilizada para extração de DNA. O polimorfismo de nucleotídeo único, rs 1360780, será genotipado por meio de sonda TaqMan para discriminação alélica (ThermoFisher, C__8853038_10). As condições de ciclagem térmica do PCR e o protocolo de genotipagem serão adaptadas de estudos prévios (FUJII et al., 2014). ANÁLISE DE BDNF NO SORO E IL-6 E TNF NO PLASMA POR ELISA: Aliquotas do sangue coletado serão processadas conforme procedimentos padrão para a obtenção de soro e plasma (Tuck et al., 2009), e armazenadas a -80oC até análise. As variáveis serão medidas através de kits comerciais para ELISA (ChemiKine BDNF ELISA, Merck; IL-6 Quantikine ELISA R&D Systems; e TNF Quantikine ELISA R&D Systems, respectivamente) seguindo as instruções do fabricante. As análises serão realizadas em duplicata no Laboratório Biologia e Desenvolvimento do Sistema Nervoso/Escola de Ciências/PUCRS. CÁLCULO AMOSTRAL: Determinado considerando: a) a frequência do alelo T do polimorfismo de nucleotídeo único, rs 1360780, do gene FKBP5 (21%, HapMap Project, <http://hapmap.ncbi>).

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Analisar a relação entre o polimorfismo de nucleotídeo único rs 1360780 (C/T) da proteína de ligação ao FK506 (FKBP5) e o declínio cognitivo em cuidadores familiares idosos de pacientes com doença de Alzheimer.

Objetivo Secundário:

- Analisar e comparar o desempenho cognitivo de indivíduos idosos cuidadores e não cuidadores com (CT/TT) ou sem (CC) o alelo T. -Controlar a frequência do alelo 4 da Apolipoproteína E (APOE), o nível de marcadores de carga alostática (razão cortisol/ dehidroepiandrosterona sulfato (DHEA-S) capilar, interleucina 6 (IL6) e fatores de necrose tumoral alfa (TNF) plasmáticos) e de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no soro de indivíduos idosos cuidadores e não cuidadores com (CT/TT) ou sem (CC) o alelo T. - Verificar a associação entre desempenho cognitivo, estresse crônico e a presença ou ausência do alelo de risco (T). - Analisar a associação entre os marcadores de carga alostática, estresse crônico e a presença ou ausência do alelo de risco (T). - Investigar a relação entre os marcadores de carga alostática e o desempenho cognitivo de idosos cuidadores e não cuidadores com (CT/TT) ou sem (CC) o alelo T.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos são mínimos e envolvem coleta de sangue e desconforto pela entrevista, além dos riscos pela exposição de dados.

Sem benefícios diretos para os participantes.

Endereço: Av. Ipiranga, 6681, prédio 50, sala 703
Bairro: Partenon **CEP:** 90.619-900
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3320-3345 **Fax:** (51)3320-3345 **E-mail:** cep@pucrs.br

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



Continuação do Parecer: 3.064.013

Outros	AOCEPPUCRS.pdf	21:11:17	REZENDE LOVERA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DECLARACAOUOSOMATERIALCOLETA DO.pdf	19/09/2018 21:09:21	JULIANA DE REZENDE LOVERA	Aceito
Outros	Carta_deAprovacao_da_Comissao_Cientifica.pdf	04/09/2018 11:24:39	JULIANA DE REZENDE LOVERA	Aceito
Outros	DOCUMENTO_ABRAZSM.pdf	04/09/2018 11:16:43	JULIANA DE REZENDE LOVERA	Aceito
Outros	DOCUMENTO_ABRAZPOA.pdf	04/09/2018 11:16:12	JULIANA DE REZENDE LOVERA	Aceito
Outros	CLPESQUISADORES.docx	30/08/2018 12:14:08	JULIANA DE REZENDE LOVERA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 07 de Dezembro de 2018

Assinado por:

Paulo Vinicius Sporleder de Souza
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Ipiranga, 6681, prédio 50, sala 703

Bairro: Partenon **CEP:** 90.619-900

UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3320-3345 **Fax:** (51)3320-3345 **E-mail:** cep@puccrs.br

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS**



Continuação do Parecer: 3.064.013

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de interesse científico.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos estão adequados e pendências foram atendidas.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovação.

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o CEP-PUCRS, de acordo com suas atribuições definidas nas Resoluções CNS n° 466 de 2012, n° 510 de 2016 e Norma Operacional n° 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1190479.pdf	12/11/2018 11:50:03		Aceito
Outros	Carta_Resposta_Parecer.pdf	12/11/2018 11:47:16	Elke Bromberg	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEControles_Final.pdf	12/11/2018 11:11:47	Elke Bromberg	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLECuidadores_Final.pdf	12/11/2018 11:11:20	Elke Bromberg	Aceito
Outros	Carta_Encaminhamento.pdf	23/10/2018 18:16:39	Elke Bromberg	Aceito
Orçamento	Orcamento_Assinado.pdf	23/10/2018 18:16:00	Elke Bromberg	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Documento_Unificadodo_ProjetodePesquisa.pdf	21/09/2018 14:49:48	JULIANA DE REZENDE LOVERA	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_PB.pdf	21/09/2018 14:46:41	JULIANA DE REZENDE LOVERA	Aceito
Outros	Declaracao_INCT_Bromberg.pdf	21/09/2018 11:47:08	JULIANA DE REZENDE LOVERA	Aceito
Outros	DECLARACAOSOMATERIALBIOLOGICO.docx	19/09/2018 21:23:18	JULIANA DE REZENDE LOVERA	Aceito
Outros	AOCEPPUCRS.pdf	19/09/2018	JULIANA DE	Aceito

Endereço: Av. Ipiranga, 6681, prédio 50, sala 703

Bairro: Partenon

CEP: 90.619-900

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3320-3345

Fax: (51)3320-3345

E-mail: cep@pucls.br



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
Pró-Reitoria de Graduação
Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 1 - 3º. andar
Porto Alegre - RS - Brasil
Fone: (51) 3320-3500 - Fax: (51) 3339-1564
E-mail: prograd@pucrs.br
Site: www.pucrs.br