



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GERONTOLOGIA BIOMÉDICA

---

## **TESE DE DOUTORADO**

# **ASPECTOS PSICONEUROIMUNOLÓGICOS DE IDOSOS CUIDADORES DE PACIENTES COM DEMÊNCIA**

**CRISTINA MARIA MORIGUCHI JECKEL**

Orientador: Prof. Dr. MOISÉS E. BAUER

TESE APRESENTADA AO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM GERONTOLOGIA BIOMÉDICA  
COMO REQUISITO PARCIAL PARA A  
OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR.

PORTO ALEGRE (RS)  
OUTUBRO DE 2006

## AGRADECIMENTOS

Muitas são as pessoas a quem eu gostaria de agradecer por terem contribuído para a finalização deste trabalho. A minha gratidão maior, porém, é a Deus, nosso Pai, que na Sua infinita bondade permitiu que todas estas pessoas cruzassem o meu caminho. Gratidão também por esta etapa da minha vida estar nos Seus planos, pois de nada adiantariam os meus anseios se não fossem também da Sua vontade.

- Ao meu orientador, Dr. Moisés Evandro Bauer, pela sua excelente orientação pautada pelo rigor científico e dedicação.
- Aos meus pais, a quem dedico esta obra, pelas suas orações diárias e por inculcaram em mim a importância da conciliação da cultura e da fé através do exemplo de vida cristã.
- Ao meu esposo Emilio, por acreditar neste projeto e pelo apoio e compreensão sendo o meu suporte afetivo principalmente nos momentos mais difíceis. Um agradecimento particular pela sua paciência no trabalho de revisão e pelo auxílio inestimável na finalização desta tese.
- Às minhas queridas filhas Luciana, Adriana e Erika, por tentarem compreender a importância deste trabalho para a minha vida profissional.
- Aos demais membros de minha família e aos meus amigos que, apesar de nem sempre compreenderem, me apoiaram do início ao fim deste trabalho.
- À Dona Iara Portugal, presidente da ABRAZ-RS, por disponibilizar os nomes dos cuidadores participantes do Grupo de Apoio aos Familiares e Amigos de Pacientes com Doença de Alzheimer do HCPA.

- Aos cuidadores, pela seriedade com que conduziram a sua participação neste estudo e pelo tempo disponibilizado para a realização dos questionários e ensaios biológicos.
- Aos participantes não-cuidadores, pelo tempo e pela compreensão da importância do seu gesto.
- À Dra. Maria Cristina Cachapuz Berleze, pela realização dos ciclos de palestras aos familiares de pacientes com Doença de Alzheimer e pela sua importante colaboração neste trabalho, abrindo as portas de seu consultório nos sábados e realizando os exames clínicos que selecionaram os cuidadores.
- À Dra. Lilian Milnitsky Stein, professora de graduação e pós-graduação da Faculdade de Psicologia da PUCRS, pela supervisão dos trabalhos desenvolvidos pelos seus então bolsistas Leandro Feix e Priscilla Brust nas avaliações psicológicas.
- À Dra. Irani Iracema de Lima Argimon, professora de graduação e pós-graduação da Faculdade de Psicologia da PUCRS, pelo seu interesse e colaboração envolvendo o bolsista Guilherme Welter Wendt neste estudo.
- Ao Dr. Newton Terra, por sua amizade e pela sua participação e colaboração na seleção dos participantes não-cuidadores.
- Ao farmacêutico Rodrigo Pestana, pelo tempo dispendido e por toda a sua dedicação e comprometimento na realização dos ensaios imunológicos e endócrinos deste trabalho.
- À bióloga Adriane Lúcia Rodrigues, pelo auxílio na coleta de sangue dos cuidadores.

- À psicóloga Ms. Daniela Nunes, pela sua participação na aplicação das estratégias de *coping*.
- Às farmacêuticas Cristine Reis e Maria Elisa Duarte, pela ajuda carinhosa e amiga em todas as fases desta tese.
- À Dra. Flavia Valladão Thiesen, diretora da Faculdade de Farmácia, pela sua amizade e importante apoio e compreensão na finalização da tese.
- Às colegas Dra. Terezinha Paz Munhoz e Ms. Myriam Fortes Perrenoud por me auxiliarem na obtenção da doação de material de laboratório, o que possibilitou a redução dos custos deste trabalho.
- Às colegas Ms. Denise Milão e Dra. Maria Cristina Werlang por toda a cobertura que me foi dada nas disciplinas compartilhadas, principalmente nesta última fase.
- A todos os colegas e funcionários da Faculdade de Farmácia da PUCRS que sempre me encorajaram com palavras de carinho.
- Aos colegas do PPG em Gerontologia Biomédica, incluindo a já doutora Temis W. Furlanetto Corte, pela solidariedade.
- À Dra. Clarice Luz, do *LabVirus*, pela competência técnica e cooperação.
- À equipe do laboratório de Imunologia Celular e Molecular do Instituto de Pesquisas Biomédicas da PUCRS pelo carinho e companheirismo.
- Aos acadêmicos Priscilla Brust, Frederico Lamarchi e Guilherme Welter Wendt pelo apoio técnico e disposição.
- Ao psicólogo e mestrando Leandro Feix pela importante colaboração na avaliação psicológica dos cuidadores.

- Ao Programa de Pós-graduação em Gerontologia Biomédica, pela acolhida e pela oportunidade de sempre aprender.
- À Lucia Nascimento, secretária do Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica e à secretaria do Instituto de Geriatria e Gerontologia, por toda a paciência e carinho.
- À empresa Roche Diagnóstica pela colaboração com a doação de reagentes.
- À empresa BD® (Becton, Dickinson and company) pela doação dos tubos *vacutainer*.
- Ao Dr. Norton Mark pela sua competência e profissionalismo.
- Àquelas pessoas, as quais não nomeei, mas de alguma forma participaram ou contribuíram para a materialização desta tese.

# SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>VIII</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>IX</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>XII</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>XIII</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>5</b>
2.1. ENVELHECIMENTO HUMANO .....	5
2.1.1. Aspectos Psicológicos .....	5
2.1.2. Aspectos Neuroendócrinos .....	6
2.1.3. Aspectos Imunológicos .....	9
2.2. MODELO DE ESTRESSE CRÔNICO: O CUIDADOR DE FAMILIAR COM DEMÊNCIA .....	11
2.2.1. O cuidador de familiar com Doença de Alzheimer (DA) .....	11
2.2.2. Implicações do estresse crônico .....	14
2.2.2.1. Ativação crônica do eixo HPA .....	14
2.2.2.2. O cortisol e sua regulação .....	16
2.2.2.3. Significado da razão cortisol/DHEAS .....	18
2.2.2.4. O estresse crônico e a imunidade .....	18
2.2.2.5. A importância do coping .....	18
2.2.2.6. Reflexos na sensibilidade central e periférica a glicocorticóides .....	19
2.2.2.7. Outras implicações .....	22
2.3. PSICONEUROIMUNOLOGIA .....	22
2.4. PROTOCOLO SENIEUR .....	24
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>25</b>
3.1. OBJETIVO GERAL .....	25
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	25
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>26</b>
4.1. SUJEITOS .....	26
4.2. DELINEAMENTO DA PESQUISA .....	27
4.3. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO SEGUNDO PROTOCOLO SENIEUR .....	27
4.4. AVALIAÇÃO PSICOLÓGICA .....	27
4.5. COLETA DAS AMOSTRAS DE SALIVA .....	28
4.6. COLETA DE SANGUE PERIFÉRICO E OBTENÇÃO DAS CÉLULAS MONONUCLEARES .....	29
4.7. TESTE DE SUPRESSÃO DA DEXAMETASONA - TSD .....	29
4.8. DOSAGEM HORMONAL .....	30
4.9. ENSAIOS DE PROLIFERAÇÃO LINFOCITÁRIA E SENSIBILIDADE A GLICOCORTICÓIDES .....	30
4.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	31
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>33</b>
5.1. CARACTERÍSTICAS SÓCIO-DEMOGRÁFICAS .....	33
5.2. DEPRESSÃO, ANSIEDADE E ESTRESSE .....	35
5.3. CORTISOL SALIVAR .....	37
5.4. SULFATO DE DEHIDROEPIANDROSTERONA SALIVAR (DHEAS) .....	38
5.5. RAZÃO CORTISOL/DHEAS .....	39
5.6. TESTE DE SUPRESSÃO COM DEXAMETASONA (TSD) .....	40
5.7. SENSIBILIDADE PERIFÉRICA A GLICOCORTICÓIDES .....	40
5.8. PROLIFERAÇÃO CELULAR .....	42
5.9. DIFERENÇAS ENTRE SUPRESSORES VS. NÃO-SUPRESSORES A DEX .....	43
5.10. INTERRELAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS .....	45
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>46</b>
6.1. OS CUIDADORES APRESENTAM UMA SOBRECARGA EMOCIONAL .....	48
6.2. A SOBRECARGA EMOCIONAL DO CUIDADOR NÃO ELEVA OS NÍVEIS DE CORTISOL .....	49

6.3.	O ESTRESSE CRÔNICO REDUZ OS NÍVEIS DE DHEAS .....	52
6.4.	O SIGNIFICADO DA RAZÃO CORTISOL/DHEAS .....	53
6.5.	TESTE DE SUPRESSÃO COM DEXAMETASONA (TSD): A EXPRESSÃO ENDÓCRINA DO ESTRESSE .....	54
6.6.	SENSIBILIDADE PERIFÉRICA A GLICOCORTICÓIDES .....	57
6.7.	A PROLIFERAÇÃO LINFOCITÁRIA AUMENTADA DO CUIDADOR .....	58
<b>7.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>61</b>
<b>8.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>63</b>
<b>9.</b>	<b>ANEXO 1: PROTOCOLO SENIEUR.....</b>	<b>77</b>
<b>10.</b>	<b>ANEXO 2: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - PUCRS .....</b>	<b>79</b>
<b>11.</b>	<b>ANEXO 3: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....</b>	<b>80</b>
<b>12.</b>	<b>ANEXO 4: ENTREVISTA (<i>CHECK-UP</i> GERIÁTRICO) .....</b>	<b>82</b>
<b>13.</b>	<b>ANEXO 5: ESCALA DE DEPRESSÃO GERIÁTRICA YESAVAGE .....</b>	<b>87</b>
<b>14.</b>	<b>ANEXO 6: INVENTÁRIO DE ENFRENTAMENTO DO STRESS (<i>COPING</i>).....</b>	<b>88</b>
<b>15.</b>	<b>ANEXO 7: ESQUEMA E PLANEJAMENTO DO TRABALHO COM OS PARTICIPANTES</b> <b>90</b>	
	DIA 2.....	90
	DIA 3.....	90
<b>16.</b>	<b>ANEXO 8: CARTA-RESPOSTA AOS PARTICIPANTES DO ESTUDO .....</b>	<b>92</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Escala de degeneração progressiva: características dos estágios da Doença de Alzheimer.....	12
<b>Tabela 2.</b> Características sócio-demográficas dos participantes do estudo.....	33
<b>Tabela 3.</b> Médias ( $\pm$ SE) dos exames laboratoriais dos participantes selecionados para o estudo.....	34
<b>Tabela 4.</b> Diferenças na utilização das estratégias de <i>coping</i> entre os grupos cuidador e controle.....	36



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA).....	15
<b>Figura 2.</b> Escores das avaliações psicológicas.....	35
<b>Figura 3.</b> Níveis de cortisol salivar de controles e cuidadores.....	37
<b>Figura 4.</b> Avaliação dos níveis de DHEAS salivar.....	38
<b>Figura 5.</b> Razão cortisol/DHEAS nos controles e cuidadores.....	38
<b>Figura 6.</b> Níveis de cortisol salivar (8h) pré e após ingestão de DEX .....	39
<b>Figura 7.</b> Proliferação das células T.....	40
<b>Figura 8.</b> Sensibilidade linfocitária <i>in vitro</i> a glicocorticóides.....	41
<b>Figura 9.</b> Escores psicométricos entre supressores e não supressores a DEX.....	42
<b>Figura 10.</b> Níveis de DHEAS e cortisol salivares dos supressores e não-supressores...	43
<b>Figura 11.</b> Taxas glicêmicas de supressores e não-supressores.....	43
<b>Figura 12.</b> Mecanismos de regulação da sensibilidade celular a glicocorticóides.....	55

## LISTA DE ABREVIATURAS

**ACTH** – hormônio adrenocorticotrófico  
**ANOVA** – análise da variância  
**ASC** – área sob a curva  
**ASD** – androstenediona  
**CBG** – globulina de ligação a corticosteróide  
**CORT** – corticosterona  
**CRH** – hormônio liberador de corticotrofina  
**DA** – doença de Alzheimer  
**DEX** – dexametasona  
**DHEA** – dehidroepiandrosterona  
**DHEAS** – sulfato de dehidroepiandrosterona  
**DMSO** – dimetilsulfóxido  
**DNA** – ácido desoxirribonucléico  
**EDTA** – ácido etilenodiamino tetracético  
**ELISA** – enzyme linked immuno sorbent assay  
**GC** – glicocorticóides  
**GH** – hormônio de crescimento  
**HPA** – eixo hipotálamo-hipófise-adrenal  
**IDATE** – inventário de ansiedade traço-estado  
**IFN $\gamma$**  – interferon gama  $\chi$   
**IGF** – fator de crescimento similar a insulina  
**IL** – interleucina  
**IMC** – índice de massa corporal  
**MC** – mineralocorticóides  
**MTT** – tetrazólio de metiltiazol  
**NGF** – fator de crescimento neural  
**NK** – *natural killer*  
**PA** – pressão arterial  
**PBMC** – células mononucleares do sangue periférico  
**PHA** – fitohemaglutinina  
**PNI** – psiconeuroimunologia  
**POMC** – proopiomelanocotrofina  
**PVN** – núcleo paraventricular

**RNA<sub>m</sub>** – ácido ribonucléico mensageiro  
**SAM** – eixo simpatoadrenomedular  
**TGF $\beta$**  – fator de transformação do crescimento  $\beta$   
**TGO** – aspartato transferase  
**TGP** – alanina transferase  
**TNF $\alpha$**  – fator de necrose tumoral  $\alpha$   
**TSD** – teste de supressão a dexametasona  
**VO** – via oral

## **RESUMO**

**Introdução:** O cuidado diário de pacientes com demência constitui um modelo naturalístico de estresse crônico que pode acelerar características próprias do processo de envelhecimento. Alterações no perfil imunológico e endócrino (e.g. aumento dos níveis de cortisol, a redução da proliferação dos linfócitos T e o aumento de citocinas inflamatórias) tem sido observados em estudos anteriores como reflexos da sobrecarga emocional. O objetivo deste trabalho é avaliar como o estresse crônico do cuidado diário de um familiar com doença de Alzheimer pode interferir nos aspectos psiconeuroimunológicos do processo de envelhecimento saudável. **Métodos:** Participaram neste estudo 41 cuidadores de 40 a 82 anos ( $60,56 \pm 1,81$ ) e 33 não-cuidadores de 40 a 90 anos ( $60,27 \pm 2,46$ ) estritamente saudáveis, selecionados segundo os critérios do protocolo SENIEUR. Os inventários de depressão, ansiedade, estresse e  *coping*  foram avaliados como indicadores da carga emocional e estratégias de enfrentamento ao estresse. Níveis salivares de cortisol foram mensurados ao longo do dia (8h, 12h e 20h) e sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEAS) pela manhã (8h). Sangue periférico foi coletado pela manhã para avaliação da proliferação dos linfócitos T e sensibilidade celular a glicocorticóides (dexametasona, DEX; corticosterona, CORT). O teste de supressão a DEX (TSD) foi avaliado através da administração noturna de 1 mg de DEX (VO) e mensuração do cortisol salivar pela manhã do dia seguinte. **Resultados:** Os cuidadores eram mais ansiosos, deprimidos e estressados em comparação aos controles, apesar de não ter sido constatada elevação nos níveis de cortisol salivar. As estratégias de enfrentamento do estresse ( *coping* ) mais empregadas pelos cuidadores eram suporte social, reavaliação positiva e resolução de problemas. O nível de DHEAS salivar dos cuidadores era mais baixo em relação aos controles, aumentando significativamente razão cortisol/DHEAS. Identificou-se uma parcela significativamente maior de cuidadores não-supressores no grupo cuidador (29,3%) em relação ao grupo controle (3%). Foi observado um aumento da proliferação linfocitária nos cuidadores e sensibilidade maior a CORT e resistência a DEX. **Conclusões:** O estresse crônico pode causar o surgimento precoce de características inerentes ao processo de envelhecimento, como o aumento dos valores da razão cortisol/DHEAS e sensibilidade alterada a glicocorticóides. Contudo, o excelente estado de saúde (SENIEUR) parece proteger os indivíduos estressados das alterações nocivas de cortisol. É relevante considerar que as variabilidades inter-individuais podem se refletir nas interações dos fatores psicológicos e sociais com os processos biológicos.

## **ABSTRACT**

**Introduction:** The daily care of demented patients constitutes a naturalistic model of chronic stress and may accelerate age-related changes. Changes in both immunological and endocrine profiles (e.g. higher cortisol levels, reduced T lymphocyte proliferation, increased inflammatory cytokines) have been reported in previous studies paralleling the emotional distress. The aim of this investigation is to evaluate how the chronic stress of daily caregiving for an Alzheimer patient could impact on the psychoneuroimmunological aspects observed during the healthy aging process. **Methods:** Forty one caregivers between 40 to 82 years old ( $60.56 \pm 1.81$ ) and 33 healthy controls between 40 to 90 years old ( $60.27 \pm 2.46$ ) were recruited accordingly the SENIEUR protocol. Depression, anxiety, stress and coping inventories were used to measure emotional distress and strategies of coping to perceived stress. Salivary cortisol levels were measured across the day (8h, 12h and 20h) and dehydroepiandrosterone sulphate (DHEAS) measured in the morning (8h). Peripheral blood samples were collected in the morning to evaluate T-cell proliferation and sensitivity to glucocorticoids (dexamethasone, DEX; corticosterone, CORT). Dexamethasone-suppression test was performed by the administration of evening DEX (one mg, P.O.) and measurement of salivary cortisol in the following morning. **Results:** The caregivers were more anxious, depressed and stressed than controls, in the absence of increasing salivary cortisol levels. The most frequent coping strategies were social support, positive reevaluation and problem solving. The salivary DHEAS levels were significantly lower in the caregivers compared to controls, leading to a higher cortisol/DHEAS ratio. We observed a significantly higher proportion of DEX non-suppressors within the caregiving group (29.3%) compared to healthy controls (3%). The caregivers had an increased lymphocyte proliferation, higher sensibility to CORT and resistance to DEX *in vitro*. **Conclusions:** The chronic stress may accelerate age-related changes, including higher cortisol/DHEAS ratio and altered cellular sensitivity to glucocorticoids. However, the excellent health status (SENIEUR) may protect the chronic stressed individuals from damaging cortisol-related effects. It is also important to consider that inter-individual variability could interfere on the interactions between the biological, psychological and social factors.

---

## 1. INTRODUÇÃO

---

Apesar de haver uma crescente conscientização da população brasileira para a preparação de um envelhecimento bem sucedido, ocorre em paralelo, o crescimento da prevalência de casos de doenças neurodegenerativas. Destas, a Doença de Alzheimer (DA) é a que mais cresce em importância e número. Sua prevalência aumenta exponencialmente com a idade, passando de 5% entre aqueles com mais de 60 anos para 20% naqueles com idade superior a 80 anos. E os estudos indicam que mais de um terço dos cuidadores destes pacientes com demência são também idosos (Bauer et al. 2000). Nestes, as alterações graduais qualitativas e quantitativas que ocorrem em vários órgãos e sistemas do organismo durante o processo de envelhecimento são mais perceptíveis (Bauer 2005), podendo as mesmas serem potencializadas ou minimizadas pelo ambiente, pela genética e pelo estado emocional.

Grande parte dos estudos com cuidadores de pacientes com DA são baseadas em amostras compostas por pessoas idosas (Kiecolt-Glaser et al. 1991; Kiecolt-Glaser et al. 1996; Mills et al. 1997; Vedhara et al. 1999; Shaw et al. 1999; Bauer et al. 2000; Stowell et al. 2001; Kiecolt-Glaser et al. 2003; Shaw et al. 2003; Redwine et al. 2004; Känel et al. 2005) e poucos com o foco nos cuidadores de meia-idade (Vedhara et al. 2002). Neste estudo participaram cuidadores idosos e adultos de meia-idade (40 – 60 anos) para fornecer uma visão mais clara de como as alterações decorrentes da idade podem ser influenciadas pelo estresse crônico do cuidado.

Cuidar de um familiar com demência pode trazer implicações prejudiciais à saúde, principalmente quando o cuidador é idoso e já não tem o mesmo fôlego e energia de alguns anos atrás. Por todo o impacto emocional e social causado pelas situações decorrentes próprias do estado patológico, o familiar mais próximo, muitas vezes o seu cuidador primário, carrega em seus ombros todo o peso deste cenário sombrio como o

último ato de suas vidas em comum. O estresse diário causado pelo cuidado de pacientes com demência pode antecipar o surgimento de algumas características próprias do processo de envelhecimento natural ou potencializá-las, exercendo um efeito devastador nas alterações que já ocorrem no sistema imune e endócrino com o envelhecimento (imunossenescência e endocrinossenescência) (Bauer 2005).

O cuidador de pacientes com demência tem sido estudado em outros países como modelo humano de estresse crônico (Kiecolt-Glaser et al. 1987; Kiecolt-Glaser et al. 1991; Mills et al. 1997; Bauer et al. 2000; Grant et al. 2002; Kiecolt-Glaser et al. 2003) por envolver no dia-a-dia as múltiplas facetas que afetam os fatores determinantes das condições de saúde na complexidade do ser humano. Estudos desta natureza ainda são incipientes aqui no Brasil, especialmente quando realizados com foco no processo de envelhecimento, sob olhar multidisciplinar. A nossa população tem características próprias em todos os aspectos, principalmente culturais, por ser ainda um país historicamente novo e formado por um misto de etnias. Com o objetivo de investigar os efeitos do estresse crônico no processo de envelhecimento dos brasileiros, estudou-se um grupo de pessoas saudáveis, cuidadores de familiares com demência, na maioria cônjuges ou filhos de pacientes com Alzheimer. Os critérios para a seleção dos voluntários dos grupos cuidador e controle foram baseados no protocolo SENIEUR (Litghart et al. 1984), um conjunto de critérios baseados em exames clínicos e parâmetros hematológicos e bioquímicos. O protocolo SENIEUR foi desenvolvido pelo grupo EURAGE (Programa de Ação Combinada em Envelhecimento da Comunidade Européia) em 1984 e define critérios rigorosos de saúde para idosos e controles em estudos imunogerontológicos, permitindo a análise do processo de envelhecimento isoladamente (Litghart et al. 1984). A aplicação deste protocolo em estudos gerontológicos aqui no Brasil ainda não é comum e embora torne mais difícil o recrutamento e a seleção de participantes na pesquisa, este cuidado permite reproduzir com maior transparência e fidelidade as alterações que decorrem do processo de envelhecimento.

Apesar do estresse agudo estar associado ao incremento das funções de defesa do organismo (Shaw et al. 1997), o estresse crônico, por sua vez, tem se mostrado associado a efeitos deletérios, alterando o sistema imune e aumentando a vulnerabilidade às doenças. O estresse causa uma ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e a liberação de uma quantidade elevada de glicocorticóides (cortisol) no organismo (Buckingham et al. 1997). O que torna prejudicial ao organismo é a presença crônica do excesso de cortisol no organismo, podendo favorecer o surgimento de resistência aos glicocorticóides (GC) pela perda da regulação no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e do seu mecanismo de *feedback* (Gotovac et al. 2003). Um dos aspectos que confere ineditismo ao estudo é a realização da investigação simultânea da sensibilidade central e periférica a GC através, respectivamente, dos testes de supressão a dexametasona e sensibilidade linfocitária a GC.

Além da dosagem de cortisol salivar, neste estudo também avaliamos o hormônio esteróide sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEAS) que exerce efeitos benéficos no organismo e antagônicos aos efeitos dos GC nos tecidos (Herbert 1998; Schwartz 2002; de, V et al. 2002; Ravaglia et al. 2002). A avaliação de ambos os hormônios adrenais fornece uma visão mais clara sobre o impacto do estresse crônico sobre o eixo HPA.

Pesquisas apontam maior tendência destes cuidadores a adquirirem doenças infecciosas, especialmente infecções do trato respiratório superior (Kiecolt-Glaser et al. 1996), a apresentarem resposta menos eficiente à vacinação (Glaser et al. 2000) e a terem maior incidência de distúrbios depressivos (Kiecolt-Glaser et al. 1987; Kiecolt-Glaser et al. 1991). Verifica-se também maior relutância em procurar ajuda médica para solucionar seus próprios problemas de saúde quando os doentes encontram-se em fases mais problemáticas da DA (Shaw et al. 1997). Os cuidadores, muitas vezes, experimentam sentimentos de raiva, frustração, impotência e solidão diante da progressão da doença. Além disso, eles manifestam estar sofrendo de depressão e ansiedade através de sintomas como palpitações cardíacas, insônia, sudorese, cefaléia e pesadelos. A função de



cuidador parece ter efeitos sociais negativos como o aumento do sentimento de isolamento social e confinamento, redução das atividades sociais e de lazer e uma deterioração no relacionamento entre o cuidador e outros familiares ou amigos.

O estresse psicológico causado pelo cuidado de familiares com demência pode alterar a imunidade do indivíduo através das vias neuroendócrina e autonômica, exacerbando os efeitos do envelhecimento sobre o sistema imune. O presente trabalho pretende traçar um esboço do perfil psiconeuroimunológico dos cuidadores primários de familiares com demência, geralmente seus cônjuges, pais ou irmãos. É relevante a visão da psiconeuroimunologia para a Gerontologia, uma vez que a compreensão em torno das interações dos aspectos psicológicos do ser humano com o sistema nervoso, endócrino e imune constitui a base para um envelhecimento bem-sucedido.

---

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

---

### 2.1. ENVELHECIMENTO HUMANO

O envelhecimento populacional, observado nos países desenvolvidos desde o começo do século passado, tornou-se marcante nos países em desenvolvimento somente a partir de 1950. Desencadeou-se, então, um fenômeno contínuo, representando um desafio gerado pelas demandas sociais e econômicas que despontam de forma crescente em todas as nações (Freitas 2004).

Nas últimas duas décadas, o idoso brasileiro teve a sua expectativa de sobrevida aumentada, traduzindo-se num maior crescimento da população idosa em relação aos demais grupos etários. Houve um aumento da participação da população acima de 60 anos no total da população nacional de 4% em 1940 para 8% em 1996. Projeções recentes apontam que este segmento poderá ser responsável por quase 15% da população brasileira no ano 2020 (Freitas 2004).

A característica do processo de envelhecimento em relação ao estresse é a diminuição gradual da capacidade adaptativa ou de recuperação do estresse (resiliência). Os sistemas fisiológicos funcionam normalmente na maioria dos indivíduos idosos, porém, a reação aos desafios ocorre mais lentamente. Há no organismo uma quantidade finita de energia para adaptação que pode ser esgotado pelo efeito de um estresse prolongado, acelerando o desencadeamento da senescência (Sapolsky et al. 1986).

#### 2.1.1. Aspectos Psicológicos

O envelhecimento humano é um processo determinado pela interação constante e cumulativa de eventos registrados no tempo, de natureza genético-biológica, psicossocial e sociocultural (Neri 2002). É uma experiência heterogênea, ocorre de modo

diferente para indivíduos e coortes que vivem em contextos históricos e sociais distintos, pois depende da influência de circunstâncias histórico-culturais, de fatores intelectuais, da personalidade e da incidência de patologias durante o envelhecimento (Neri 2002).

Na velhice, diminui a plasticidade comportamental, isto é, a capacidade de mudar para adaptar-se ao meio (por exemplo, um ambiente novo) e diminui a resiliência, definida como a possibilidade de reagir e se recuperar dos efeitos de situações e períodos estressantes. Porém, o potencial de desenvolvimento e os mecanismos de autorregulação da personalidade são mantidos nesta fase, o que pode explicar a continuidade do funcionamento psicossocial e pelo bem-estar subjetivo dos idosos, mesmo em situações consideradas incompatíveis com satisfação ou qualidade de vida pelos demais em condições mais favoráveis (Neri 2002).

### **2.1.2. Aspectos Neuroendócrinos**

Ocorrem várias alterações na regulação da síntese de esteróide adrenal associada ao envelhecimento. Evidências encontradas em estudos com modelos animal e humano indicam que a função alterada do eixo HPA com a idade é devido a disfunção nos receptores mineralocorticóides (MR) e receptores de GC (GR), resultando num mecanismo de *feedback* prejudicado e a hiperatividade do eixo (Pedersen et al. 2001). As ligações dos GC nos receptores e dos níveis de RNAm no hipocampo estariam diminuídas, correspondendo à perda das células piramidais nesta região cerebral. Pelo hipocampo estar envolvido no *feedback* negativo dos GR, uma hipótese seria de que situações de aumento de cortisol circulante levariam a neurotoxicidade hipocampal, reduzindo o *feedback* inibitório e provocando a liberação aumentada de cortisol (Akil et al. 1999). O cortisol é secretado na camada média (*zona fasciculata*) do córtex adrenal e parece estar aumentado no idoso (Deuschle et al. 1997; Schwartz 2002; Luz et al. 2003), paralelo à diminuição do nível da dehidroepiandrosterona (DHEA) e seu sulfato (DHEAS) (Zumoff et al. 1980).

O DHEAS é o hormônio esteróide mais abundante na circulação sanguínea do homem adulto (Zumoff et al. 1980). O DHEAS representa um reservatório do DHEA, uma vez que este é primariamente secretado na forma sulfatada. DHEAS converte-se em DHEA através da ação das sulfatases esteroidais em vários tecidos periféricos. O DHEAS encontra-se numa proporção trinta vezes maior que o cortisol na circulação (Herbert 1998; Schwartz 2002). Ambos apresentam padrões de secreção bastante distintos durante o desenvolvimento humano. O DHEAS é produzido pela adrenal ainda no feto, mas sua concentração cai após o nascimento e é quase indetectável nos seis meses seguintes. Um ou dois anos antes da puberdade ocorre um aumento significativo da produção de DHEAS e o seu pico é alcançado na terceira década de vida (Adams 1985). Este padrão é observado tanto em homens quanto em mulheres, sendo que no adulto, o homem possui níveis mais altos de DHEAS do que a mulher. Próximo aos 80 anos, a produção de DHEAS é de apenas 10 a 20% do DHEAS produzido quando jovem (Orentreich et al. 1992). Enquanto isso, a secreção de cortisol em pessoas saudáveis segue um padrão de liberação de 24 horas. Este ritmo circadiano pode sofrer algumas alterações nas diferentes fases do desenvolvimento humano, como na adolescência e na velhice. No idoso, os níveis de cortisol encontram-se ligeiramente aumentados em comparação aos jovens, porém deve-se observar as importantes variações interindividuais.

O DHEA é co-secretado com o cortisol em resposta ao hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e ao hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Da mesma forma que o cortisol, a liberação de DHEA segue uma variação diurna com picos diários no início da manhã, ao despertar. Tanto a variação diurna do DHEA quanto a responsividade do DHEA ao estímulo do ACTH podem estar diminuídas com a idade. Em contraste, a forma sulfatada (DHEAS) não segue o padrão de liberação diurna, mantendo-se relativamente estável. O envelhecimento pode afetar diferentemente as duas principais funções adrenais. O declínio da produção de DHEAS em idosos pode ser devido a uma redução do número de células funcionais na *zona reticulata* (camada medular do córtex adrenal, on-

de é sintetizado o DHEAS) (Vie and Miller 1986; Effros 2001), uma redução na sensibilidade a ACTH por parte destas células (Castle et al. 1995) ou uma alteração nas características zonais do córtex adrenal (Kirschbaum and Hellhammer 1994).

As dosagens hormonais podem ser realizadas a partir da saliva ou do plasma sanguíneo. O emprego de cortisol salivar tem sido relatado em investigações psiconeuroendócrinas (Kirschbaum and Hellhammer 1994), por ser uma maneira válida e segura de representar a porção do cortisol livre no sangue. A medida do cortisol plasmático total pode resultar em valores que não correspondem à realidade, quando há variação na capacidade da globulina de ligação a corticosteróide (CBG) plasmático resultante de drogas, gestação ou alterações congênitas no CBG. Níveis salivares de cortisol são menos afetados por alterações na ligação com proteínas e têm sido usados na investigação da disfunção HPA (Kahn et al. 1988). A concentração de cortisol salivar representa cerca de 5 a 10% do total sérico (Kahn et al. 1988). Embora o cortisol se misture à saliva por difusão passiva, os níveis de cortisol na saliva não são afetados pela taxa de fluxo salivar. O cortisol salivar tem se mostrado uma eficiente ferramenta na investigação da função do eixo HPA durante o estresse crônico. O estudo de Bauer (Bauer et al. 2000) comprovou a sensibilidade e a fidelidade do método de cortisol salivar para este objetivo, possibilitando inclusive a análise de várias amostras salivares de cada indivíduo, coletadas ao longo do dia.

A fim de que o cortisol e o DHEAS fossem avaliados a partir do mesmo material biológico (saliva), optou-se por fazer a dosagem de DHEAS (sulfato de dehidroepiandrosterona) e não do DHEA. Em estudos anteriores, resultados de ensaios salivares de DHEA mostraram-se artificialmente altos quando submetidos à coleta empregando algodão, material absorvente utilizado para recolher a saliva. Este mesmo procedimento aplicado na coleta de DHEAS não apresentou resultados alterados (Shirtcliff et al. 2001). Comparada à punção venosa, a coleta de saliva é um procedimento simples e não inva-

sivo, livre de estresse. Além disso, as amostras de saliva podem ser coletadas facilmente pelo próprio paciente sem a necessidade de assistência.

Além da diminuição dos níveis de DHEA e DHEAS, ocorre também o declínio dos níveis de androstenediona (ASD), progesterona e aldosterona. Reporta-se também a diminuição dos níveis de  $17\beta$ -estradiol em mulheres e testosterona em homens. Níveis reduzidos de hormônio de crescimento (GH) e do fator de crescimento similar a insulina (IGF) também são típicas manifestações da endocrinossenescência. Foi demonstrado também redução nos níveis de calcitonina e vitamina D, e elevação dos níveis de hormônio paratireóide (Straub et al. 2001).

### **2.1.3. Aspectos Imunológicos**

Os efeitos do envelhecimento sobre o sistema imune muitas vezes podem ser confundidos com alterações causados por uma patologia não diagnosticada. Ao realizar estudos na área da imunogerontologia é importante balizar as condições de saúde dos indivíduos da amostra segundo os critérios do Protocolo SENIEUR (Litghart et al. 1984) para distinguir o “processo de envelhecimento” da “doença”.

O conjunto de alterações imunológicas observadas durante o envelhecimento humano é conhecido como imunossenescência. Apesar das variações individuais quanto às mudanças no sistema imune associadas ao envelhecimento, elas estão relacionadas ao aumento da incidência de infecções, doenças auto-imunes e neoplasias, principais causas que contribuem para a morbidade e mortalidade. Entre os idosos com mais de 75 anos, a pneumonia e a influenza juntos ocupam a quarta causa de óbito. Neste mesmo grupo foi observado maior número de casos de debilidade imunológica associada à depressão do que em adultos jovens (Kiecolt-Glaser and Glaser 1995).

As alterações predominantes envolvem os linfócitos T, mas ocorre também disfunção das células B, afetando a sua ativação e proliferação, somando-se à alteração qualitativa e quantitativa na produção de anticorpos (superprodução de autoanticorpos e

resposta ineficiente às vacinações de novos antígenos) (Castle 2000c). No sistema imune inato ocorre a perda da capacidade fagocitária, a redução no tráfego de células dendríticas e aumento na produção de IL-3, IL-4 e IL-6. Não foram encontrados relatos de alterações de IL-1 e TNF- $\alpha$  (*tumoral necrosis factor*) associadas à idade. As taxas de interferon- $\alpha$ , IL-2 e TGF- $\beta$  (*transforming growth factor*) encontram-se reduzidas no idoso (Solomon and Morley 2001). Mudanças no sistema imune adaptativo incluem a diminuição da proliferação de células T e B, diminuição das células T virgens (*naive*), aumento da degeneração de células B, aumento das células T de memória e aumento das respostas das células T *helper* (Th2). Nesta situação, com o aumento da produção e secreção de IL-10, pode haver inibição da produção e da liberação de IL-12 e IFN-gama, suprimindo a resposta celular inflamatória (Castle 2000b). Embora não tenha sido observada alteração quantitativa de células NK, a sua citotoxicidade tende a decrescer com a idade (Castle 2000a). Além disso, a expressão de moléculas de superfície importantes para a interação intercelular, como B7-2, CD28 e HLA classe II, estão reduzidas no idoso (Straub et al. 2001).

A grande maioria dos estudos demonstrou que a redução da resposta imune celular no envelhecimento está fortemente associada com disfunções das células T. A capacidade de expansão clonal, que é a consequência final da ativação de células T durante uma resposta imune, encontra-se reduzida no idoso, comprometendo a formação de células efetoras e de memória (razão CD4/CD8 reduzida). Mudanças na capacidade de proliferação refletem uma perda importante da resposta imune adaptativa. Esta alteração parece estar associada com uma diminuição na produção de IL-2 (Vie and Miller 1986), essencial para a divisão de células T.

Outra evidência relevante é o aumento da apoptose das células T. A apoptose (morte celular programada) é um importante regulador da homeostase do sistema imune e exerce uma função importante na maturação e seleção dos linfócitos T e B. O aumento significativo da população de células T de memória com a idade está relaciona-

do tanto no aumento da susceptibilidade a apoptose das células virgens (*naive*) em relação a células T de memória, quanto no efeito do envelhecimento sobre a regulação do mecanismo da apoptose (Effros 2001). Estudos apontam que certas populações de linfócitos se tornam mais sensíveis a apoptose no envelhecimento devido à expressão aumentada de Fas (associada com apoptose) (Bauer et al. 2000). Isto sugere que as alterações imunológicas em idosos podem refletir a eliminação de certas células via mecanismos apoptóticos, regulando, assim, o conjunto de células periféricas implicadas na resposta imune. Todo este quadro, no entanto, pode estar ainda mais alterado em situações de estresse crônico (Bauer et al. 2000).

## **2.2. MODELO DE ESTRESSE CRÔNICO: O CUIDADOR DE FAMILIAR COM DEMÊNCIA**

### **2.2.1. O cuidador de familiar com Doença de Alzheimer (DA)**

A Doença de Alzheimer (DA) é reconhecida atualmente como um importante problema de saúde pública em todo o mundo. A DA foi diagnosticada pela primeira vez em 1906 por Alois Alzheimer e constitui uma doença neurodegenerativa progressiva e heterogênea nos seus aspectos etiológico, clínico e neuropatológico. Principal causa de demência no mundo ocidental e incluída no grupo das doenças mais importantes associadas ao envelhecimento, a DA é caracterizada pela alta densidade de placas senis e de emaranhados neurofibrilares no córtex cerebral, além da perda neuronal e intensa degeneração sináptica, se comparado com níveis encontrados em indivíduos não dementados da mesma faixa etária (Brodaty 1999). Comumente detectada após os 60 anos de idade, a DA tem uma progressão gradual e contínua por um período de cerca de 10 anos a partir do primeiro sintoma identificável. A maioria dos pacientes com DA não apresenta histórico familiar evidente (Brodaty 1999).

A DA pode causar um impacto devastador nos membros da família, especialmente no cuidador primário, por ser este a conviver diariamente com o paciente nos momentos de lucidez e de alucinação. O cuidador primário é definido como o membro da



família (geralmente cônjuge ou filho(a)) que assume as necessidades primárias do paciente, responsabilizando-se por providenciar, coordenar e dar suporte para a manutenção da rotina e do bem estar do enfermo nas 24 horas do dia. À medida que a doença progride (Tabela 1), tanto o cuidador quanto o paciente tornam-se vítimas da mesma doença (Bar-David 1999), uma vez que o paciente torna-se cada vez mais dependente e tende a manifestar maior ansiedade quando separado do seu cuidador primário, com quem geralmente tem relações afetivas mais estreitas (Snyder 2001).

---

**Tabela 1.** *Escala de Degeneração Progressiva : características dos estágios da DA*

---

**Fase Inicial**

Redução da participação em eventos sociais e outros acontecimentos fora de casa  
Redução do tempo dispendido em *hobbies*  
Redução ou suspensão das leituras

**Fase Intermediária**

Consegue se arrumar na ausência do cuidador  
Capacidade reduzida de sair sozinho(a) e voltar para casa sem ajuda

**Fase Avançada**

Podem se ferir a si mesmos  
Incapacidade de usar o telefone  
Não discute mais com os outros

---

(Brodaty 1999)

Principalmente na população idosa, o cuidado de pacientes com demência é um estressor que está associado a alto risco de alterações do sistema imune e ao aumento da incidência de doenças. A imunossupressão relacionada ao estresse pode trazer conseqüências negativas à saúde do idoso cuidador por intensificar as alterações já observadas no sistema imune com o envelhecimento (Solomon and Morley 2001).

Kiecolt-Glaser e colaboradores (Kiecolt-Glaser et al. 1987), ao investigarem a relação entre o estresse crônico e a imunidade dos cuidadores de familiares com DA constataram a deficiência na adaptação imunológica e psicológica dos mesmos, em comparação com pessoas não cuidadoras da mesma faixa etária. Num estudo longitudinal de 13 meses com cuidadores, estes se mostraram mais suscetíveis a contrair doenças infecciosas, principalmente das vias aéreas superiores, consultar médicos com mais

freqüência, apresentavam maior incidência de distúrbios depressivos e níveis mais altos de sintomas depressivos, e seus linfócitos apresentavam menor proliferação quando induzidos por mitógeno (Kiecolt-Glaser et al. 1991; Bauer et al. 2000). Foi reportado aumento nos níveis de noradrenalina plasmática indicando associação do estresse crônico do cuidador com a fisiologia  $\beta$ -adrenérgica (Mills et al. 1997), aumento dos níveis séricos de NGF (Hadjiconstantinou et al. 2001), baixa produção de anticorpos em resposta a vacina *influenza* (Kiecolt-Glaser et al. 1996; Vedhara et al. 1999), baixa produção de IL-2 e reduzida sensibilidade linfocitária aos GC (Bauer et al. 2000), além de aumento nos níveis de IL-6 (Kiecolt-Glaser et al. 2003). A molécula de adesão celular circulante, L-selectina (CD62L), também se encontra deficiente, possivelmente devido à ativação adrenomedular, prejudicando a migração das células T *naïve* e se refletindo na ativação celular (Mills et al. 1999)

Não é somente no sistema imune que ocorrem alterações associadas ao estresse crônico do cuidador. Känel e colaboradores (Känel et al. 2005) constataram um incremento nos níveis plasmáticos de D-dimer, um marcador de formação e degradação de fibrina, sugerindo associação com o aumento de riscos cardiovasculares no cuidador. Aumento da pressão arterial nos cuidadores também tem sido relatado na literatura (Grant et al. 2002; Shaw et al. 2003). Os estressores, enfim, são forças adversas intrínsecas e extrínsecas que desafiam constantemente a manutenção do complexo equilíbrio dinâmico do organismo, a homeostase (McEwen 2000).

Por definição, estresse é o estado gerado pela percepção de estímulos que provocam excitação emocional e, ao perturbarem a homeostase, levam o organismo a disparar um processo de adaptação, cuja peça chave é o eixo HPA. Participam também a medula adrenal (que produz adrenalina e noradrenalina) e o sistema nervoso autônomo, a qual modula as funções fisiológicas através de neurotransmissores (Akil et al. 1999). A rotina do cuidador em ambiente de estresse constante pode conduzir ao aumento significativo da atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) (Bauer et al. 2000).

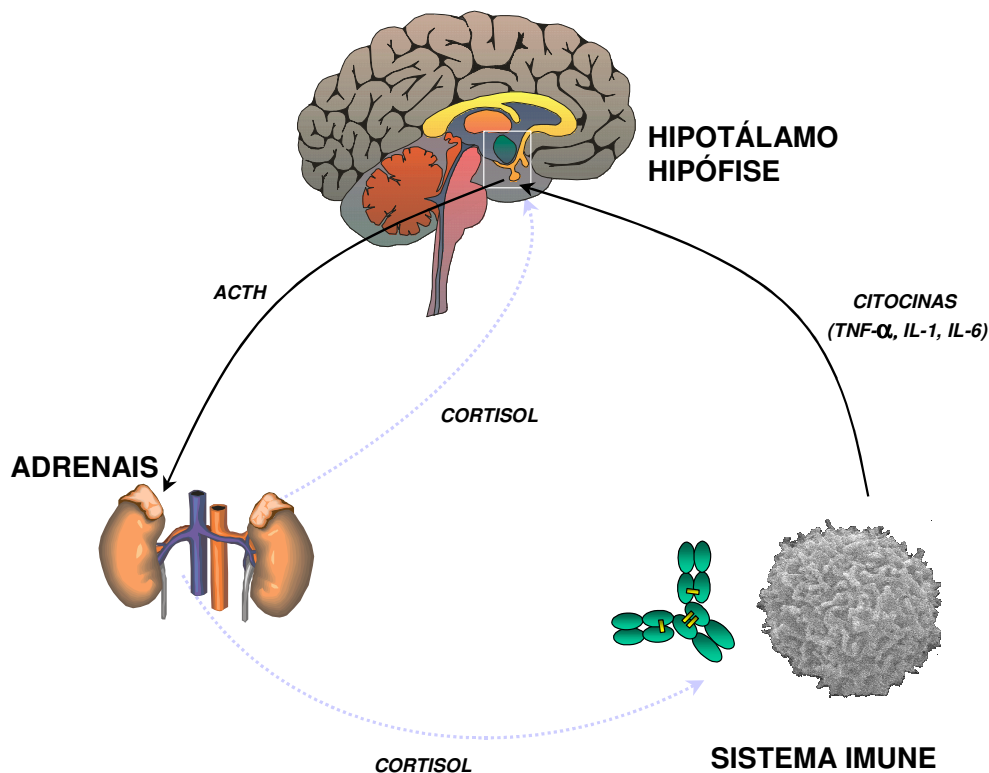
Outra manifestação de sobrecarga emocional do cuidador é a depressão. A depressão é um distúrbio da área afetiva ou do humor, com forte impacto funcional em qualquer faixa etária, reconhecidamente de natureza multifatorial, envolvendo inúmeros aspectos de ordem biológica, psicológica e social. As situações psicossociais tradicionalmente ligadas ao envelhecimento, como cuidar de um familiar doente, pobreza, viuvez, institucionalização e solidão são relatadas como fatores de risco para o desenvolvimento de sintomas depressivos. No processo de envelhecimento os indivíduos defrontam-se com grandes mudanças no seu papel social, como a aposentadoria. Perdas de pessoas amigas e doenças, principalmente de cônjuges e familiares, muitas vezes podem atuar como desencadeantes de sintomas depressivos e de ansiedade (Gordilho 2002).

A ansiedade é uma emoção normal frente a circunstâncias ameaçadoras e é considerada necessária para a sobrevivência e importante na evolução humana. Porém, quando ocorre, nestas situações adversas, um conjunto de reações que envolvem medo, apreensão, tensão muscular, aumento das frequências cardíaca e respiratória, sudorese e tremores, sem um perigo iminente real, considera-se uma reação inadequada das funções cerebrais, denominada de transtorno de ansiedade (Gordilho 2002).

## **2.2.2. Implicações do estresse crônico**

### **2.2.2.1. Ativação crônica do eixo HPA**

A ativação do eixo HPA induzida por estresse geralmente envolve o aumento da liberação do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) na circulação venosa portal, a partir da porção medial parvicelular do núcleo paraventricular (PVN) do hipotálamo. Em resposta ao estímulo, a CRH sintetiza e libera o hormônio adrenocorticotrofina (ACTH) da hipófise anterior. O aumento do ACTH circulante estimula a liberação de glicocorticóides (GC) do córtex adrenal, através de uma série de reações enzimáticas a partir do colesterol (Akil et al. 1999).



**Figura 1.** Ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA). O estresse ativa o eixo HPA que dispara a secreção do hormônio ACTH pela hipófise anterior que, por sua vez, induz secreção do cortisol pelo córtex adrenal. O cortisol é o principal hormônio que regula o sistema imunológico. As citocinas pró-inflamatórias podem igualmente ativar o eixo HPA durante infecções.

O eixo HPA não é simplesmente um sistema de alarme ativado pelo estresse. Este possui níveis de secreção basal com oscilações circadianas. Os níveis de GC são elevados ao despertar e baixos ao final da fase ativa do dia (Akil et al. 1999). Os estímulos estressantes que ativam o eixo HPA podem ser de origem cognitiva ou não-cognitiva, resultando em hipersecreção de GC (cortisol no homem e corticosterona em roedores). O início, a intensidade e a duração desta resposta ao estresse são ajustados de acordo com a natureza, a magnitude e a duração do estímulo (Buckingham et al. 1997) e são dependentes da oscilação circadiana de liberação dos GC (Akil et al. 1999). Quando os níveis de GC estão baixos, o eixo HPA é bastante responsivo ao estímulo estressor e mostra clara ativação. Nesta fase, o eixo é altamente sensível à inibição e ao *feedback* negativo. Desta forma, parece que a ativação e a interrupção da resposta ao estresse

são mais efetivas quando os níveis de liberação de GC estão mais reduzidos, do que no pico de liberação, considerando o ritmo circadiano (Akil et al. 1999).

### **2.2.2.2. O cortisol e sua regulação**

Os hormônios mediadores da resposta ao estresse, GC e catecolaminas, atuam exercendo efeitos benéficos ou prejudiciais ao organismo. Em casos de estresse agudo, estes são essenciais à adaptação, na manutenção da homeostase e à sobrevivência, exercendo o chamado efeito alostático. Porém, no estresse crônico, pode ocorrer uma sobrecarga deste efeito prolongado (carga alostática), facilitando e acelerando o surgimento de processos patológicos (McEwen 2000).

Os GC controlam a sua própria síntese e a liberação através do mecanismo de *feedback* negativo na hipófise anterior, hipotálamo e sítio suprahipotalâmico (Kellerwood and Dallman 1984; Akil et al. 1999). Além das diferenças nos seus sítios de ação, os mecanismos de *feedback* diferem no que se referem ao *timing* e ao funcionamento. O *feedback* genômico é mediado pelos receptores esteróides pela inibição da transcrição de genes como CRH e proopiomelanocotrofina (POMC). Este mecanismo inibitório é baseado na interação proteína-proteína, de complexos de fatores de transição com complexos de resposta de DNA. É a seqüência de eventos na qual ocorrem estas interações que determinam se o efeito será inibitório ou de ativação. Porém, este tipo de *feedback* pode iniciar após 30 – 45min e levar até dias para uma regulação efetiva. O *feedback* genômico estabelece o nível de responsividade ao estresse pela alteração da capacidade do eixo HPA (Akil et al. 1999). Um outro mecanismo de *feedback* negativo, não genômico, transcorre num período de tempo mais curto e regula a ativação e a interrupção das respostas ao estresse momento a momento. Após um aumento da concentração do GC circulante ocasionado em resposta ao estresse, este mecanismo de regulação prontamente suspende a liberação de ACTH quando o estressor desaparece. Este rápido *feedback* estabelece a magnitude e a duração da resposta ao estresse através dos GC e parece estar mais associado ao nível de elevação da concentração de GC circulante do que à

concentração absoluta do hormônio. O terceiro tipo de regulação, o *feedback* intermediário, ocorre no tempo médio entre o *feedback* genômico e o imediato e parece envolver genes regulatórios associados a outros mecanismos (Akil et al. 1999).

O sistema fisiológico em questão, ativado pelo estresse, pode ser benéfico ou prejudicial ao organismo. No estresse agudo, é o influxo do GC na circulação que irá possibilitar uma pronta e defensiva ação do indivíduo, protegendo-o do agente estressor, fazendo-o enfrentar ou esquivar-se da situação. A rápida ativação do eixo HPA, portanto, é essencial para as funções vitais (Fuchs et al. 2001). Porém, o estresse crônico pode influenciar a patogênese das doenças, por causa do efeito deletério do GC quando em excesso por longo período de tempo no organismo (McEwen 1998). Há crescentes evidências de que a síndrome metabólica, caracterizada por um misto de fenótipos complexos que incluem hipertensão, intolerância a glicose, diabetes mellitus e hiperlipidemia possam estar associados à secreção alterada de GC (Rosmond 2005).

Estímulos que ativam o eixo HPA, como o estresse, desencadeiam a secreção de cortisol em qualquer idade. A diferença no padrão de secreção na ontogenia poderia de alguma forma estar associada ao aspecto contrastante do mecanismo de controle destes hormônios adrenais. Enquanto o controle do DHEAS não ocorre por *feedback* do hipotálamo ou da hipófise, o cortisol é bastante sensível ao controle por *feedback* exercido pelo eixo HPA (Keller-wood and Dallman 1984; Kahn et al. 1988; Hearing et al. 1999).

Este fato, somado ao aumento do nível de GC devido ao estresse crônico, seria um componente desencadeante de resistência à GC no idoso, podendo ser um dos fatores importantes para o aparecimento de resistência a outros tipos de tratamentos farmacológicos. Foram relatados níveis aumentados de cortisol e redução da sensibilidade linfocitária a GC (DEX e cortisol) em estudos com cuidadores de pacientes com demência que apresentavam depressão (Bauer et al. 2000).

### **2.2.2.3. Significado da razão cortisol/DHEAS**

O DHEAS antagoniza vários efeitos biológicos dos GC *in vivo* (Svec and Porter 1998), inclusive protegendo os neurônios dos efeitos neurotóxicos deste esteróide. O fato do cortisol não ter a sua liberação suprimida pela idade, faz com que o ambiente neural fique exposto ao cortisol sem a ação moderadora do DHEAS, uma vez que este sofre uma drástica redução com o envelhecimento. Em estudos com idosos saudáveis foram relatados uma relação significativa entre altos valores da razão cortisol/DHEAS e riscos de dano cognitivo, endossando o importante papel do DHEAS com o seu efeito tampão na proteção dos efeitos prejudiciais do cortisol na cognição (Niekerk et al. 2001).

### **2.2.2.4. O estresse crônico e a imunidade**

O reflexo do estresse crônico no sistema imune tem sido objeto de muitos estudos. Tem sido relatada a redução da resposta imune a vacinação contra o vírus *influenza* em idosos cuidadores (Kiecolt-Glaser et al. 1996; Vedhara et al. 1999) e uma redução também na expansão clonal linfocitária mediada por mitógenos (Con A e PHA) (Kiecolt-Glaser et al. 1991). Outra alteração associada aos linfócitos T foi em relação a L-selectina (CD62L), molécula de adesão celular importante na migração de células T virgens através dos linfonodos e outros tecidos linfóides secundários, que encontra-se deficiente no grupo de cuidadores considerados vulneráveis, provavelmente pela alta concentração plasmática de catecolaminas e conseqüente ativação crônica do eixo simpatoadrenomedular (SAM) (Mills et al. 1999). A produção aumentada da citocina pró-inflamatória IL-6 também foi associada ao estresse crônico, sendo um fator desencadeante em distúrbios cardiovasculares, osteoporose, artrite, diabetes tipo II, certos tipos de câncer, periodontite, fragilidade e declínios funcionais (Kiecolt-Glaser et al. 2003).

### **2.2.2.5. A importância do *coping***

É de amplo conhecimento o impacto do estresse agudo e crônico no sistema imune. O primeiro pode resultar num efeito estimulante, enquanto o estresse crônico po-

de ter um efeito bastante prejudicial. Em particular, nos seres humanos as diversas associações com os sistemas fisiológicos podem estar relacionadas com as maneiras de conduzir as situações de estresse. Em primeiro lugar o estressor deve ser percebido, interpretado e avaliado. Tanto a reação emocional quanto a comportamental do indivíduo serão determinadas pela maneira específica do sujeito enfrentar a situação e das estratégias de defesa empregadas. A habilidade de enfrentamento do estresse - *coping* - apresenta características individuais e traz consigo toda a carga da vivência, das experiências pessoais e também dos fatores culturais (Olf 1999).

As estratégias defensivas de enfrentamento podem distorcer a percepção da realidade, maquiando os aspectos negativos e minimizando a efetiva resposta ao estressor. Muitas vezes este procedimento pode ser benéfico, mas tende a se tornar temerário quando a verdadeira percepção da realidade for crucial (Olf 1999).

Com o avançar do processo de envelhecimento diminui a plasticidade comportamental, definida como a possibilidade de mudar para adaptar-se ao meio (por exemplo, novas aprendizagens) e diminui a resiliência, definida como a capacidade de reagir e de recuperar-se dos efeitos da exposição a eventos estressantes (Neri 2001).

#### **2.2.2.6. Reflexos na sensibilidade central e periférica a glicocorticóides**

O efeito de qualquer hormônio em seu respectivo alvo dependerá da disponibilidade extra e intracelular do hormônio, da potência e da habilidade da célula em receber e efetuar a transdução de sinal. A sensibilidade a GC é a extensão na qual o sistema responsivo reage aos GC (Bamberger et al. 1996). É uma característica individual e isso deve ser considerado quando especulado sobre os riscos de saúde em potencial associado com um hiper ou hipo reatividade do eixo HPA.

A reação aos GC difere conforme o tecido alvo: nas células da parede vascular, os GC aumentam o tônus muscular. Os animais e pacientes adrenalectomizados,



com deficiência de GC demonstram pressão sangüínea diminuída, a qual é revertida com tratamento com dexametasona (DEX) ou hidrocortisona (Rohleder et al. 2003a).

O número de receptores disponíveis em uma célula determina a capacidade de ligação do hormônio à mesma. Desta forma, a sensibilidade de uma célula aos GC está intimamente correlacionada com o nível de expressão de receptores de GC, incluindo uma gama de fatores intracelulares que pode modular a cascata de transdução de sinal nas suas diferentes etapas. A expressão de receptores de GC pode variar de tecido para tecido e o modo de regulação pode ser determinado também por uma série de fatores (Rohleder et al. 2003b). Os receptores de GC estão presentes na maioria das células nucleadas e o seu nível celular é controlado por um mecanismo de *feedback* negativo, de maneira que uma elevação no nível de GC causa a redução na expressão de receptores de GC em diversos órgãos, incluindo cérebro e linfócitos (Gotovac et al. 2003).

A atividade dos receptores de GC é primeiro determinado pelo aumento da concentração extracelular de GC. Os receptores de GC têm pouca afinidade por GC, portanto são ativados efetivamente somente por altos níveis destes hormônios (Kitchener et al. 2004). Kitchener (2004), ao analisar em roedores a translocação nuclear de receptores de GC e a ligação ao DNA em diferentes estruturas cerebrais durante os eventos de estresse ou durante o período ativo do ciclo circadiano, encontrou diferenças significativas entre as regiões do córtex pré-frontal e do hipocampo. Apesar das concentrações extracelulares de GC nestas duas estruturas serem semelhantes, a translocação nuclear dos receptores de GC na região do hipocampo foi maior durante os eventos de estresse ou na fase ativa do ritmo circadiano (Kitchener et al. 2004).

A sensibilidade a GC pode variar com a idade. Idosos do sexo masculino apresentaram redução na sensibilidade a GC na produção de citocinas pró-inflamatórias, em comparação com controles jovens e idosos submetidos a tratamento de reposição de testosterona. O aumento da sensibilidade a GC após o estresse pode proteger o indivi-

duo dos danos causados pelo aumento das citocinas pró-inflamatórias, justificando a tendência à maior suscetibilidade à infecção no envelhecimento (Rohleder et al. 2002).

Outro fator que pode afetar a sensibilidade a GC é a exposição ao estresse crônico psicossocial. Bauer, em estudo com idosos cuidadores de pacientes com demência, constatou a redução na sensibilidade linfocitária a GC (Bauer et al. 2000). No entanto, não sabemos até que ponto esta alteração está associada ao processo de envelhecimento ou ao estresse psicossocial. Ainda, não sabemos se esta alteração periférica é correlata às mudanças centrais da sensibilidade do eixo HPA. Estas questões serão melhor exploradas nesta tese.

O desenvolvimento de métodos para avaliar a sensibilidade a GC em diferentes tecidos alvos ocorre em paralelo com a existência de variações inter e intraindividuais na sensibilidade a GC (Ebrecht et al. 2000). Um dos métodos mais comuns é a avaliação da sensibilidade do eixo HPA ao *feedback* negativo exercido pelo seu próprio produto final. Com este teste, denominado Teste de Supressão a Dexametasona (TSD), pode-se investigar a integridade do eixo HPA através da administração oral deste potente corticóide sintético. O resultado do mesmo pode ser interpretado como a sensibilidade a GC do eixo HPA. Indivíduos saudáveis apresentam uma supressão da produção endógena de cortisol pós-DEX e são denominados de supressores. Todos os métodos com o objetivo de medir a sensibilidade a GC baseiam-se na ativação do tecido em questão (caso não esteja ativado, mitógenos, por exemplo, podem ser empregados para estimular o mesmo) e a quantificação da sensibilidade por um fator mensurável antes e depois da administração de GC sintético em diferentes concentrações (Ebrecht et al. 2000). Com estes procedimentos pode-se chegar aos valores de inibição dose-dependentes, sendo possível interpretar como índice de sensibilidade a GC deste tecido em questão.

### **2.2.2.7. Outras implicações**

Devido à complexidade dos sistemas que compõem o nosso organismo, cada vez mais outros mecanismos e redes de interações entre os mesmos vêm sendo descritos na literatura com o intuito de desvendar os efeitos decorrentes da ativação prolongada do eixo HPA. O estresse crônico pode induzir a produção de proteínas de resposta da fase aguda (RFA) e subsequente um processo inflamatório crônico, com o aumento de IL-6, proteína-C reativa (PCR), resistência à insulina e culminando em quadros patológicos como a aterosclerose e diabetes do tipo II (Black 2003).

## **2.3. PSICONEUROIMUNOLOGIA**

A psiconeuroimunologia (PNI) estuda as complexas interações bidirecionais existentes entre o sistema imune e os sistemas nervoso central e autonômico. Mediadas por citocinas, neurotransmissores e hormônios, estas são de importância clínica relevante no envelhecimento, pois nesta fase em especial, as alterações significativas destes sistemas podem se refletir em comprometimentos de maior importância que levam a morbidade e a mortalidade (Solomon and Morley 2001). As interações são dependentes dos receptores específicos e das vias de sinalização das respectivas células alvo. Interações múltiplas de órgãos distantes aparecem durante o envelhecimento e podem contribuir de uma maneira dinâmica, não linear para a formação do fenótipo do idoso.

Pode-se ter uma noção da complexidade do estudo psiconeuroimunológico do envelhecimento ao tomar ciência da variabilidade interindividual das modificações endócrinas e imunes induzidas por estresse constatada em estudos recentes (Solomon and Morley 2001).

A interação do sistema neuroendócrino com o sistema imune pode ser exemplificada pela influência do sulfato de dehidroepiandrosterona na imunidade, uma vez que altos níveis deste hormônio estão associados ao aumento na proliferação de células T e B e nas atividades e efeitos de imunoglobulinas e citocinas (Solerte et al. 1999).

Por outro lado, altos níveis de estresse percebido, manejo (*coping*) ineficiente, depressão e reduzido suporte social podem estar associados a um maior dano imunológico. Os linfócitos e seus produtos, como as citocinas (pró-inflamatórias, principalmente), podem afetar a função e a estrutura do cérebro, comprometendo a cognição. Têm surgido evidências de que as alterações do sistema imune decorrentes do estresse inclusive possam potencializar os efeitos da dieta rica em lipídios e desencadear a formação de lesões ateroscleróticas e doenças cardiovasculares (Adams 1994).

Tanto a intensidade quanto a duração de um estressor estão correlacionados com a magnitude de sua seqüela imunológica, como a (Biondi 2001) redução da proliferação linfocitária, diminuição da atividade NK, altos níveis de anticorpos contra vírus latentes de herpes e baixa porcentagem de linfócitos T e T auxiliar e inclusive elevando a pressão arterial sistólica de homens cuidadores de pacientes com demência (Brodaty 1999;Ader et al. 2001). Tem sido relatado alto índice de morbidade psicológica em cuidadores cujos pacientes dependem do acompanhamento 24 horas dos mesmos. Os níveis de depressão e ansiedade destes cuidadores são mais elevados 14-47% em comparação com a população em geral. São comuns também os sentimentos de raiva e ressentimento nos cuidadores e estes podem gerar comportamentos violentos (Brodaty 1999). Além de reduzir a morbidade psicológica do cuidador, todo o apoio psicossocial ao familiar cuidador de paciente com DA pode também adiar a institucionalização do doente (Brodaty 1999).

Compreende-se a relevância do emprego de instrumentos que dimensionem o impacto subjetivo do fator estressor e avaliem tanto as respostas emocionais (ansiedade, depressão e ira) quanto o tipo de manejo aplicado à situação de estresse e o grau de suporte social (Biondi 2001). Cônjuges cuidadores que dispunham de escasso suporte social e os mais angustiados em relação aos comportamentos associados à demência apresentaram as mais significantes alterações na função imune (Kiecolt-Glaser and Glaser 1995). Stowell (2001), em estudo relacionando o estresse percebido e a imunidade

celular, constatou que o manejo ativo do estresse está associado positivamente na função imune e que o manejo de esquiiva, negativamente associado. Ambos estariam associados de maneira mais incisiva em indivíduos com altos níveis de estresse (Stowell et al. 2001). Esta relação psiconeuroimunológica torna-se particularmente significativa quando o foco é a população idosa, por causa das já citadas alterações decorrentes, não somente da imunossenescência, como também do envelhecimento do sistema endócrino.

#### **2.4. PROTOCOLO SENIEUR**

O protocolo SENIEUR (Litghart et al. 1984) (Anexo 1) foi desenvolvido pelo grupo EURAGE (Programa de Ação Combinada em Envelhecimento da Comunidade Européia) em 1984 e define critérios rigorosos de saúde para idosos e controles em estudos imunogerontológicos, permitindo a análise do processo de envelhecimento isoladamente. Os critérios de exclusão dos sujeitos incluem: uso de esteróides, fumantes (mais de 25 cigarros/dia), doenças virais nas duas semanas anteriores, dependência a álcool, imunodeficiências, alergias severas, doenças auto-imunes, câncer, doenças hematológicas, endócrinas, pulmonares, renais, hepáticas, gastrointestinais ou neurológicas (dados coletados por entrevista, exame físico e, quando necessário, por testes laboratoriais). Embora a sua aplicação seja freqüentemente um fator impeditivo para a participação na pesquisa, o Protocolo SENIEUR confere maior rigor aos estudos em torno de mudanças imunológicas no processo de envelhecimento humano. Seus critérios de exclusão proporcionam a isenção da interferência ambiental neste processo (Castle et al. 2001).

---

## **3. OBJETIVOS**

---

### **3.1. OBJETIVO GERAL**

Avaliar os efeitos psiconeuroimunológicos do estresse crônico em pessoas de meia-idade e idosas cuidadoras de pacientes de Doença de Alzheimer.

### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Em pessoas cuidadoras e não cuidadoras:

- Descrever o perfil emocional
- Comparar os níveis de cortisol salivar ao longo do dia
- Comparar os níveis de DHEAS salivar da primeira amostra do dia
- Estabelecer a razão entre cortisol/DHEAS
- Avaliar a proliferação de linfócitos T
- Avaliar a sensibilidade central a dexametasona
- Avaliar a sensibilidade periférica a glicocorticóides
- Estabelecer relações entre as variáveis imunológicas, psicológicas e hormonais

---

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

---

### 4.1. Sujeitos

Quarenta e um cuidadores primários estritamente (SENIEUR) saudáveis (40 - 82 anos ;  $60,56 \pm 1,81$ ) de pacientes com demência foram selecionados para fazer parte do estudo. Todos freqüentavam o Grupo de Apoio aos Familiares e Amigos de Pacientes com Alzheimer do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e do Grupo de Apoio e Aconselhamento coordenado pela Dra. Maria Cristina Cachapuz Berleze, cujas reuniões e palestras eram sediadas no Hospital São Lucas da PUCRS.

O recrutamento teve início no contato telefônico, quando foram feitos questionamentos quanto ao tipo de relação com o enfermo, ao tempo disponível para participar do estudo, se estava ou não sob tratamento farmacológico que pudesse impedir a sua participação e, sobretudo, sobre o seu interesse em colaborar nesta investigação. Na etapa seguinte foram realizadas as avaliações clínicas pela médica geriatra Dra. Maria Cristina Cachapuz Berleze. Durante as consultas, além do exame físico, foram colhidas informações clínicas que pudessem levá-los à exclusão (infecção, inflamação, neoplasia e outras condições que podem influenciar o sistema imune, ou então por interferência farmacológica). Estas informações, somadas aos dados laboratoriais obtidos através de exames de sangue e urina, foram analisadas para que estes cuidadores pudessem participar da investigação seguindo os rigorosos critérios de inclusão preconizados pelo Protocolo SENIEUR (Litghart et al. 1984), adotado para estudos imunogerontológicos.

Trinta e três controles saudáveis (40 - 90 anos ;  $60,27 \pm 2,46$ ), não cuidadores, foram selecionados para fazer parte do grupo controle, utilizando os mesmos critérios do Protocolo SENIEUR. Os participantes do grupo controle foram apresentados por conhecidos e não possuíam nenhuma atividade similar ao cuidado de pessoas com demência. Este critério garantiu a participação, no grupo experimental, apenas de pessoas

expostas a situações de estresse crônico do familiar cuidador. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (Anexo 2) e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 3) foi apresentado aos participantes e assinado pelos mesmos.

#### **4.2. Delineamento da pesquisa**

Esta pesquisa caracteriza-se por ser um estudo de observação transversal, com dados prospectivos.

#### **4.3. Critérios de Exclusão segundo protocolo SENIEUR**

O processo de seleção dos participantes teve início no primeiro contato telefônico quando foram feitas perguntas sobre o grau de parentesco e de envolvimento com o cuidado do paciente, as condições gerais de saúde (do cuidador), tratamento farmacológico em curso (do cuidador) e da disponibilidade de horário para participar do estudo, uma vez que o planejamento previa três dias de envolvimento do cuidador.

Uma vez selecionado neste contato telefônico, foi marcado o dia para a realização da avaliação clínica no consultório particular da Dra. Maria Cristina Cachapuz Berleze, médica geriatra (Anexo 7). Na consulta foi feito um *check-up* geral com todos os aspectos previstos no Protocolo SENIEUR, como a anamnese e o exame físico, incluindo as informações sobre algum tratamento farmacológico em curso que pudesse interferir neste estudo (Anexo 4). Os exames laboratoriais foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital São Lucas.

#### **4.4. Avaliação psicológica**

A avaliação psicológica foi realizada em colaboração com os grupos de pesquisa das professoras Dra. Lilian Milnitsky Stein e Dra. Irani Iracema de Lima Argimon, da Faculdade de Psicologia da PUCRS. No segundo dia do estudo, os cuidadores responderam questões referentes ao tempo de diagnóstico, número de horas dispensado diaria-



mente aos assuntos relativos ao cuidado e o nível de dependência dos familiares com demência. Foram coletadas informações também sobre o tipo de suporte social que dispunham para o cuidado, o nível de religiosidade (independente da crença) e as principais estratégias de enfrentamento utilizadas por eles.

Para ambos os grupos (cuidadores e controle), a depressão foi avaliada nos indivíduos de 40 a 59 anos através da aplicação do Inventário de Depressão de Beck (Beck *et al.* 1961), validado para o Brasil (Gorestein and Andrade 1998). As pessoas com mais de 60 anos de idade responderam a Escala de Depressão Geriátrica (Yesavage *et al.* 1982) (Anexo 5), este também validado para população idosa brasileira. O instrumento utilizado para avaliar a ansiedade foi o Inventário de Ansiedade Traço-Estado (Spielberger *et al.* 1979), previamente validado. O terceiro instrumento aplicado foi o Inventário de Sintomas de Stress para Adultos de Lipp (ISSL) (Lipp and Guevara 1994). Para acessar as habilidades de enfrentamento (*coping*) foi empregado o Inventário de Estratégias de *Coping* (Folkman and Lazarus 1985) (Anexo 6), adaptado em 1996 por Savóia. Todos os instrumentos psicométricos utilizados neste estudo foram aplicados por psicólogos ou por estudantes de psicologia, bolsistas treinados e sob orientação dos grupos de pesquisa da Faculdade de Psicologia da PUCRS.

#### **4.5. Coleta das amostras de saliva**

No segundo dia do estudo (Anexo 10) foram coletadas as amostras de saliva nos seguintes horários: entre 8-9h, 12-13h e 20-21h, sempre antes das refeições ou pelo menos 2 horas após a higiene bucal. No terceiro dia do estudo, uma amostra de saliva foi coletada de manhã, antes da primeira refeição do dia. Para as coletas de amostras de saliva foram utilizados pequenos rolos de algodão, previamente preparados e esterilizados para uso individual. Procurou-se instruir o participante para a correta coleta de saliva: colocar um dos pequenos rolos de algodão embaixo da língua e deixar por aproximadamente 3 minutos, até que fique saturado. Tirar o algodão da boca e colocar dentro de

uma seringa de 5 ml, após remover o êmbolo. Recolocar o êmbolo na seringa e pressionar, recolhendo a saliva em um tubo plástico com tampa (*eppendorf*) identificado com o código do participante no estudo, nome e horário da coleta. O volume mínimo de saliva coletada para cada horário foi de 0,5 mL. Os participantes foram instruídos para conservarem os frascos com as amostras de saliva sob refrigeração até que estas fossem recolhidas nas suas casas. As amostras foram mantidas em freezer -20°C até o processamento.

#### **4.6. Coleta de sangue periférico e obtenção das células mononucleares**

Logo após a coleta da primeira amostra de saliva, os participantes do estudo se dirigiram ao Laboratório de Análises Clínicas do Hospital São Lucas, onde foram coletados 20 mL de sangue heparinizado para as análises imunológicas, 2 ml para o processamento dos hemogramas (em tubos com anticoagulante EDTA) e uma alíquota de 3 mL para dosagens de creatinina, glicose, TGO e TGP (em tubos sem anticoagulante). Os hemogramas e as dosagens bioquímicas foram realizados no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital São Lucas da PUC, processados pelo método de automação nos equipamentos Coulter STKS e Sysmex SE 9500 (Roche). Os resultados destes exames laboratoriais foram avaliados para descartar a possibilidade de exclusão, segundo os critérios do protocolo SENIEUR.

As células mononucleares (PBMCs) do sangue periférico foram separadas por um gradiente de densidade (Ficoll-Histopaque) e a viabilidade estimada por exclusão de tripan-blue (>95% de células viáveis).

#### **4.7. Teste de supressão da dexametasona - TSD**

Todos os participantes deste estudo tomaram um comprimido de dexametasona (1 mg VO) às 23h do segundo dia do estudo. Os sujeitos foram classificados entre supressores e não supressores baseados nos níveis de cortisol salivar da manhã seguinte, às 8h. A detecção da não supressão no TSD foi definida pela concentração de cortisol

maior que 4,8 nM/L, no dia subsequente a TSD (Cook et al. 1986). Os indivíduos saudáveis devem suprimir a secreção endógena de cortisol, devido ao mecanismo de *feedback* exercido pela administração do glicocorticóide sintético.

#### **4.8. Dosagem hormonal**

As dosagens de cortisol e DHEAS salivares foram realizadas no Laboratório *Lab vitrus* (Porto Alegre, RS), em duplicata, pela metodologia de radioimunoensaio, utilizando o contador Gamma Counter 12 da EURO-DPC, e resultados calculados pelo software específico do equipamento.

O cortisol salivar foi dosado em duplicata pela metodologia de radioimunoanálise, em baterias seriadas com kit, Coat-A-Count Cortisol da DPC - MEDLAB, com anticorpos monoclonais específicos para cortisol.

As dosagens de DHEAS foram realizadas através de radioimunoanálise de fase líquida, analisadas em duplicatas e em baterias seriadas com kit da DSL-CPEI.

#### **4.9. Ensaios de proliferação linfocitária e sensibilidade a glicocorticóides**

A estimulação mitogênica provocada pelo PHA imita o processo natural de defesa quando linfócitos reconhecem antígenos estranhos ao organismo e são induzidos a proliferar (Bauer et al. 2002a).

Ensaios colorimétricos foram padronizados no nosso laboratório para investigar a proliferação de linfócitos T humanos, bem como a sensibilidade a glicocorticóides *in vitro* (Collaziol et al. 2001). As PBMCs foram cultivadas numa concentração final de  $1.5 \times 10^5$  células/poço em meio completo de cultura (RPMI-1640 suplementado com 0.5% gentamicina, 1% glutamina, 1% hepes e 10% soro fetal bovino) por 96h numa atmosfera de 5% CO<sub>2</sub> e 37°C. A capacidade de proliferação das células T foi avaliada através da estimulação com o mitógeno fitohemaglutinina (PHA 2, 1 e 0,5%). As PBMCs foram igualmente co-incubadas com PHA 1% e hormônios (corticosterona e dexametasona)

para a avaliação da sensibilidade das células T a esses produtos. Curvas de dose-resposta foram realizadas a partir de várias concentrações ( $10^{-4}$  a  $10^{-9}$  M) dessas substâncias.

A proliferação/viabilidade foi estimada a partir do ensaio colorimétrico modificado (Mosmann 1983) que utiliza um sal de tetrazólio (MTT) e possibilita correlacionar a absorvância com a quantidade de células viáveis. Nas últimas 4h de cultura, 5 mg/ml de MTT foi adicionado em todas as culturas. Após esse período, os cristais de formazan foram solubilizados completamente pela adição de dimetil-sulfóxido (DMSO). As absorvâncias foram, então, calculadas no leitor de ELISA com o filtro de 570 nm. O índice de sensibilidade CE50 (dose que suprime 50% da proliferação) foi calculado a partir de regressões não-lineares das curvas dose-resposta (Prism 4.0).

#### **4.10. Análise estatística**

Todas as variáveis foram testadas para normalidade de distribuição através do teste de Kolmogorov-Smirnov. Os níveis de cortisol ao longo do dia e proliferação foram analisados por análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas que incluiu uma variável de agrupamento (cuidadores versus controle) e uma variável das medidas analisadas (as três concentrações de hormônios). As diferenças entre as variáveis foram analisadas pelo teste *t* de Student ou pelo teste de Mann-Whitney para distribuições não-paramétricas. As relações entre as variáveis foram analisadas pelo teste de Pearson ou Spearman, quando a distribuição dos dados não apresentou normalidade. Regressões múltiplas foram realizadas com todas as variáveis que foram estatisticamente associadas com as variáveis endócrinas e imunológicas ( $p < 0,20$ ; método enter). Para as regressões múltiplas, as variáveis psicológicas (estresse, ansiedade e depressão) foram agrupadas num único escore (Psi) através da análise de componentes principais (PCA), correspondendo a 66% da variação. As diferenças de proporções entre os grupos foram analisadas pelo teste de contingência ( $\chi^2$ ). O nível de significância foi de  $\alpha = 95\%$ . Os dados foram

apresentados como médias  $\pm$  erro padrão (SE) e foram analisados no programa SPSS 11.0.

---

## 5. RESULTADOS

---

### 5.1. Características sócio-demográficas

Todos os sujeitos deste estudo foram submetidos ao rigoroso processo de seleção e considerados saudáveis, dentro dos critérios estabelecidos pelo Protocolo SENIEUR, adotado para estudos imunogerontológicos (Litghart *et al.* 1984). A partir de uma amostra de aproximadamente 330 cuidadores contatados, selecionamos 41 (32 sexo feminino, 9 sexo masculino) dos quais 21 tinham idades entre 40 e 59 anos ( $50,71 \pm 1,16$ ; meia-idade) e 20 cuidadores tinham mais de 60 anos ( $70,90 \pm 1,27$ ; idosos). Todos moravam junto com os enfermos e eram familiares de primeiro grau: 15 cônjuges (36,6%), 22 filhos (53,7%), 3 irmãos (7,3%) e um cunhado (2,4%). O diagnóstico da maioria dos pacientes com demência era a Doença de Alzheimer (95,12%) e os demais diagnosticados como portador de Demência de Lewy (2,44%) ou ainda sem diagnóstico conclusivo (2,44%). Os cuidadores dedicavam  $16 \pm 0,93$  horas por dia em atividades relativas ao cuidado dos pacientes. A média do tempo decorrido a partir do diagnóstico de demência era de  $4 \pm 0,46$  anos.

Os indivíduos do grupo controle foram selecionados entre os que faziam parte do círculo de amigos pessoais, ou de relacionamento profissional, ou foram apresentados por conhecidos. Trinta e três adultos saudáveis (26 sexo feminino, 7 sexo masculino), segundo os critérios do protocolo SENIEUR, fizeram parte de estudo. Quatorze pessoas apresentavam idades entre 40 e 59 anos ( $46,43 \pm 1,18$  anos) e dezenove tinham mais de 60 anos ( $70,47 \pm 2,07$  anos). Não houve diferença significativa entre cuidadores e controle em relação ao gênero dos indivíduos,  $\chi^2 = 0,006$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0,94$ . Outras características sócio-demográficas da amostra são apresentadas na tabela 2.

Tabela 2. Características sócio-demográficas dos participantes do estudo

	cuidadores		controle		p (grupos)	p (fx.etária)
	meia-idade (n=21)	idoso (n=20)	meia-idade (n=14)	idoso (n=19)		
idade (anos)	50,71 (± 1,16)	70,90 (± 1,27)	46,43 (± 1,18)	70,47 (± 2,07)	p = 0,92	p < 0,0001
homens/mulheres	3/18	6/14	1/13	6/13	p = 0,94	p = 0,04
IMC	26,01 (± 1,21)	26,78 (± 1,14)	22,68 (± 0,61)	28,99 (± 1,44)	p = 1,0	p = 0,02
<b>escolaridade</b>						
nível fundamental	19,0%	50,0%	14,3%	36,8%	p = 0,008	p = 0,02
nível médio	52,4%	30,0%	7,1%	21,1%		
nível superior	28,6%	20,0%	78,6%	42,1%		
<b>religião</b>						
católica	57,1%	65,0%	78,6%	84,2%	p = 0,14	p = 0,07
espírita	9,5%	20,0%	7,1%	15,8%		
protestante	9,5%	5,0%	14,3%	-		
agnóstico	23,8%	5,0%	-	-		
outras crenças	-	5,0%	-	-		
<b>suporte social</b>						
não tem suporte	38,1%	20,0%			ND	p = 0,32
familiar	38,1%	45,0%	ND	ND		
comunidade	9,5%	15,0%				
ambos	14,3%	20,0%				
<b>satisfação de vida</b>						
regular	33,0%	20,0%	-	-	p = 0,001	p = 0,01
regular	19,0%	45,0%	-	-		
tolerável	38,1%	15,0%	76,9%	57,9%		
boa	9,5%	20,0%	23,1%	42,1%		
ótima						

IMC = índice de massa corporal

A aplicação dos critérios do protocolo SENIEUR para a seleção dos voluntários torna-se relevante neste tipo de estudo, possibilitando a observação da influência do estresse crônico sobre os aspectos psiconeuroimunológicos do processo de envelhecimento, descartando a interferência de patologias e das terapias farmacológicas. Os resultados da avaliação clínica e dos exames laboratoriais dos voluntários foram fatores determinantes para a seleção final dos participantes da pesquisa (Tabela 2). Embora ambas as amostras avaliadas neste estudo apresentassem valores aproximados, verificamos o aumento da pressão arterial (PA) diastólica do grupo de cuidadores comparado com o grupo controle ( $p < 0,05$ ). Contudo, na comparação entre as faixas etárias, observou-se no grupo controle um aumento significativo nos idosos, tanto da PA sistólica ( $p < 0,0001$ ), quanto da PA diastólica ( $p = 0,01$ ), enquanto no grupo cuidador não foi constatada diferença na PA sistólica ( $p = 0,59$ ) nem na PA diastólica ( $p = 0,73$ ).

*Tabela 3. Médias ( $\pm$ SE) dos exames laboratoriais dos participantes selecionados para o estudo*

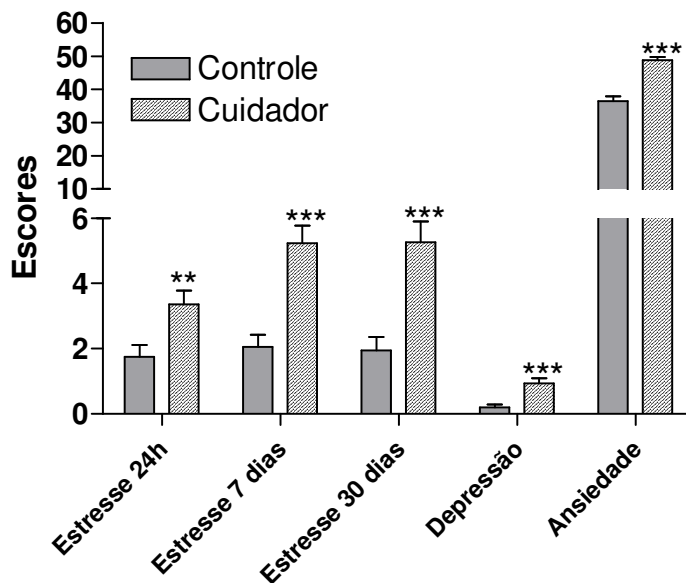
	<b>cuidador (n = 41)</b>	<b>controle (n = 33)</b>	<b>P</b>
peso (kg)	69,30 ( $\pm$ 2,35)	67,70 ( $\pm$ 2,66)	p = 0,54
altura (cm)	162,75 ( $\pm$ 1,52)	160,16 ( $\pm$ 1,34)	p = 0,22
IMC	26,38 ( $\pm$ 0,83)	26,38 ( $\pm$ 1,05)	p = 1,00
freqüência cardíaca (bpm)	75,42 ( $\pm$ 1,37)	71,35 ( $\pm$ 1,56)	p = 0,05
pressão arterial sistólica	13,60 ( $\pm$ 0,27)	12,94 ( $\pm$ 0,32)	p = 0,12
pressão arterial diastólica	8,33 ( $\pm$ 0,20)	7,79 ( $\pm$ 0,16)	p < 0,05
eritrócitos (milhões/ $\mu$ L)	4,55 ( $\pm$ 0,07)	4,38 ( $\pm$ 0,05)	p = 0,09
hematócrito (%)	41,12 ( $\pm$ 0,55)	40,20 ( $\pm$ 0,41)	p = 0,24
hemoglobina (g/dL)	14,15 ( $\pm$ 0,19)	13,35 ( $\pm$ 0,15)	p = 0,005
leucócitos (p/ $\mu$ L)	6514,63 ( $\pm$ 313,88)	6281,20 ( $\pm$ 314,94)	p = 0,62
TGO (U/L)	24,22 ( $\pm$ 1,12)	24,17 ( $\pm$ 1,05)	p = 0,97
TGP (U/L)	26,20 ( $\pm$ 1,55)	24,04 ( $\pm$ 2,25)	p = 0,42
creatinina (mg/dL)	0,94 ( $\pm$ 0,02)	0,98 ( $\pm$ 0,04)	p = 0,31
glicemia (mg/dL)	105,05 ( $\pm$ 4,23)	93,56 ( $\pm$ 2,37)	p = 0,05

IMC = índice de massa corporal; TGO = aspartato transferase; TGP = alanina transferase

## **5.2. Depressão, ansiedade e estresse**

Os resultados encontrados na avaliação psicométrica comprovam o modelo de estresse crônico no envelhecimento e indicam uma sobrecarga emocional do cuidador. Em particular, foi observado que os cuidadores são mais depressivos ( $t = 3,73$ ;  $df = 72$ ;  $p < 0,0001$ ), mais ansiosos ( $t = 6,94$ ;  $df = 71$ ;  $p < 0,0001$ ) e mais estressados tanto nas últimas 24 horas ( $t = 2,78$ ;  $df = 71$ ;  $p = 0,007$ ), quanto na última semana ( $t = 4,56$ ;  $df = 71$ ;  $p < 0,0001$ ) e no último mês ( $t = 4,11$ ;  $df = 71$ ;  $p < 0,0001$ ), em comparação aos controles (Figura 2). No entanto, as diferentes faixas etárias apresentavam níveis de depressão ( $p = 0,5$ ) e de ansiedade ( $p > 0,5$ ) semelhantes. Da mesma forma, não se observaram diferenças em nenhuma das medidas emocionais entre as faixas etárias dentro dos grupos.





**Figura 2.** Escores das avaliações psicológicas. Diferença estatisticamente significativa: \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,0001$  vs. grupo controle.

Foram observadas nos cuidadores correlações significativas entre as horas de cuidado com a depressão ( $r = 0,326$ ,  $p = 0,046$ ). O grau de escolaridade e a ansiedade também estavam correlacionados no grupo cuidador ( $r = 0,476$ ,  $p = 0,002$ ). No grupo controle foi constatada uma correlação negativa entre o grau de escolaridade e os níveis de depressão ( $r = -0,436$ ,  $p = 0,01$ ). Em relação à associação do gênero com ansiedade e depressão classificatórias, tanto de cuidadores como de controles, evidenciou-se uma tendência a correlação ( $\chi^2 = 4,92$ ,  $df = 2$ ,  $p = 0,09$  e  $\chi^2 = 6,38$ ,  $df = 3$ ,  $p = 0,09$ , respectivamente), mostrando as mulheres serem mais suscetíveis a estas condições psicológicas. Por sua vez, o tempo passado desde o diagnóstico da doença não se mostrou associado à ansiedade nem à depressão, mas parece estar relacionado a algumas estratégias de enfrentamento do estresse (*coping*). Segundo a avaliação realizada com os indivíduos de ambos os grupos, pôde-se constatar que as três estratégias de *coping* mais utilizadas foram suporte social, reavaliação positiva e resolução de problemas no grupo cuidador e resolução de problemas e suporte social no grupo controle (Tabela 4). Do total de 41 cui-

dadores, apenas 12 responderam o questionário, por ter sido aplicado fora dos dias estipulados para a coleta dos dados, diferentemente do que ocorreu no grupo controle, que respondeu junto com outros questionários. Devido ao número insuficiente de amostras disponibilizadas para a avaliação do *coping*, consideramos os resultados obtidos como dados preliminares merecedores de aprofundamento em estudos posteriores.

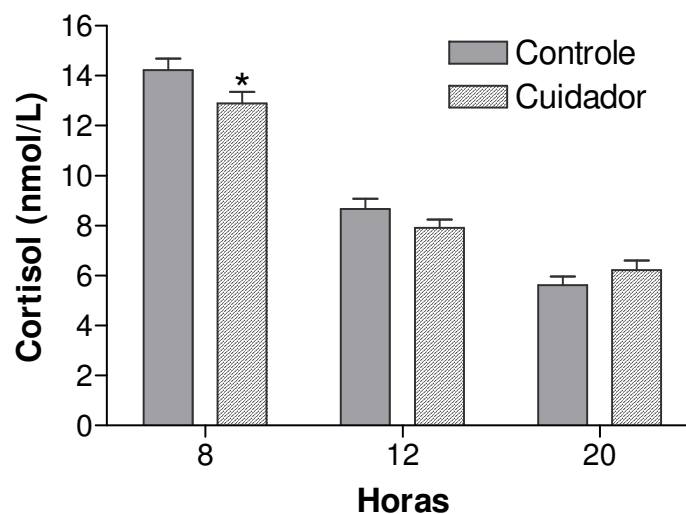
Tabela 4. Diferenças na utilização das estratégias de *coping* entre os grupos cuidador e controle.

<b>Estratégias de coping</b>	<b>controle</b>	<b>cuidador</b>	<b>p</b>
Confronto	15/30	9/12	p = 0,18
Autocontrole	20/30	9/12	p = 0,60
Afastamento	21/30	10/12	p = 0,83
Suporte social	23/30	11/12	p = 0,006
Aceitação da responsabilidade	15/30	8/12	p = 0,002
Fuga e esquiva	17/30	5/12	p = 0,18
Resolução de problemas	29/30	10/12	p = 0,45
Reavaliação positiva	21/30	11/12	p = 0,07

### 5.3. Cortisol salivar

O cortisol salivar foi avaliado como marcador biológico da resposta ao estresse emocional. A função basal do eixo HPA foi mensurada a partir da coleta salivar em três pontos ao dia (8h, 12h e 20h), permitindo avaliação de aspectos do ritmo circadiano. Os níveis de cortisol variavam significativamente entre as três amostras coletadas ao longo do dia,  $F(2,140) = 319,305$ ,  $p < 0,0001$ , tanto no grupo controle quanto no grupo cuidador. O pico de cortisol foi observado pela manhã e o nadir a noite, constituindo um padrão de variação circadiana normal para ambos os grupos. Os cuidadores apresentam níveis semelhantes de cortisol ao longo do dia em comparação com o grupo controle,

$F(1,70) = 1,86$ ,  $p = 0,18$  (Figura 3). Corroborando este resultado, não houve diferença dos níveis integrados de cortisol ao longo do dia, (área sob a curva (ASC) cortisol:  $98,12 \pm 3,64$  vs.  $103,05 \pm 3,92$  nmol/L/h, respectivamente,  $p = 0,36$ ). Foi observada uma interação entre os níveis de cortisol e grupo, indicando que os cuidadores apresentavam níveis de cortisol ligeiramente mais baixos às 8h em relação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ). A faixa etária e o gênero não se mostraram associados às flutuações dos níveis de cortisol nos três pontos do dia,  $F(1,70) = 3,58$ ,  $p = 0,06$  e  $F(1,70) = 1,53$ ,  $p = 0,22$ , respectivamente.

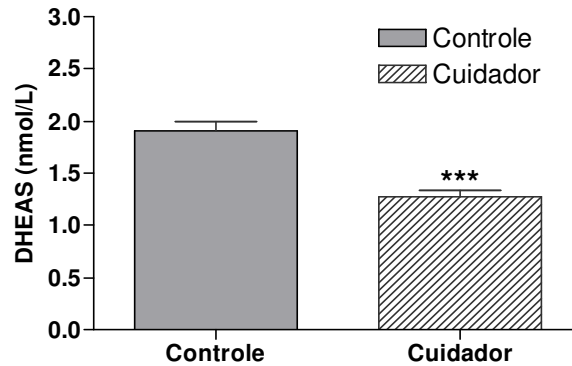


**Figura 3.** Níveis de cortisol salivar de controles ( $n = 33$ ) e cuidadores ( $n = 41$ )  $\pm$  SEM. Diferença estatisticamente significativa: \*  $p < 0,05$ .

#### 5.4. Sulfato de dehidroepiandrosterona salivar (DHEAS)

Em humanos, este hormônio esteróide representa um reservatório circulante de DHEA, a forma mais ativa. Entretanto, o DHEAS é mais freqüentemente dosado, pois, ao contrário do DHEA, apresenta nula ou quase nula variação circadiana (Ravaglia et al. 2002). Avaliamos os níveis salivares de DHEAS, já que este hormônio também parece se alterar em relação ao estresse emocional e possui funções antagônicas ao cortisol. Observamos uma diminuição significativa dos níveis deste hormônio no grupo cuidador,  $t = -6,10$ ,  $df = 72$ ,  $p < 0,001$  (Figura 4). A idade não influenciou os níveis salivares de DHEAS,

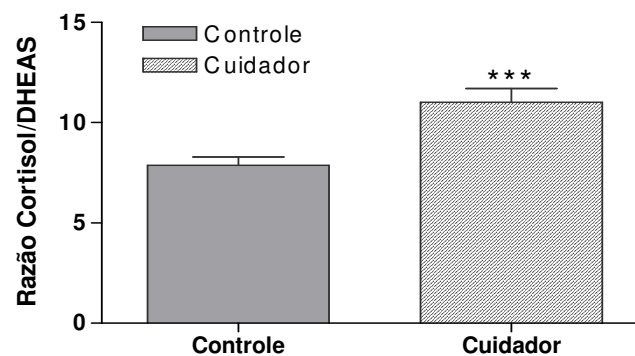
$p = 0,1$ . Em relação ao gênero, os homens apresentaram níveis mais altos de DHEAS ( $1,81 \pm 0,137$ ) comparado com as mulheres ( $1,49 \pm 0,069$ ),  $p < 0,05$ , confirmando dados de estudos anteriores (Orentreich et al. 1992).



**Figura 4.** Avaliação dos níveis de DHEAS salivar. Diferença estatisticamente significativa: \*\*\*  $p < 0,0001$

### 5.5. Razão cortisol/DHEAS

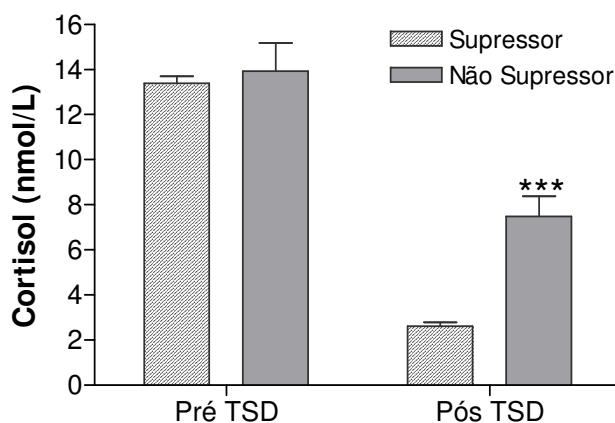
Acredita-se que a razão entre estes hormônios adrenais na ontogenia humana pode influenciar na eficiência da resposta fisiológica a situações de estresse, por terem efeitos opostos sobre os tecidos (Svec and Porter 1998). Os cuidadores ( $11,02 \pm 0,68$ ) apresentaram uma razão cortisol/DHEAS significativamente maior em relação aos controles ( $7,88 \pm 0,39$ ),  $p < 0.001$  (Figura 5).



**Figura 5.** Razão cortisol/DHEAS nos grupos investigados. Diferença estatisticamente significativa: \*\*\*  $p < 0,001$

## 5.6. Teste de supressão com dexametasona (TSD)

A sensibilidade central a glicocorticóides foi avaliada através da administração de 1 g de dexametasona (DEX) via oral, às 23 horas do segundo dia do estudo, seguida da avaliação dos níveis de cortisol salivar na manhã seguinte (Figura 6). Desta maneira, os sujeitos do estudo foram classificados em supressores e não supressores a DEX. Verificamos uma porcentagem significativamente maior de cuidadores não supressores (29,3%) em relação ao grupo controle (3%),  $\chi^2 = 8,69$ ,  $p = 0.004$ . A falta de supressão pode sugerir uma disfunção no controle do eixo HPA. A faixa etária não teve influência na resposta central a DEX,  $\chi^2 = 0,49$ ,  $p = 0,48$ . Os sujeitos supressores apresentavam níveis de cortisol pré TSD semelhantes aos não supressores ( $p > 0,05$ ).



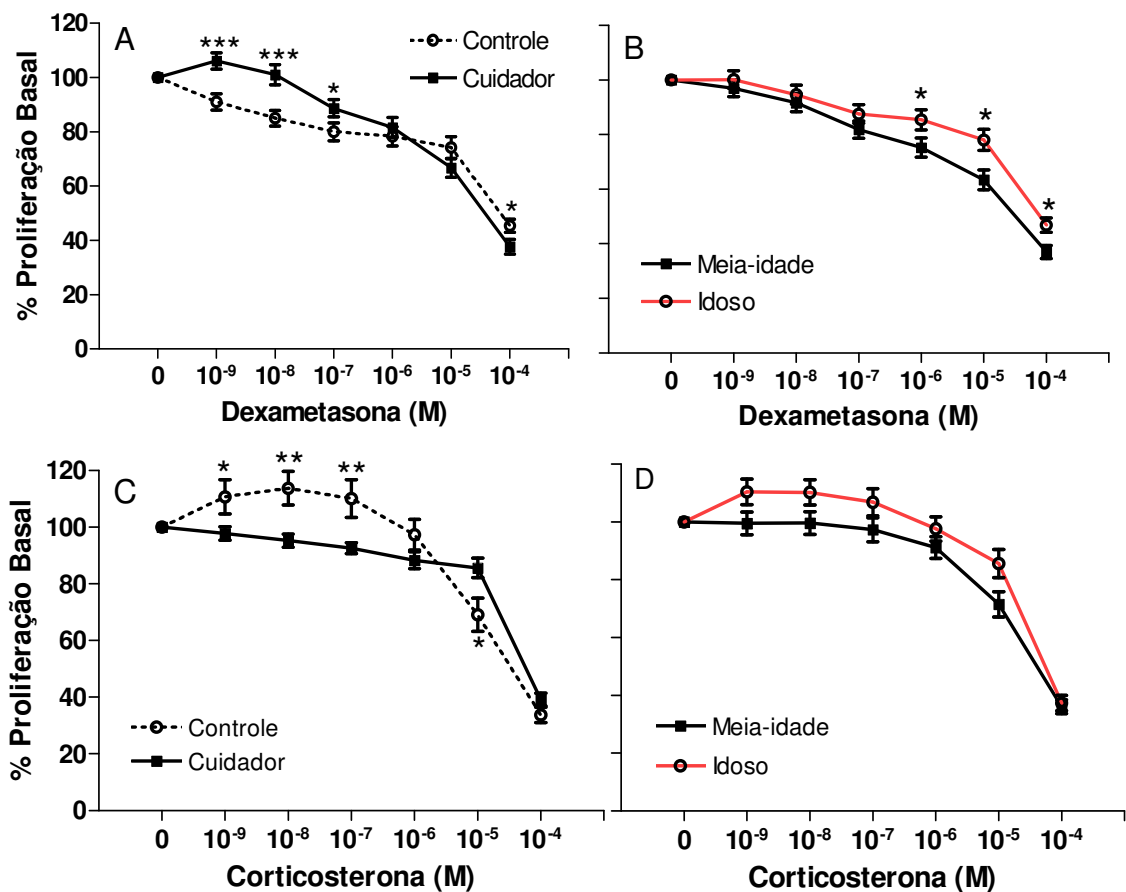
**Figura 6.** Níveis de cortisol salivar (8h) pré e após ingestão de DEX (1g, VO). Diferença estatisticamente significativa: \*\*\*  $p < 0,0001$  vs. supressor.

## 5.7. Sensibilidade periférica a glicocorticóides

Neste estudo, avaliamos a capacidade dos glicocorticóides em suprimir a proliferação linfocitária induzida por mitógeno como índice da sensibilidade periférica aos glicocorticóides. Os grupos cuidador e controle apresentaram uma sensibilidade linfocitária semelhante a DEX [ $F(1,56) = 1,78$ ,  $p = 0,19$ ], (Figura 8A) ou a corticosterona [ $F(1,53) = 2,68$ ,  $p = 0,1$ ] (Figura 8C). Contudo, foi observada uma interação entre os níveis de DEX ou CORT e grupo, indicando que os cuidadores apresentavam células mais resis-

tentes a DEX e mais sensíveis a CORT nas concentrações mais baixas dos glicocorticóides.

Ao comparar as duas faixas etárias, os idosos apresentaram uma menor sensibilidade linfocitária aos glicocorticóides *in vitro* [DEX:  $F(1,56) = 4,48$ ,  $p < 0,05$  ou corticosterona:  $F(1,56) = 2,92$ ,  $p = 0,09$ ]. Em relação a DEX, as células do idoso foram mais resistentes nas concentrações mais diluídas do glicocorticóide,  $p = 0,06$  (Figuras 8B e 8D). O gênero não se mostrou relacionado para ambos os tratamentos: DEX ( $p = 0,5$ ) e corticosterona ( $p = 0,3$ ).

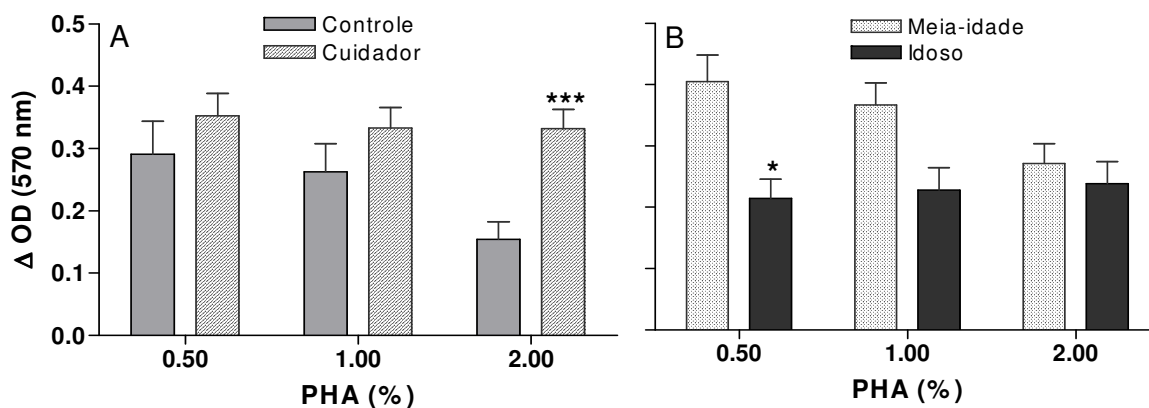


**Figura 8.** Sensibilidade linfocitária *in vitro* a glicocorticóides. Diferenças estatísticas: \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$  e \*  $p < 0,05$  vs. controle

## 5.8. Proliferação celular

Neste estudo, avaliamos a proliferação *in vitro* das células T induzida por mitógeno (PHA) como indicador da imunidade celular inespecífica. Os níveis de proliferação linfocitária variavam significativamente entre as três concentrações de mitógeno,  $F(2,110) = 7,51$ ,  $p = 0,001$ . Os cuidadores mostraram uma maior capacidade de expansão clonal em relação aos indivíduos do grupo controle,  $F(1,55) = 15,17$ ,  $p < 0,0001$  (Figura 7). Corroborando com este achado, a área sob a curva da proliferação foi significativamente maior no grupo cuidador em relação ao controle (ASC PHA:  $0.50 \pm 0.04$  vs.  $0.35 \pm 0.06$  OD, respectivamente,  $p < 0,05$ ). Também encontramos uma interação significativa entre as concentrações de PHA \* grupo ( $p < 0.01$ ), indicando que a proliferação linfocitária se encontra, sobretudo, aumentada no grupo cuidador na concentração de PHA 2%.

Em relação às faixas etárias, foi observado que os idosos apresentavam uma proliferação significativamente menor do que os indivíduos de meia-idade,  $F(1,55) = 6,84$ ,  $p = 0,01$ . Observou-se também que nos cuidadores de meia-idade, a concentração do mitógeno teve influência nos níveis de proliferação celular,  $F(2,11) = 4,80$ ,  $p = 0,01$  (Figura 7).

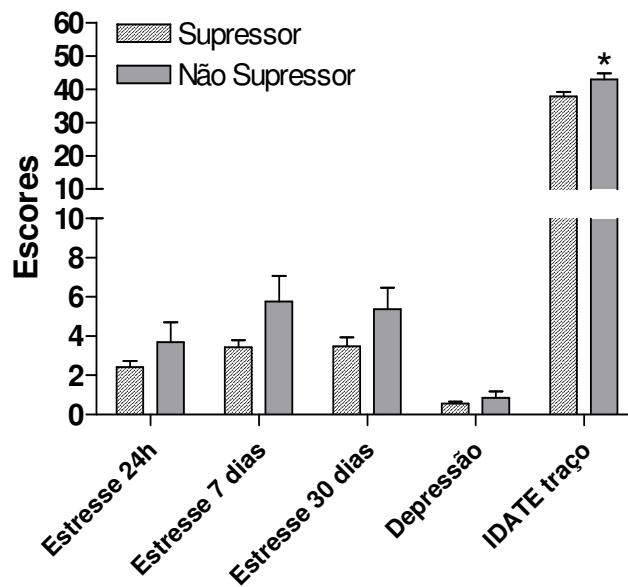


**Figura 7.** Proliferação das células T. As barras representam a OD de culturas estimuladas – OD de culturas não estimuladas. PHA = fitohemaglutinina. Diferenças estatísticas: \*\*\*  $p < 0,0001$ , \*  $p < 0,05$ .

## 5.9. Diferenças entre supressores vs. não-supressores a DEX

Já que os cuidadores apresentaram uma proporção maior de indivíduos não supressores ao TSD, investigamos se alguma variável psicológica, hormonal ou imunológica estava associada a este traço.

Os indivíduos não supressores a DEX apresentaram-se mais estressados do que os supressores, embora houvesse apenas uma tendência estatística para as variáveis de estresse ( $p = 0,10$ ). Os sujeitos não supressores apresentaram níveis ligeiramente mais elevados de ansiedade IDATE traço em comparação aos sujeitos supressores,  $p < 0,05$  (Figura 9).

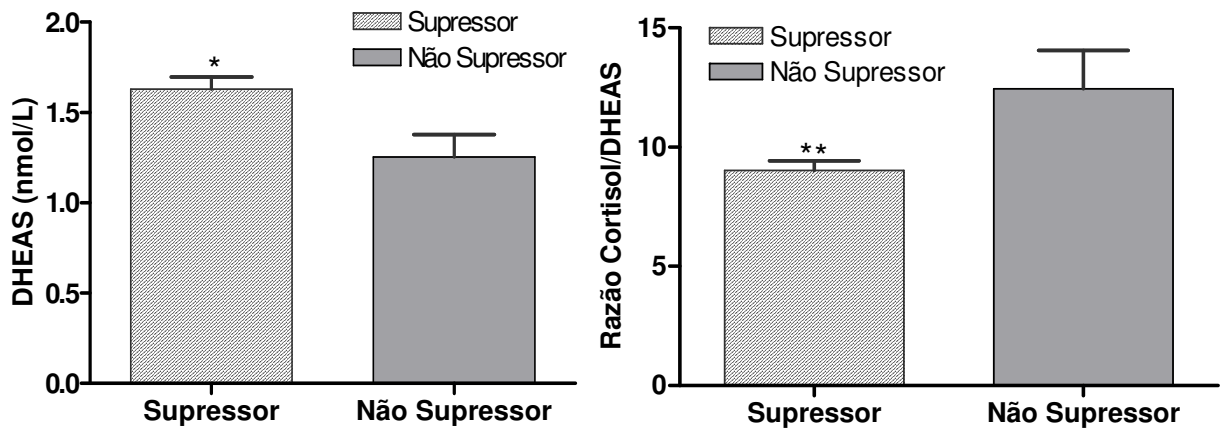


**Figura 9.** Escores psicométricos entre supressores e não supressores a DEX. Diferenças estatísticas: \*  $p < 0.05$ .

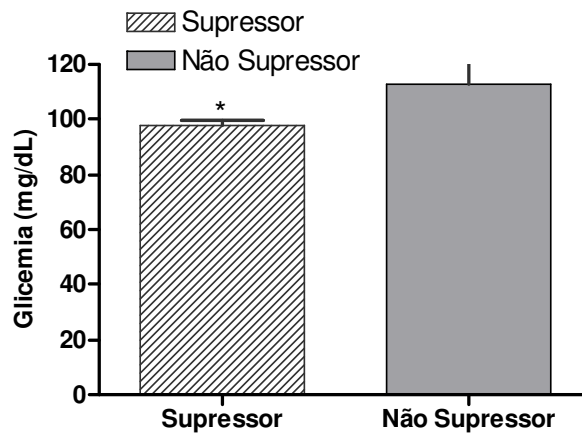
Com respeito às variáveis endócrinas, o cortisol salivar não apresentou diferença significativa entre supressores e não-supressores,  $F(1,72) = 0,142$ ,  $p = 0,71$ . Observou-se que os indivíduos não-supressores apresentavam níveis mais baixos de DHEAS e uma tendência para razão cortisol/DHEAS mais aumentada em relação aos sujeitos



supressores a DEX (Fig.10). A glicemia revelou uma diferença significativa ( $t = -2,22$ ,  $df = 64$ ,  $p = 0,03$ ) entre supressores e não-supressores, apresentando níveis mais altos de glicose no último (Fig. 11).



**Figura 10.** Níveis de DHEAS e cortisol salivares dos supressores e não-supressores



**Figura 11.** Taxas glicêmicas de supressores e não-supressores

Não houve diferença significativa entre supressores e não supressores quanto a proliferação linfocitária induzida por PHA [ $F(1,55) = 2,33$ ,  $p = 0,13$ ], nem em relação a sensibilidade à DEX [ $F(1,58) = 1,76$ ,  $p = 0,19$ ] ou à corticosterona [ $F(1,55) = 0,99$ ,  $p = 0,32$ ], após estimulação com o mitógeno. Na ausência do mitógeno, não houve diferença na sensibilidade celular a DEX entre os sujeitos supressores ou não supressores a DEX *in vivo*.

## 5.10. Interrelações entre as variáveis

As interrelações entre as variáveis demográficas (idade e grau de escolaridade), psicológicas, endócrinas e imunológicas foram inicialmente avaliadas através da análise univariada (i.e. correlação de Pearson). Para as correlações, as variáveis psicológicas (IDATE estado, depressão e estresse Q1, Q2 e Q3) foram agregadas numa única variável (Psi). Da mesma forma, calculou-se a área sob a curva das variáveis repetidas (i.e. cortisol, proliferação e sensibilidade a glicocorticóides).

Foi verificado que a carga emocional (Psi) influenciava negativamente nos níveis de DHEAS salivar ( $r = -0,24$ ,  $p < 0,05$ ). As demais variáveis não influenciavam nos níveis de DHEAS. As variáveis demográficas e psicológicas não influenciavam nos níveis de cortisol (i.e. ASC cortisol), todos  $p > 0,20$ .

Todavia, verificamos que a carga emocional influenciava positivamente a proliferação linfocitária (ASC PHA),  $r = 0,3$ ,  $p < 0,05$ . A sensibilidade periférica aos GCs não mostrou relação com estes fatores emocionais (DEX:  $r = -0,13$ ,  $p = 0,32$ ; corticosterona:  $r = -0,016$ ,  $p = 0,91$ ). A idade esteve correlacionada negativamente com a ASC PHA ( $r = -0,32$ ,  $p = 0,01$ ) e positivamente associada com a resistência a DEX ( $r = 0,26$ ,  $p < 0,05$ ), mas não com corticosterona ( $r = 0,17$ ,  $p = 0,19$ ).

Em seguida, correlacionamos os níveis hormonais com as variáveis imunológicas. A variável DHEAS não esteve correlacionada com as variáveis de proliferação ( $p = 0,15$ ) ou sensibilidade a DEX ( $p = 0,68$ ) ou corticosterona ( $p = 0,61$ ). Da mesma forma, o cortisol salivar ou razão cortisol/DHEAS não estiveram associados com as variáveis imunológicas. Para discriminar as correlações independentes entre as variáveis analisadas, foram realizadas análises de regressão múltipla das variáveis com  $p < 0,20$ . Verificamos que a carga emocional (Psi;  $\beta = 0,28$ ,  $p < 0,05$ ) e idade ( $\beta = -0,31$ ,  $p < 0,05$ ) influenciavam independentemente a proliferação linfocitária.

---

## 6. DISCUSSÃO

---

O estudo do estresse crônico em humanos como desestabilizador da homeostase interna requer uma cuidadosa análise das variáveis psicológicas, endócrinas, imunológicas e das suas inter-relações. A abordagem psiconeuroimunológica do estresse crônico do familiar idoso cuidador de pacientes com Alzheimer remete à compreensão da complexidade de interações que ocorrem nestes indivíduos.

A vida do cuidador de um familiar com demência torna-se um universo de constante estresse desde antes do diagnóstico, passando pela aceitação do mesmo e a condução do dia-a-dia pontilhado de situações inesperadas. A realidade muitas vezes é agravada com o surgimento de conflitos dentro da família e as dificuldades em torno do planejamento do futuro.

Em se tratando do cônjuge, estes aspectos tornam-se mais desafiadores, uma vez que ocorre a perda do companheiro com quem estava acostumado a compartilhar decisões, convivendo com o sentimento de luto em vida (Kiecolt-Glaser et al. 1991). Caso não seja o cônjuge, muitas vezes o cuidado é assumido pelos filhos, geralmente adultos na meia-idade ou já idosos. A perda da habilidade funcional e o desenvolvimento de distúrbios comportamentais e de dependência constituem regra nos pacientes com demência que sobrecarregam o cuidador, podendo causar distúrbios psicológicos, principalmente depressão (Brodaty 1999). Por maior que seja o esforço do cuidador em compreender o estado de saúde do enfermo, é inevitável que aflorem emoções negativas decorrentes desta constante tensão.

Inúmeros estudos têm abordado diferentes aspectos do cuidador de pacientes com demência, particularmente a doença de Alzheimer, como um modelo de estresse crônico em humanos (Kiecolt-Glaser et al. 1987;Kiecolt-Glaser et al. 1991;Kiecolt-Glaser et al. 1996;Mills et al. 1997;Shaw et al. 1997;Mills et al. 1999;Vedhara et al. 1999;Bar-

David 1999;Stowell et al. 2001;Grant et al. 2002;Vedhara et al. 2002;Kiecolt-Glaser et al. 2003;Bauer et al. 2003;Shaw et al. 2003;Wright et al. 2004;Känel et al. 2005;Mausbach et al. 2006). Embora a doença de Alzheimer esteja associada a cenários sombrios em qualquer lugar do mundo, não é raro ocorrer divergências entre os resultados obtidos nas pesquisas envolvendo os cuidadores, devido a diferentes metodologias empregadas ou a diferenças culturais existentes entre os povos, suas crenças e costumes (Randi S.Jones et al. 2005), refletindo nos impactos causados sobre a saúde do familiar cuidador, o seu olhar para o doente e para a doença (Izal et al. 2005).

Segundo Kiecolt-Glaser *et al.*(Kiecolt-Glaser et al. 1991), há duas hipóteses centrais em torno das alterações verificadas no cuidador devidas ao impacto longitudinal deste estresse crônico. A primeira hipótese sugere a degradação progressiva da saúde do cuidador, à medida que a demência avança. A segunda sugere a capacidade adaptativa do cuidador às demandas da situação, podendo atingir a estabilidade ou até um incremento nas suas condições gerais. A grande maioria dos estudos sobre estresse crônico em humanos tem comprovado a primeira hipótese (Kiecolt-Glaser et al. 1987;Kiecolt-Glaser et al. 1991;Kiecolt-Glaser et al. 1996;Mills et al. 1997;Shaw et al. 1997;Mills et al. 1999;Vedhara et al. 1999;Bar-David 1999;Stowell et al. 2001;Grant et al. 2002;Vedhara et al. 2002;Kiecolt-Glaser et al. 2003;Bauer et al. 2003;Shaw et al. 2003;Wright et al. 2004;Känel et al. 2005;Mausbach et al. 2006). A hipótese da adaptação tem sido apresentada em poucos estudos, porém, uma importante revisão de Gerald Huether (Huether 1996) sobre a Síndrome de Adaptação Central amplia a nossa visão sobre a potencialidade do cérebro humano de sofrer modificações adaptativas quando inserido num contexto de estresse psicossocial.

A presente investigação é o primeiro estudo multidisciplinar sobre o impacto do estresse crônico do cuidador de familiares com doença de Alzheimer na saúde dos idosos brasileiros. A adoção do Protocolo SENIEUR (Castle et al. 2001) neste estudo possibilitou a análise da interferência do estresse crônico no processo de envelhecimento

sem as variáveis ambientais como os processos patológicos ou terapias farmacológicas que poderiam influenciar os processos biológicos. Através destes critérios rigorosos de saúde recrutamos apenas 12% do total de cuidadores contatados. Aproximadamente 90% dos cuidadores idosos não puderam ser incluídos no estudo por não serem considerados “saudáveis” segundo o Protocolo SENIEUR. Contudo, este rigor no recrutamento muitas vezes pode não refletir a realidade da população geral de idosos, freqüentemente acometidos por várias doenças.

### **6.1. Os cuidadores apresentam uma sobrecarga emocional**

Neste estudo foi observado que os cuidadores, tanto os de meia-idade como os idosos, são significativamente mais ansiosos, estressados e deprimidos, se comparados aos indivíduos do grupo controle, confirmando o modelo de estresse crônico (Kiecolt-Glaser et al. 1987; Kiecolt-Glaser et al. 1991; Mills et al. 1997; Bauer et al. 2000; Grant et al. 2002; Kiecolt-Glaser et al. 2003). Nossos resultados corroboram a constatação de Bauer e col. (Bauer et al. 2000) de que o tempo despendido no cuidado diário e o tempo decorrido do diagnóstico de demência não influenciam o estado emocional dos cuidadores. Com isto, podemos constatar que não é o cuidado em si, como tarefa, nem o tempo para se habituar ao diagnóstico que vão maximizar ou atenuar o sentimento de luto em vida (Kiecolt-Glaser et al. 1991).

Paralelamente às alterações emocionais, a pressão arterial diastólica dos cuidadores era mais alta que a dos controles, confirmando os achados da literatura (Shaw et al. 1999; Grant et al. 2002; Shaw et al. 2003). Entre as faixas etárias (meia-idade e idoso) do grupo controle, observou-se um aumento significativo nos idosos, tanto da PA sistólica quanto da PA diastólica. Porém, entre os estressados cronicamente, o efeito da idade desapareceu, não havendo diferenças nas PA do cuidador meia-idade e cuidador idoso.

No estudo longitudinal de William Shaw e col. (Shaw et al. 2003), onde a PA dos cuidadores foi medida semestralmente por sete anos, foi constatado que o estresse

crônico do cuidador de pacientes com DA pode impactar negativamente na saúde cardiovascular dos cuidadores idosos. Nos cuidadores com sentimentos mais intensos de hostilidade e com menos expressividade emocional observou-se maior risco de hipertensão arterial. Estudos anteriores reportam associação da redução da densidade mineral óssea com a depressão, principalmente em mulheres (Coelho et al. 1999).

## **6.2. A sobrecarga emocional do cuidador não eleva os níveis de cortisol**

A sobrecarga emocional do cuidador não se refletiu nos níveis de cortisol. Embora o cortisol salivar seja considerado importante marcador biológico do estresse crônico, seus níveis apresentaram pouca diferença entre os grupos cuidador e controle, conflitando com os resultados de estudos prévios (Vedhara et al. 1999; Bauer et al. 2000). Os cuidadores apresentaram níveis ligeiramente mais baixos pela manhã (8h) em comparação aos controles. Um estudo anterior com cuidadores adultos de pacientes com esclerose múltipla também não encontrou diferenças nos níveis de cortisol salivar (Vedhara et al. 2002). Além disso, Mills e colaboradores relataram aumento nos níveis de noradrenalina plasmática mas níveis de cortisol inalterados em idosos cuidadores de pacientes com Alzheimer (Mills et al. 1997). Estas discrepâncias podem ser explicadas por diferenças na percepção/adaptação ao estresse e qualidade de saúde dos sujeitos.

O cérebro, ao perceber a situação como estressante, desencadeia uma série de respostas comportamentais e fisiológicas para a manutenção da homeostase (alostase), mas nem sempre resultam em adaptação neuroendócrina (McEwen 2000). O aumento dos níveis de cortisol (Vedhara et al. 1999; Bauer et al. 2000) e de pressão arterial (Shaw et al. 1999) constatados em estudos prévios com cuidadores de pacientes com DA podem ser interpretados como a expressão de sobrecarga alostática na ausência de uma efetiva adaptação à demanda estressante. A percepção do evento como estressante e a postura do indivíduo perante esta situação podem ser determinantes para a resposta fisiológica. Estes dois fatores são bastante pessoais, pois são influenciados pelo temperamento, pelas experiências individuais, pela genética e pelo comportamento (McEwen

2000). A complexidade da fisiologia do eixo HPA levanta questionamentos a respeito da sua ativação após exposição prolongada ao estresse. Estudos relatando níveis inalterados de cortisol após sua ativação crônica sugerem que a habituação do eixo HPA conduziria a um distúrbio no sistema regulatório central (Rosmond and Bjorntorp 2000).

Segundo Gerald Huether (Huether 1996), a modificação adaptativa a um desafio crônico seria dependente de experiências prévias do indivíduo e ocorreria devido ao alto grau de plasticidade dos circuitos neuronais do cérebro de vertebrados superiores em resposta a este estímulo. Os mecanismos envolvidos neste processo incluiriam não só as adaptações comportamentais, mas também adaptações cognitivas, emocionais e mudanças na sensibilidade de componentes individuais da resposta neuroendócrina ao estresse. As respostas adaptativas seriam dependentes do estresse e da sua severidade, sendo primariamente relacionadas mais à adaptação cognitiva e comportamental do que à adaptação do sistema noradrenérgico e do eixo HPA para o estímulo crônico.

As características do estímulo estressante como a natureza, a intensidade, a duração e a frequência podem determinar o desfecho das alterações neuroendócrinas, podendo apresentar respostas exacerbadas, inalteradas (habitadas) ou até mesmo diminuídas (McEwen 1998). O que foi observado neste estudo com a ausência de alteração nos níveis de cortisol sugere a ocorrência de habituação endócrina que pode ser decorrente dos fatores cognitivos, da aprendizagem e da aquisição de estratégias comportamentais de enfrentamento (Huether 1996). Neste contexto, as estratégias de enfrentamento adotadas pelo cuidador no decorrer das diferentes fases da DA podem atenuar as reações no organismo.

Pôde-se constatar neste estudo que as duas estratégias de enfrentamento do estresse (*coping*) mais utilizadas pelos cuidadores foram o suporte social e a reavaliação positiva. Em particular, a percepção de suporte social pode contribuir para atenuar os efeitos do estresse, diminuindo a sobrecarga e refletir na inibição da reatividade neuroen-

dócrina (Lutgendorf and Costanzo 2003). O suporte social pode reduzir estes riscos por meio de diferentes mecanismos, tais como reduzir o impacto do estressor, influenciar na percepção de quanto uma experiência é ameaçadora e também influenciar na trajetória de um transtorno surgido como resposta ao estressor (Savoia 2000). As estratégias de *coping* podem atenuar os sintomas depressivos do cuidador (Mausbach et al. 2006), aliviar o sentimento de luto após a morte do doente (Grant et al. 2002) e aumentar a imunidade celular (Stowell et al. 2001).

A resposta neuroendócrina ao estresse tende a surgir se os mecanismos e estratégias utilizados pelo indivíduo para o controle do desafio não forem eficientes para impedir a ativação do sistema central de resposta e está relacionada ao senso de controle do indivíduo sobre a situação estressante (Huether 1996). Isowa *et al.* (Isowa et al. 2006) numa abordagem sobre a capacidade de controle do estresse e sua implicação na modulação das funções autonômica e endócrina, refere-se a aspectos da arquitetura neuroanatômica a serem considerados. O córtex orbitofrontal (COF) do lobo frontal recebe inserções do córtex associativo sensorial de todas as modalidades e de estruturas límbicas como a amígdala e o hipocampo. Suas conexões com o hipotálamo e a substância cinzenta do periaqueduto estão implicadas na modulação da função autonômica e endócrina (Isowa et al. 2006). O circuito do COF ao avaliar o grau da capacidade de controlar uma situação regularia a atividade dos sistemas autonômico e endócrino a fim de adequar a demanda. Ainda segundo este estudo, a predominância da incapacidade de controle de uma situação poderia implicar na elevação dos níveis de catecolaminas e GC (Isowa et al. 2006).

As características da amostra do presente estudo poderiam explicar a ausência de aumento nos níveis de cortisol salivar dos cuidadores em relação aos controles. Os cuidadores participantes deste estudo são oriundos dos Grupos de Apoio aos Familiares e Amigos de Pacientes com Alzheimer. Seu perfil é de pessoas em busca de soluções e apoio para melhor entender e enfrentar os problemas do seu familiar enfermo,



adotando então o comportamento estratégico de agir e não simplesmente reagir. Pela visão de Huether (Huether 1996), quanto mais ações desta espécie forem adotadas, mais vias neuronais e conexões sinápticas poderiam se envolver em comportamentos adaptativos de enfrentamento do estresse.

Níveis de cortisol estáveis com variação circadiana beneficiam a saúde do cuidador, pois a ativação excessiva do eixo HPA refletida na hipersecreção do cortisol favorece a patogênese. A elevação crônica de GC pode ser fator desencadeador da expressão da sobrecarga alostática como hipertensão, obesidade abdominal, perda de densidade óssea, perda de massa muscular, supressão da resposta imune, falhas na memória e atrofia de estruturas cerebrais, como os dendritos hipocámpais (McEwen 2003). No entanto, não podemos descartar a participação de outros hormônios do estresse não investigados neste estudo, tais como as catecolaminas, neuropeptídeos, ouabaína e opióides endógenos.

### **6.3. O estresse crônico reduz os níveis de DHEAS**

Observamos que o estresse crônico do cuidador de paciente com DA reduz os níveis de DHEAS. Não se observou diferença no nível de DHEAS entre as faixas etárias no grupo cuidador. Porém, os controles idosos revelaram níveis significativamente mais baixos de DHEAS comparados aos controles de meia-idade, corroborando com dados da literatura (de Bruin, VMS et al. 2002; Ravaglia et al. 2002; Luz et al. 2003). Em relação ao gênero, os homens apresentaram níveis mais altos de DHEAS comparado com as mulheres em ambos os grupos, confirmando dados de estudos anteriores (de Bruin, VMS et al. 2002; Ravaglia et al. 2002; Luz et al. 2003). Estes dados sugerem que o estresse crônico pode mimetizar uma importante alteração endócrina do envelhecimento.

O estudo de Luz *et al.* (Luz et al. 2003) revelou haver dificuldade de dissociar as alterações endócrinas (aumento de cortisol e redução de DHEA) observadas no envelhecimento com as causadas pelo estado emocional. Em nosso estudo, observou-se que

no grupo controle houve redução de DHEAS nos idosos em comparação aos adultos de meia-idade e que no grupo estressado cronicamente não foi possível constatar diferença dependente de idade. O fato dos cuidadores de meia-idade não apresentarem níveis mais elevados de DHEAS do que os seus pares idosos sugere o desencadeamento precoce da senescência devido ao esgotamento da capacidade de adaptação do organismo pelo efeito de um estresse prolongado (Sapolsky et al. 1986).

Ao comparar os níveis de DHEAS e de cortisol em pacientes de meia-idade com depressão sob tratamento farmacológico, Assies e colaboradores (Assies et al. 2004) constataram que o DHEAS pode ser um indicador mais sensível da depressão e da severidade dos sintomas do que o cortisol em pacientes clinicamente deprimidos. Numa mesma linha de raciocínio, Dessein e colaboradores (Dessein et al. 2000), ao constatar baixos níveis de DHEAS, mas níveis inalterados de cortisol nos pacientes com fibromialgia sugeriram que a concentração de DHEAS seria um marcador mais sensível da função do eixo HPA do que a liberação de GC. Acrescentou ainda que este perfil endócrino poderia representar um fator de risco para a evolução desta doença, podendo ser associado a queixas de dores musculares persistentes em situações de estresse crônico.

Apesar do cortisol e do DHEAS apresentarem padrões de liberação distintos, ambos são regulados pelo ACTH. Pode haver a dissociação na regulação destes hormônios em casos de estresse agudo (Schwartz 2002), estresse crônico ou doenças graves (Assies et al. 2004), sugerindo alteração na rota metabólica do pregnenolona adrenal, artifício bioquímico necessário para a manutenção da homeostase durante o estresse crônico (Schwartz 2002).

#### **6.4. O significado da razão cortisol/DHEAS**

No idoso observa-se redução da produção de DHEAS (de Bruin, VMS *et al.* 2002;Butcher et al. 2005) e um aumento nos níveis de cortisol (Deuschie *et al.* 1997;Schwartz 2002;Luz et al. 2003). Nesse sentido, foram observados valores da razão

cortisol/DHEAS maiores em cuidadores em relação aos controles, apesar dos níveis de cortisol não terem apresentado diferenças entre os dois grupos. Estes resultados confirmam os dados constantes na literatura, uma vez que os cuidadores do nosso estudo apresentaram maiores indícios de depressão se comparados aos controles (Herbert 1998).

Como o DHEAS representa o antagonista natural do cortisol, a razão cortisol/DHEAS pode dar uma noção do balanço endócrino no sistema nervoso central. A redução de DHEAS observada durante o processo de envelhecimento tende a potencializar os prejuízos causados pelo estresse crônico, aumentando a exposição do ambiente cerebral aos efeitos neurotóxicos do excesso de cortisol e dos análogos do glutamato (Herbert 1998). Valores aumentados da razão cortisol/DHEAS podem estar relacionados com a patofisiologia da depressão (Herbert 1998) e deficiência cognitiva (de Bruin, VMS *et al.* 2002). Além disso, foram associados com a redução da geração de superóxidos por neutrófilos, com um aumento na incidência de infecções bacterianas (Butcher *et al.* 2005) e com doenças neurodegenerativas (de Bruin, VMS *et al.* 2002).

Em situações pós-trauma foi constatado um aumento sete vezes maior da razão cortisol/DHEAS em idosos em relação aos jovens nas mesmas situações, o que poderia explicar a maior susceptibilidade do idoso em contrair infecções bacterianas (Butcher *et al.* 2005). Entendemos que a razão cortisol/DHEAS pode ser mais informativa sobre o balanço neuroendócrino no organismo do que os valores isolados de cortisol e DHEAS.

#### **6.5. Teste de supressão com dexametasona (TSD): a expressão endócrina do estresse**

O TSD é um excelente teste para acessar a funcionalidade central do eixo HPA, pois sabemos que o eixo HPA é regulado negativamente pelos GC. A não supressão da DEX possui etiologia desconhecida, não sendo específico para qualquer patologia (Kin *et al.* 1997). O TSD, como uma expressão endócrina do estresse, forneceu suporte aos nossos resultados, mostrando que uma proporção bem maior de cuidadores revelou-

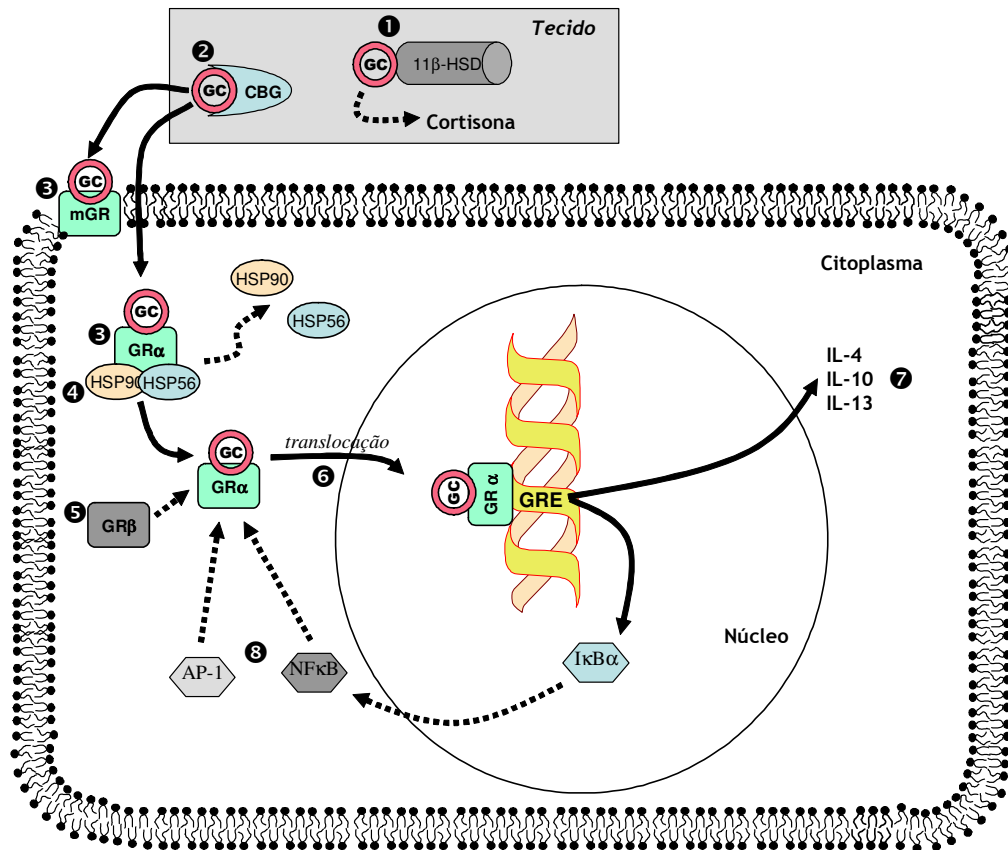
se não supressores (29,3%), comparados aos controles não supressores (3%). Os resultados deste ensaio vêm reforçar as evidências até agora apresentadas sobre a disfunção do eixo HPA atribuída ao estado emocional do cuidador.

A administração de DEX, em indivíduos saudáveis, normalmente causaria alterações moleculares através de diferentes mecanismos intra e extracelulares, como a redução dos receptores de GC citoplasmáticos (Gormley *et al.* 1985). Os mecanismos celulares que regulam a sensibilidade a GC podem ser evidenciados na figura 12 (Bauer 2005). Evidências constatadas como a redução no número de GR intracelulares (Gormley *et al.* 1985) ou alteração na afinidade dos GR; translocação alterada do complexo GC/GR ao núcleo e alteração na atividade dos fatores de transcrição poderiam também explicar a resistência adquirida a GC (Bauer 2005).

Segundo Castro e col. (Castro *et al.* 1996), uma isoforma  $\beta$  do GR humano (hGR $\beta$ ) provavelmente formaria heterodímeros com o hGR $\alpha$  e ocorreria a translocação para o núcleo atuando como um inibidor dominante negativo do receptor. Porém, não há evidências de alterações na expressão de isoformas GR associadas com a idade. Além disso, não podemos descartar a hipótese de haver mutações no GR ou mudanças no sistema de transdução de sinal dos GR. Tem sido evidenciado também que as citocinas podem ter um importante impacto na expressão e funcionamento dos GR. Resumindo, muitos são os mecanismos envolvidos nas alterações na sinalização celular durante o processo de envelhecimento que podem levar à alteração na sensibilidade aos GC (Bauer 2005).

No estudo de Bauer *et al.* (Bauer *et al.* 2002b) foi constatado que as alterações da função imune e a regulação dos hormônios esteroidais associadas com a depressão não estão necessariamente relacionadas a altas concentrações de cortisol salivar. Os nossos resultados, em sintonia com o estudo citado, não apontaram diferenças nos níveis basais de cortisol entre a amostra e o controle, sugerindo que a alteração da

sensibilidade do eixo não esteja associada diretamente à excessiva exposição aos GC, como reportado em investigações anteriores (Bauer *et al.* 2000) ou talvez não ocorram simultaneamente. É possível que representem estados distintos da alteração funcional deste eixo ou que caracterizem diferentes estágios evolutivos da patologia do eixo HPA (Bauer *et al.* 2002b). Estudos prévios observaram que a redução na sensibilidade a GC poderia também estar associada ao tratamento crônico com GC (Kloet *et al.* 1998).



**Figura 12.** Mecanismos de regulação da sensibilidade celular a glicocorticóides. Adaptado de Bauer (2005). A disponibilidade extracelular dos hormônios pode ser determinada pela: (1) expressão da 11β-hidroxisteróide dehidrogenase (tecido-dependente) que catalisa a interconversão de GC ativo (cortisol) na forma inativa (cortisona) e vice-versa; (2) níveis plasmáticos de CBG que transporta os GC biologicamente ativos para os tecidos periféricos. Os mecanismos de modulação intracelular da sensibilidade aos GC: (3) alteração na densidade da membrana funcional ou receptor intracelular de GC (GRα) ou alteração na afinidade ao receptor; (4) expressão alterada de *heat shock proteins* (HSP 90 e HSP 56) que estabiliza GRα e são dissociados logo após a ligação aos GC; (5) expressão alterada de GRβ a qual antagoniza GRα; (6) translocação alterada do complexo GR-GC ao núcleo; (7) alteração na expressão de várias citocinas; (8) alteração na expressão dos fatores de transcrição AP-1 e NFκB que por sua vez antagoniza GRα. As linhas pontilhadas representam ações inibitórias dos GC.

Vários trabalhos têm sido publicados relacionando TSD com função imune alterada na depressão maior (Bauer et al. 2002b), interação farmacológica e depressão (Kin et al. 1997), distúrbios de personalidade e depressão maior (Fountoulakis et al. 2004), distúrbios de personalidade com estresse pós-traumático (Lange et al. 2005) e depressão maior (Grossman et al. 2003). Em pacientes com depressão unipolar, os TSD não-supressores foram associados com riscos mais altos de suicídios consumados ou com hospitalizações decorrentes de tentativas de suicídio (Yerevanian et al. 2004). Seguindo esta linha de raciocínio, o TSD pode ser um indicativo de que os cuidadores não-supressores estariam sob maior risco de desenvolverem distúrbios fisiológicos do que os indivíduos supressores do eixo HPA.

## **6.6. Sensibilidade periférica a glicocorticóides**

A diminuição dos níveis de cortisol pela manhã (8h) no cuidador poderia estar associada ao aumento da sensibilidade linfocitária a CORT, ocorrendo apenas nas concentrações mais baixas e fisiológicas deste GC. Convém observar que as concentrações mais altas (supra farmacológicas) de CORT ( $10^{-4}$  e  $10^{-5}$ ) possivelmente não estariam reproduzindo efetivamente a realidade fisiológica. Contudo, a DEX (agonista de GR) em concentrações fisiológicas (i.e.  $10^{-9}$  a  $10^{-6}$ ) produziu efeitos contrários de sensibilidade, resultando em linfócitos mais resistentes nos cuidadores em relação aos controles e corroborando dados anteriores (Bauer *et al.* 2000). As curvas invertidas de DEX e CORT levantam questões que nos remetem a maior compreensão dos mecanismos farmacológicos de ação dos GC seus respectivos receptores. A inibição do eixo HPA por CORT é mediada pelos dois subtipos de receptores para glicocorticóides: MR e GR. O MR atuaria na inibição do eixo HPA por CORT no repouso enquanto o GR, em contraste, atuaria na regulação do eixo numa situação de estresse (Pace and Spencer 2005). Como os cuidadores não apresentaram elevação de cortisol, a CORT poderia ter produzido uma maior sinalização imunológica através dos MR. Estudos futuros deverão utilizar agonistas de

MR para elucidar melhor este fenômeno. Contudo, ao contrário das observações anteriores (Bauer *et al.* 2000), os níveis mais baixos do ligante cortisol (8h) nos cuidadores não podem explicar a resposta diminuída a DEX nos tecidos. Numa disponibilidade menor do ligante, esperaríamos um aumento dos GR intracelulares e concomitante aumento na sensibilidade celular. Acredita-se que outros mecanismos possam modular, independentemente dos níveis de cortisol, a sinalização via GR e levar a uma resistência parcial aos GC, conforme discutido na seção 6.5. Isso deverá ser melhor explorado em estudos futuros. Nesta linha de raciocínio, os indivíduos não supressores a DEX apresentaram níveis equivalentes de cortisol salivar em relação aos sujeitos supressores.

Ao comparar os ensaios da sensibilidade central (TSD) e periférica aos GC encontramos coerência nos resultados, sendo observadas alterações tanto na resposta central quanto periférica a DEX. Nos cuidadores houve uma parcela maior de indivíduos não-supressores e também mostrou maior resistência linfocitária a ação da DEX, não interferindo na sua proliferação. A sensibilidade periférica a GC pode ser mensurada em outros tecidos, como na pele, através do uso do GC sintético dipropionato de beclometa-sona em diferentes concentrações e medindo a ocorrência ou não do halo de inibição (Ebrecht *et al.* 2000). Isso deverá ser melhor explorado em estudos futuros.

No estudo de Bauer *et al.* (Bauer *et al.* 2000) foi observada também maior resistência a DEX por parte dos cuidadores, porém, no referido estudo havia sido reportado uma elevação nos níveis de cortisol salivar, o que não foi constatado no nosso grupo cuidador.

### **6.7. A proliferação linfocitária aumentada do cuidador**

Os cuidadores investigados neste estudo apresentaram um incremento na sua imunidade celular inespecífica, uma vez que os níveis de proliferação linfocitária induzida por mitógeno se mostraram significativamente mais altos em relação aos controles. Estes achados contrastam com os de Bauer *et al.* (Bauer *et al.* 2000) e com os de

estudos cuja abordagem imunológica revelou redução na resposta humoral à vacinação contra *influenza* nos cuidadores de pacientes com DA (Vedhara et al. 1999), o que pode sugerir uma relação destes resultados com a vulnerabilidade dos idosos à infecção. Um estudo longitudinal com estresse crônico de cuidadores idosos realizado ao longo de seis anos acompanhando os níveis séricos de IL-6 e o estado de saúde geral dos mesmos evidenciou que a sobrecarga emocional pode acelerar o risco do surgimento de patologias associadas à idade devido ao envelhecimento precoce do sistema imune (Kiecolt-Glaser et al. 2003). Entretanto, é relevante considerar que nestas abordagens os cuidadores ou idosos estressados cronicamente apresentavam altos níveis de cortisol salivar em relação ao controle, ao contrário deste estudo. Em relação à idade, os idosos da nossa amostra apresentaram redução na resposta linfocitária em comparação com os de meia-idade, revelando consenso com a literatura em relação a esta alteração na imunosenescência (Bauer et al. 2000; Douziech et al. 2002; Pawelec 2005).

A ausência de hipercortisolemia constatada no grupo cuidador pode ter poupado o sistema imune dos reflexos negativos do excesso de GC circulante. Além disso, é bem provável que a redução da proliferação linfocitária decorrente da idade (Luz et al. 2003) tenha sido superada pela peculiaridade da situação envolvendo um enfermo com relações afetivas singulares, cuja motivação levaria o cuidador a buscar estratégias de  *coping*  para melhor entender e conviver com a situação.

Porém, em estudo longitudinal com cuidadores, Kiecolt-Glaser e colaboradores sugeriram que a severidade dos sintomas depressivos ou a presença de síndromes depressivas não necessariamente estaria associada a reflexos no sistema imune (Kiecolt-Glaser et al. 1991). Este mesmo estudo reporta que o suporte social pode ter um papel importante na manutenção da função imune, de um modo mais perceptível nos cuidadores do que nos controles, e que talvez este seja um possível mecanismo fisiológico através da qual as relações pessoais poderiam afetar a saúde (Kiecolt-Glaser et al. 1991).



Os critérios adotados neste estudo para a seleção dos participantes (SENI-EUR) podem ter contribuído significativamente nos resultados obtidos, principalmente no que se refere ao sistema imune. Foram selecionados apenas os indivíduos com comprovada integridade nas funções orgânicas através de exames clínicos e laboratoriais.

---

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

---

Os cuidadores selecionados dos Grupos de Apoio aos Familiares e Amigos de Pacientes com DA e a adoção dos critérios de inclusão do Protocolo SENIEUR possibilitaram obter uma amostra diferenciada, possibilitando visualizar de modo mais transparente os processos e as vias envolvidos na interação do estresse crônico no processo de envelhecimento humano. O indivíduo saudável (conforme o protocolo SENIEUR), ao manter a integridade dos sistemas que o compõe, conservaria a autonomia de cada sistema em particular, paralelamente à preservação das importantes relações bidirecionais psiconeuroimunoendócrinas entre os mesmos, garantindo a manutenção da homeostase. Contudo, alguns processos parecem estar desregulados ou não habituados em relação ao nosso modelo de estresse (e.g. DHEAS).

A história pessoal e as experiências vividas, o nível social, a capacidade intelectual, seu estilo de vida e a religiosidade, entre outras características pessoais, podem influir na maneira como o indivíduo percebe, interpreta e responde ao estresse, sendo importante considerar as interações dos fatores psicológicos e sociais com os processos biológicos. Estas flutuações, as variabilidades inter-individuais, não são características específicas do idoso ou do processo de envelhecimento, pois estão relacionadas a inúmeros fatores, que vão da genética ao tratamento farmacológico (Davidovic and Milosevic 2006).

Todo o conjunto das condições psicológicas e emocionais do indivíduo produzidas com base nas suas experiências vividas, da história familiar e da genética forneceria o suporte necessário para manter a capacidade de controlar as diferentes e difíceis tarefas que surgem durante as atividades como cuidador. O controle do estresse pelo ser humano pode ter reflexos importantes nos diferentes sistemas do nosso organismo, principalmente nos sistemas HPA e SAM que são ativados por um mecanismo central complexo envolvendo aferências provenientes de estruturas cerebrais distintas. Diferentes

estressores causariam diferentes respostas centrais e, por conseguinte, diferentes padrões de ativação do sistema HPA e SAM. Em alusão à classificação de estresse de Huether em desafios controláveis e não-controláveis, poderia se insinuar que os desafios controláveis seriam mais propensos a ativarem o eixo HPA e os não-controláveis, o eixo SAM. Esta distinção, porém, é bastante variada, pois é decorrente de componentes estritamente pessoais.

As estratégias de *coping* adotadas pelo indivíduo podem aumentar o seu potencial de controle através das habilidades cognitivas e reflexivas, atenuando os desafios controláveis e, como consequência, reduzindo os impactos orgânicos como a hiperativação do eixo HPA. O ônus do estresse não-controlável seria potencializar ou acelerar as manifestações da imunossenescência e da endocrinossenescência. Mas não necessariamente a experiência de ser cuidador é negativa. Por exemplo, cuidadores com sólida vivência espiritual e que adotam estratégias de enfrentamento como a reavaliação positiva da situação, transmitem serenidade e otimismo, o que pode ajudar a reduzir os riscos de depressão e outros distresses psicológicos (Grant et al. 2002). Em particular, o suporte social oferecido pelos Grupos de Apoio aos Familiares de Pacientes com DA é de extrema relevância para ajudar na compreensão das dificuldades, dando conforto e capacitação aos cuidadores para conservar a sua qualidade de vida.

---

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

Adams DO. Molecular biology of macrophage activation: a pathway whereby psychosocial factors can potentially affect health. *Psychosom Med* 1994;56:316-327.

Adams JB. Control of secretion and the function of C19-delta 5-steroids of the human adrenal gland. *Mol Cell Endocrinol* 1985;41:1-17.

Ader R, Felten D, Cohen N. *Psychoneuroimmunology 2*, Vol. 2. London: Academic Press, 2001.

Akil H, Campeau S, Cullinan W, Lechan R, Toni R, Watson S, Moore R. Neuroendocrine Systems I: Overview - Thyroid and Adrenal Axes. In: Zigmond M, Bloom F, Landis S, Roberts J, Squire L, editors. *Fundamental Neuroscience*. California: Academic Press, 1999. pp. 1127-1147.

Assies J, Visser I, Nicolson NA, Eggelte TA, Wekking EM, Huyser J, Lieveise R, Schene AH. Elevated salivary dehydroepiandrosterone-sulfate but normal cortisol levels in medicated depressed patients: preliminary findings. *Psychiatry Res* 2004;128:117-122.

Bamberger CM, Schulte HM, Chrousos GP. Molecular determinants of glucocorticoid receptor function and tissue sensitivity to glucocorticoids. *Endocrine Reviews* 1996;17:245-261.

Bar-David G. Three phase development of caring capacity in primary caregivers for relatives with Alzheimer's disease. *Journal of Aging Studies* 1999;13:177-197.

Bauer M, Collaziol D, Preissler T. Avaliação da proliferação linfocitária e sensibilidade a glicocorticóides por ensaios colorimétricos. *R Med PUCRS* 2002a;12:226-231.

Bauer M, Papadopoulos A, Poon L, Perks P, Lightman SL, Checkley S, Shanks N. Dexamethasone-induced effects on lymphocyte distribution and expression of adhesion molecules in treatment-resistant depression. *Psychiatry Research* 2002b.

Bauer M, Papadopoulos A, Poon L, Perks P, Lightman SL, Checkley S, Shanks N. Altered Glucocorticoid Immunoregulation in Treatment Resistant Depression. *Psychoneuroendocrinology* 2003;28:49-65.

Bauer M, Vedhara K, Perks P, Wilcock GK, Lightman SL, Shanks N. Chronic stress in caregivers of dementia patients is associated with reduced lymphocyte sensitivity to glucocorticoids. *Journal of Neuroimmunology* 2000;103:84-92.

Bauer M. Stress, glucocorticoids and ageing of the immune system. *Stress* 2005;8:69-83.

Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J. An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry* 1961;4:561-571.

Biondi M. Effects of Stress on Immune Functions: An Overview. In: Aden R, Felten D, Cohen N, editors. *Psychoneuroimmunology*, Vol. 2. San Diego, California: Academic Press, 2001. pp. 189-226.

Black PH. The inflammatory response is an integral part of the stress response: Implications for atherosclerosis, insulin resistance, type II diabetes and metabolic syndrome X. *Brain Behav Immun* 2003;17:350-364.

Brody H. Interventions with caregivers. *Alzheimer Insights* 1999;Special Edition:8-10.

Buckingham J, Cowell A-M, Gillies G, Herbison A, Steel J. The neuroendocrine system: anatomy, physiology and responses to stress. In: Ltd. JW&S, editor. *Stress, stress hormones and the immune system* 1997. pp. 9-47.

Butcher SK, Killampalli V, Lascelles D, Wang K, Alpar EK, Lord JM. Raised cortisol:DHEAS ratios in the elderly after injury: potential impact upon neutrophil function and immunity. *Aging Cell* 2005;4:319-324.

Castle S, Wilkins S, Heck E, Tanzy K, Fahey J. Depression in caregivers of demented patients is associated with altered immunity: impaired proliferative capacity, increased CD8+, and a decline in lymphocytes with surface signal transduction molecules (CD38+) and a cytotoxicity marker (CD56+ CD8+). *Clin Exp Immunol* 1995;101:487-493.

Castle SC. Impact of age-related immune dysfunction on risk of infections. *Z Gerontol Geriatr* 2000a;33:341-349.

Castle SC. Impact of age-related immune dysfunction on risk of infections. *Z Gerontol Geriatr* 2000c;33:341-349.

Castle SC. Impact of age-related immune dysfunction on risk of infections. *Z Gerontol Geriatr* 2000b;33:341-349.

Castle SC, Uyemura K, Makinodan T. The SENIEUR Protocol after 16 years: a need for a paradigm shift? *Mechanisms of Ageing and Development* 2001;122:127-140.

Castro M, Elliot S, Kino T, Bamberger C, Karl M, Webster E, Chrousos G. The non-ligand binding beta-isoform of the human glucocorticoid receptor (hCG-beta): tissue levels, mechanism of action, and potential physiologic role. *Molec Med* 1996;2:597-607.

Coelho R, Silva C, Maia A, Prata J, Barros H. Bone mineral density and depression a community study in women. *Journal of Psychosomatic Research* 1999;46:2935.

Collaziol D, Preissler T, Gnieslaw P, Bauer M. Padronização de ensaios colorimétricos para avaliação da proliferação linfocitária e sensibilidade à glicocorticóides in vitro. *Anais do II Salão de Iniciação Científica da PUCRS* 2001.

Cook N, Harris B, Walker R, Hailwood R, Jones E, Johns S, Riad-Fahmy D. Clinical utility of the dexamethasone suppression test assessed by plasma and salivary cortisol determinations. *Psychiat Res* 1986;18:143-150.

Davidovic M, Milosevic DP. Are all dilemmas in gerontology being swept under the carpet of intra-individual variability? *Medical Hypotheses* 2006;66:432-436.

de Bruin, VMS, Vieira MCM, Rocha MNM, Viana GSB. Cortisol and dehydroepiandrosterone sulfate plasma levels and their relationship to aging, cognitive function, and dementia. *Brain Cogn* 2002;50:316-323.

Dessein PH, Shipton EA, Stanwix AE, Joffe BI. Neuroendocrine deficiency-mediated development and persistence of pain in fibromyalgia: a promising paradigm? *Pain* 2000;86:213-215.

Deuschle M, Gotthardt U, Schweiger U, Weber B, Körner A, Schmider J, Standhardt H, Lammers C-H, Heuser I. With aging in humans the activity of the hypothalamuspituitary-adrenal system increases and its diurnal amplitude flattens. *Life Sciences* 1997;22:2239-2246.

Douziech N, Seres I, Larbi A, Szikszay E, Roy PM, Arcand M, Dupuis G, Jr. TF. Modulation of human lymphocyte proliferative response with aging. *Experimental Gerontology* 2002;37:369-387.

Ebrecht M, Buske-Kirschbaum A, Hellhammer D, Kern S, Rohleder N, Walker B, Kirschbaum C. Tissue specificity of glucocorticoid sensitivity in healthy adults. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2000;85:3733-3739.

Effros RB. Immune System Activity. In: Masoro EJ, editor. *Handbook of the biology of aging*. San Diego - USA: Academic Press, 2001.

Folkman S, Lazarus RS. If it changes it must be a process: study of emotion and coping during three stages of a college examination. *J Pers Soc Psychol* 1985;48:150-170.

Fountoulakis K, Iacovides A, Fotiou F, Karamouzis M, Demetriadou A, Kaprinis G. Relationship among Dexamethasone Suppression Test, personality disorders and stressful life events in clinical subtypes of major depression: An exploratory study. *Ann Gen Hosp Psychiatry* 2004;3:15.

Freitas E. Demografia e epidemiologia do envelhecimento. In: Py L, Pacheco JL, Sá JL, Goldman SN, editors. *Tempo de Envelhecer - percursos e dimensões psicossociais*. Rio de Janeiro: NAU editora, 2004. pp. 19-38.

Fuchs E, Flügge G, Ohl F, Lucassen P, Vollmann-Honsdorf GK, Michaelis T. Psychosocial stress, glucocorticoids, and structural alterations in the tress shrew hippocampus. *Physiology & Behavior* 2001;73:285-291.

Glaser R, Sheridan J, Malarkey WB, MacCallum RC, Kiecolt-Glaser JK. Chronic Stress Modulates the Immune Response to a Pneumococcal Pneumonia Vaccine. *Psychosomatic Medicine* 2000;62:804-807.

Gordilho A. Depressão, ansiedade, outros distúrbios afetivos e suicídio. In: Freitas E, Py L, Neri AL, Cançado F, Gorzoni M, Rocha S, editors. *Tratado de Geriatria e Gerontologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. pp. 204-215.

Gorestein C, Andrade L. Inventário de depressão de Beck: propriedades psicométricas da versão em português. *Rev Psiq Clín* 1998;25:245-250.

Gormley GJ, Lowy MT, Reder AT, Hospelhorn VD, Antel JP, Meltzer HY. Glucocorticoid receptors in depression: relationship to the dexamethasone suppression test. *Am J Psychiatry* 1985;142:1278-1284.



Gotovac K, Sabioncello A, Rabatic S, Berki T, Dekaris D. Flow cytometric determination of glucocorticoid receptor (GCR) expression in lymphocyte subpopulations: lower quantity of GCR in patients with post-traumatic stress disorder (PTSD). *Clin Exp Immunol* 2003;131:335-339.

Grant I, Adler KA, Patterson TL, Dimsdale JE, Ziegler MG, Irwin MR. Health Consequences of Alzheimer's Caregiving Transitions: Effects of Placement and Bereavement. *Psychosomatic Medicine* 2002;64:477-486.

Grossman R, Yehuda R, New A, Schmeidler J, Silverman J, Mitropoulou V, Sta MN, Golier J, Siever L. Dexamethasone suppression test findings in subjects with personality disorders: associations with posttraumatic stress disorder and major depression. *Am J Psychiatry* 2003;160:1291-1298.

Hadjiconstantinou M, McGuire L, Duchemin A-M, Laskowski B, Kiecolt-Glaser J, Glaser R. Changes in plasma nerve growth factor levels in older adults associated with chronic stress. *Journal of Neuroimmunology* 2001; 116:102-106.

Hearing SD, Norman M, Smyth C, Foy C, Dayan CM. Wide variation in lymphocyte steroid sensitivity among healthy human volunteers. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1999;84:4149-4154.

Herbert J. Neurosteroids, brain damage, and mental illness. *Experimental Gerontology* 1998;33:713-727.

Huether G. The central adaptation syndrome: psychosocial stress as a trigger for adaptive modifications of brain structure and brain function. *Prog Neurobiol* 1996;48:569-612.

Isowa T, Ohira H, Murashima S. Immune, endocrine and cardiovascular responses to controllable and uncontrollable acute stress. *Biological Psychology* 2006;71:202-213.

Izal M, Montorio I, Marquez M, Losada A. Caregivers' expectations and care receivers' competence Lawton's ecological model of adaptation and aging revisited. *Arch Gerontol Geriatr* 2005;41:129-140.

Kahn J, Rubinow D, Davis C, Kling M, Post R. Salivary cortisol: a practical method for evaluation of adrenal function. *Biol Psychiat* 1988;23:335-349.

Känel Rv, Dimsdale JE, Adler KA, Patterson TL, Mills PJ, Grant I. Exaggerated Plasma Fibrin Formation (D-Dimer) in Elderly Alzheimer Caregivers as Compared to Noncaregiving Controls. *Gerontology* 2005;51:7-13.

Keller-wood ME, Dallman MF. Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. *Endocr Rev* 1984;5:1-24.

Kiecolt-Glaser JK, Dura JR, Speicher CE, Trask OJ, Glaser R. Spousal caregivers of dementia victims: longitudinal changes in immunity and health. *Psychosom Med* 1991;53:345-362.

Kiecolt-Glaser JK, Glaser R, Shuttleworth EC, Dyer CS, Ogrocki P, Speicher CE. Chronic stress and immunity in family caregivers of Alzheimer's disease victims. *Psychosom Med* 1987;49:523-535.

Kiecolt-Glaser JK, Glaser R. Psychoneuroimmunology and Health Consequences: Data and Shared Mechanisms. *Psychosomatic Medicine* 1995;57:269-274.

Kiecolt-Glaser JK, Glaser R, Gravenstein S, Malarkey WB, Sheridan J. Chronic stress alters the immune response to influenza virus vaccine in older adults. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93.

Kiecolt-Glaser JK, Preacher KJ, MacCallum RC, Atkinson C, Malarkey WB, Glaser R. Chronic stress and age-related increases in the proinflammatory cytokine IL-6. 2003.

Kin NM, Nair NP, Amin M, Schwartz G, Ahmed SK, Holm P, Katona C, Kragh-Sorensen P, Klitgaard N, Song WY, West TE, Stage K. The dexamethasone suppression test and treatment outcome in elderly depressed patients participating in a placebo-controlled multicenter trial involving moclobemide and nortriptyline. *Biol Psychiatry* 1997;42:925-931.

Kirschbaum C, Hellhammer D. Salivary cortisol in psychoneuroendocrine research: recent developments and applications. *Psychoneuroendocrinol* 1994;19:313-333.

Kitchener P, Blasi FD, Borrelli E, Piazza PV. Differences between brain structures in nuclear translocation and DNA binding of the glucocorticoid receptor during stress and the circadian cycle. *European Journal of Neuroscience* 2004;19:1837-1846.

Kloet ERD, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joels M. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev* 1998;19:269-301.

Lange W, Wulff H, Berea C, Beblo T, Saavedra AS, Mensebach C, Wingenfeld K, Driesen M. Dexamethasone suppression test in borderline personality disorder--effects of posttraumatic stress disorder. *Psychoneuroendocrinology* 2005;30:919-923.

Lipp M, Guevara A. Validação empírica do inventário de sintomas de stress. *Estudos de Psicologia* 1994;11:43-49.

Litghart G, Corberand J, Fournier C. Admission criteria for immunogerontological studies in man: the SENIEUR protocol. *Mech Ageing Dev* 1984;28:47-55.

Lutgendorf SK, Costanzo ES. Psychoneuroimmunology and health psychology: an integrative model. *Brain Behav Immun* 2003;17:225-232.

Luz C, Dornelles F, Preissler T, Collaziol D, da C, I, Bauer ME. Impact of psychological and endocrine factors on cytokine production of healthy elderly people. *Mech Ageing Dev* 2003;124:887-895.

Mausbach BT, Aschbacher K, Patterson TL, ncoli-Israel S, von KR, Mills PJ, Dimsdale JE, Grant I. Avoidant coping partially mediates the relationship between patient problem behaviors and depressive symptoms in spousal Alzheimer caregivers. *Am J Geriatr Psychiatry* 2006;14:299-306.

McEwen BS. Interacting mediators of allostasis and allostatic load: towards an understanding of resilience in aging. *Metabolism* 2003;52:10-16.

McEwen BS. Allostasis and allostatic load: implications for neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharmacology* 2000;22:108-124.

McEwen BS. Protective and Damaging Effects of Stress Mediators. *The New England Journal of Medicine* 1998;338:171-179.

Mills PJ, Yu H, Ziegler MG, Patterson T, Grant I. Vulnerable Caregivers of Patients With Alzheimer's Disease Have a Deficit in Circulating CD62L - T Lymphocytes. *Psychosomatic Medicine* 1999;61:168-174.

Mills PJ, Ziegler MG, Patterson T, Dimsdale JE, Hauger R, Irwin M, Grant I. Plasma Catecholamine and Lymphocyte B2- Adrenergic Receptor Alterations in Elderly Alzheimer Caregivers Under Stress. *Psychosomatic Medicine* 1997;59:251-256.

Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983;65:55-63.

Neri AL. Teorias Psicológicas do Envelhecimento. In: Freitas E, Py L, Neri AL, Cançado F, Gorzoni M, Rocha S, editors. *Tratado de Geriatria e Gerontologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. pp. 32-45.

Neri AL. Paradigmas contemporâneos sobre o desenvolvimento humano em psicologia e em sociologia. In: Neri AL, editor. *Desenvolvimento e envelhecimento - perspectivas biológicas, psicológicas e sociológicas*. Campinas: Papyrus, 2001. pp. 11-38.

Niekerk JKv, 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;26:591-612.

Olf M. Stress, depression and immunity: the role of defense and coping styles. *Psychiatry Research* 1999;85:7-15.

Orentreich N, Brind JL, Vogelman JH, Andres R, Baldwin H. Long-term longitudinal measurements of plasma dehydroepiandrosterone sulfate in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:1002-1004.

Pace TW, Spencer RL. Disruption of mineralocorticoid receptor function increases corticosterone responding to a mild, but not moderate, psychological stressor. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005;288:E1082-E1088.

Pawelec G. *When T Cells Get Old*. SAGE KE 2005;39.

Pedersen WA, Wan R, Matton MP. Impact of aging on stress-responsive neuroendocrine systems. *Mechanisms of Ageing and Development* 2001;122:963-983.

Randi S.Jones, Tiffany W.Chow, Margaret Gatz. Asian Americans and Alzheimer's disease: Assimilation, culture, and beliefs. *Journal of Aging Studies* 2005;20:11-25.

Ravaglia G, Forti P, Maioli F, Sacchetti L, Nativio V, Scali CR, Mariani E, Zanardi V, Stefanini A, Macini PL. Dehydroepiandrosterone-sulfate serum levels and common age-related diseases: results from a cross-sectional Italian study of a general elderly population. *Exp Gerontol* 2002;37:701-712.

Redwine L, Mills PJ, Sada M, Dimsdale J, Patterson T, Grant I. Differential Immune Cell Chemotaxis Responses to Acute Psychological Stress in Alzheimer Caregivers compared to Non-caregiver Controls. *Psychosomatic Medicine* 2004;66:770-775.

Rohleder N, Kudielka BM, Hellhammer DH, Wolf JM, Kirschbaum C. Age and sex steroid-related changes in glucocorticoid sensitivity of pro-inflammatory cytokine production after psychosocial stress. *J Neuroimmunol* 2002;126:69-77.

Rohleder N, Wolf JM, Kirschbaum C. Glucocorticoid sensitivity in humans-interindividual differences and acute stress effects. *Stress* 2003a;6:207-222.

Rohleder N, Wolf JM, Kirschbaum C. Glucocorticoid sensitivity in humans-interindividual differences and acute stress effects. *Stress* 2003b;1-16.

Rosmond R. Role of stress in the pathogenesis of the metabolic syndrome. *Psychoneuroendocrinology* 2005;30:1-10.

Rosmond R, Bjorntorp P. [Low cortisol production in chronic stress. The connection stress-somatic disease is a challenge for future research]. *Lakartidningen* 2000;97:4120-4124.

Sapolsky RM, Krey LC, McEwen BS. The neuroendocrinology of stress and aging: The glucocorticoid cascade hypothesis. *Endocr Rev* 1986;7:284-301.

Savoia MG. Instrumentos para avaliação de eventos vitais e estratégias de enfrentamento (coping) em situações de estresse. In: Gorenstein C, Andrade LHSG, Zuardi AN, editors. *Escala de avaliação clínica em psiquiatria e psicofarmacologia*. Rio de Janeiro: Lemos, 2000. pp. 377-386.

Schwartz KE. Autoimmunity, dehydroepiandrosterone (DHEA), and stress. *J Adolesc Health* 2002;30:37-43.

Shaw WS, Patterson TL, Semple SJ, Dimsdale JE, Ziegler MG, Grant I. Emotional expressiveness, hostility and blood pressure in a longitudinal cohort of Alzheimer caregivers. *J Psychosom Res* 2003;54:293-302.

Shaw WS, Patterson TL, Semple SJ, Ho S, Irwin MR, Hauger RL, Grant I. Longitudinal analysis of multiple indicators of health decline among spousal caregivers. *Annals of Behavioral Medicine* 1997;19:101-109.

Shaw WS, Patterson TL, Ziegler MG, Dimsdale JE, Semple SJ, Grant I. Accelerated risk of hypertensive blood pressure recordings among Alzheimer caregivers. *J Psychosom Res* 1999;46:215-227.

Shirtcliff EA, Granger DA, Schwartz E, Curran MJ. Use of salivary biomarkers in biobehavioral research: cotton-based sample collection methods can interfere with salivary immunoassay results. *Psychoneuroendocrinology* 2001;26:165-173.

Snyder L. Care of patients with Alzheimer's disease and their families. In: Galasko D, editor. *Clinics in Geriatrics Medicine - Alzheimer's Disease and Dementia*, Vol. 17. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2001. pp. 319-334.

Solerte SB, Fioravanti M, Vignati G, Giustina A, Cravello L, Ferrari E. Dehydroepiandrosterone Sulfate Enhances Natural Killer Cell Cytotoxicity in Humans Via Locally Generated Immunoreactive Insulin-Like Growth Factor I\*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1999;84:3260-3267.

Solomon GF, Morley JE. Psychoneuroimmunology and Aging. In: Aden R, DF, Cohen N, editors. *Psychoneuroimmunology*, Vol. 2. San Diego, California: Academic Press, 2001. pp. 701-717.

Spielberger C, Gorsuch R, Lushene R. *Inventário de Estado de Ansiedade Traço-Estado*. CEPA 1979.

Stowell JR, Kiecolt-Glaser JK, Glaser R. Perceived Stress and Cellular Immunity: When Coping Counts. *Journal of Behavioral Medicine* 2001;24:323-339.

Straub RH, Cutolo M, Zietz B, Schölmerich J. The process of aging changes the interplay of the immune, endocrine and nervous systems. *Mechanisms of Ageing and Development* 2001;122:1591-1611.

Svec F, Porter JR. The actions of exogenous dehydroepiandrosterone in experimental animals and humans. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998;218:174-191.

Vedhara K, McDermott MP, Evans TG, Treanor JJ, Plummer S, Tallon D, Cruttenden KA, Schifitto G. Chronic stress in nonelderly caregivers: psychological, endocrine and immune implications. *J Psychosom Res* 2002;53:1153-1161.

Vedhara K, Cox NKM, Wilcock GK, Perks P, Hunt M, Anderson S, Lightman SL, Shanks NM. Chronic stress in elderly carers of dementia patients and antibody response to influenza vaccination. *THE LANCET* 1999;353:627-631.

Vie H, Miller RA. Estimation by limiting dilution analysis of human IL-2-secreting T cells: detection of IL-2 produced by single lymphokine-secreting T cells. *J Immunol* 1986;136:3292.

Wright RJ, Finn P, Contreras JP, Cohen S, Wright RO, Staudenmayer J, MW, Perkins D, Weiss ST, Gold DR. Chronic caregiver stress and IgE expression allergen-induced proliferation, and cytokine profiles in a birth cohort predisposed to atopy. *American Academy of Allergy, Asthma and Immunology* 2004;1051-1057.

Yerevanian BI, Feusner JD, Koek RJ, Mintz J. The dexamethasone suppression test as a predictor of suicidal behavior in unipolar depression. *J Affect Disord* 2004;83:103-108.

Yesavage JA, Brink TL, Rose TL, Lum O, Huang V, Adey M, Leirer VO. Development and validation of a geriatric depression screening scale: a preliminary report. *J Psychiatr Res* 1982;17:37-49.



Zumoff B, Rosenfeld RS, Strain GW, Levin J, Fukushima DK. Sex differences in the twenty-four hour mean plasma concentrations of dehydroisoandrosterone (DHA) and dehydroisoandrosterone sulfate (DHAS) and the DHA to DHAS ratio in normal adults. *J Clin Endocrinol Metab* 1980;51:330-333.

---

## 9. Anexo 1: Protocolo SENIEUR

---

O protocolo SENIEUR foi desenvolvido pelo grupo EURAGE (Programa de Ação Combinada em Envelhecimento da Comunidade Européia), dirigido para o estudo dos cidadãos mais velhos na Europa. É importante mencionar que, na ausência de uma série completa de valores de referência para os grupos de idade mais avançada, foram usados vários limites arbitrários. É recomendável a revisão periódica deste protocolo.

### 1. IDADE

Os grupos de idade são melhores escolhidos por décadas, iniciando na idade em que o sistema imune pode ser considerado maduro. A padronização do grupo comparativo de jovens é tão importante quanto a do grupo de idade a ser estudado. Para grupo comparativo, nos propusemos entre 25-34 anos e para grupos de estudo 65-74, 75-84, 85-94 e 95 anos em diante.

### 2. DADOS A SEREM COLETADOS

As seguintes informações são para serem coletadas de todos participantes:

- a) Idade, sexo, grupo étnico, peso e altura, gestações, cirurgia mais importante, transfusões de sangue, uso de drogas, cigarro, bebidas e hábitos alimentares, profissão, condições de vida, atividades diárias.
- b) Conclusões de exames médicos, preferencialmente feitos pelo próprio clínico geral do sujeito, isso por razões de tempo e privacidade.

### 3. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Os critérios de exclusão podem ser agrupados em três grandes grupos, apresentados na tabela 1. Estes critérios são válidos para os dois grupos do estudo (controle e amostra).

- A. Informações clínicas
- B. Dados laboratoriais
- C. Interferência farmacológica

#### 3. A. Informações clínicas

3 A. 1. *Infecção*. Isso inclui todas infecções bacterianas, por fungos, virais, por clamídia, rickettsia e parasitárias.

Com frequência aparecem infecções respiratórias e urogenitais, que devem ser excluídas. Um exame de acompanhamento após duas semanas incluindo o diagnóstico médico é importante para assegurar que a investigação primária não foi durante o período de incubação do processo infeccioso. Neste caso, um intervalo de seis semanas deve

ser observado depois de todos os sintomas terem diminuído, antes de se reconsiderar a inclusão no estudo.

3. A.2. *Inflamação*. É definida como qualquer reação local de um tecido vascularizado à injúria. Isso inclui todos os processos inflamatórios agudos e crônicos, assim como, por exemplo, a doença do colágeno vascular ou doença de Crohn. Essas são usualmente reveladas pelo histórico clínico, exame físico e testes laboratoriais.

3. A.3. *Neoplasias*. Inclui todas neoplasias malignas e tumores indefinidos que não podem ser classificados definitivamente como benignos.

Todas as neoplasias, passadas ou atuais levam à exclusão. Há consciência de que nem sempre conseguimos excluir as doenças silenciosas, e um exemplo típico disso é o carcinoma de próstata. Esta neoplasia é freqüentemente assintomática, mas provavelmente deve estar presente na autópsia em mais de 50% dos casos dos homens acima de 80 anos de idade.

*Doenças linfoproliferativas*. Podem ser reconhecidas por sintomas clínicos, mas um problema particular é representado pelos diagnósticos de mieloma múltiplo silencioso e macroglobulinemia de Waldenströms. A idade avançada pode ser acompanhada pela ocorrência de gamopatia monoclonal benigna. A freqüência de paraproteinemia é aproximadamente 10% na idade de 80 anos e por volta de 20% acima dos 95 anos. Cerca de 1% desses componentes-M pode ser resultado de uma dessas duas doenças malignas e, dessas, um pequeno número poderia ser clinicamente silenciosa, isto é, não apresenta sintomas clínicos, apresenta razão normal de sedimentação de eritrócitos (ESR), nível normal de hemoglobina e não apresenta proteinúria. Assim isso é claro o risco de incluir uma pessoa com mieloma múltiplo silencioso ou macroglobulinemia de Waldenströms pode ser mínimo. Por isso, a constatação de paraproteína somente levará a exclusão se o restante de imunoglobulinas estiver significativamente diminuído. Se este não for o caso, a pessoa pode ser incluída no estudo.

## 10. Anexo 2: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa - PUCRS



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP - PUCRS



Ofício 289/06-CEP

Porto Alegre, 27 de março de 2006.

Senhor(a) Pesquisador(a):

O Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS apreciou e aprovou em 14 de março de 2003, seu protocolo de pesquisa, registro CEP 02/01447, intitulado: "Aspectos psiconeurimunológicos de idosos cuidadores de pacientes com demência".

Relatórios parciais e final devem ser encaminhados ao CEP.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Roberto Goldim  
COORDENADOR DO CEP-PUCRS

Ilmo(a) Sr(a)  
Dr(a) Moisés Evandro Bauer e Dra Cristina Maria Moriguchi Jeckel  
N/Universidade

---

## 11. Anexo 3: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

---

Sujeito de pesquisa nº \_\_\_\_\_

**TÍTULO DA PESQUISA:** *Aspectos psiconeuroimunológicos de idosos cuidadores de pacientes com demência*

**JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS DA PESQUISA:** O estresse causado no cuidado diário de seu cônjuge ou de um familiar muito próximo comprometido com doenças neurodegenerativas tem um impacto emocional e social que afeta diretamente a saúde do cuidador. Pretendemos com esse estudo: (1) avaliar o seu estado de saúde geral; (2) determinar a quantidade de dois hormônios presentes na sua saliva (cortisol e DHEAs); (3) determinar características do seu estado emocional que possam estar relacionadas a estresse, depressão, ansiedade e verificar como está a sua memória; (4) analisar se há alteração na atividade dos glóbulos brancos do sangue que fazem a defesa do seu organismo.

**PROCEDIMENTOS:** Para a realização deste estudo, necessitaremos da sua colaboração em três (03) dias:

**1º DIA** - Será feita a avaliação da sua saúde através de um *check-up* no consultório da médica geriatra Dra. Maria Cristina Cachapuz Berleze. Depois será marcado o dia para a coleta de sangue e para a realização das entrevistas: DIA: \_\_\_\_\_ HORA: \_\_\_\_\_ LOCAL: Hospital São Lucas - PUCRS

**2º DIA** - No dia e no horário marcados acima, continuarão os procedimentos para a avaliação de sua saúde. Logo que chegar ao Hospital São Lucas da PUCRS (**8h00min**), será feita a primeira coleta de saliva. O(A) sr.(a) mesmo(a) vai fazer a coleta da sua saliva (vai ser explicado na hora, é bem simples). Em seguida será feita a coleta de sangue pela enfermeira. Na hora da punção, o(a) sr.(a) sentirá um leve desconforto por causa da picada da agulha. Logo após a coleta de sangue, será oferecido um pequeno lanche. Nesta ocasião, serão feitas algumas entrevistas para a avaliação psicológica e um teste de memória. Antes de ir para casa (**12h00min**), no hospital mesmo, o(a) sr.(a) fará outra coleta de saliva, da mesma forma que a anterior. O(A) sr.(a) receberá um pacote com material para fazer mais duas coletas de saliva: à noite (**entre 19h00min - 20h00min**), e na manhã seguinte (**entre 8h00min - 9h00min**), sempre antes das refeições. *Não esqueça de deixar os frascos com a saliva na geladeira.*

Ainda neste mesmo dia, às **23h00min** (onze horas da noite), o(a) sr.(a) deverá tomar o comprimido de dexametasona (1,0mg), para podermos fazer a análise do cortisol no dia seguinte. Às vezes, algumas pessoas podem apresentar um pouco de náusea ou sensação passageira de calor pelo corpo, mas nada disso afetará a sua saúde.

**3º DIA** - Na manhã seguinte, entre **8h-9h**, antes do café da manhã ou de escovar os dentes, deverá ser feita a última coleta de saliva. Neste mesmo dia, em horário a ser combinado com o(a) sr.(a), iremos à sua casa buscar os dois frascos com a sua saliva e fazer um último teste de memória. Se preferir, poderá nos trazer ao hospital. De qualquer maneira, os frascos com a saliva **devem ser conservados na geladeira**, enquanto estiver na sua casa.

Eu, ..... fui informado dos objetivos das pesquisa acima de maneira clara e detalhada. Recebi informação a respeito da coleta a ser feita e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão se assim eu o desejar. O

pesquisador responsável certificou-me de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais e terei liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa, em face destas informações. Declaro, outrossim, que recebi cópia deste consentimento, de que todos os dados sobre a minha pessoa serão confidenciais e mantidos em sigilo.

_____	_____	_____
Assinatura do voluntário	Nome	Data
_____	_____	_____
Assinatura do pesquisador	Nome	Data

Nome do pesquisador para contato: Cristina Maria Moriguchi Jeckel

Telefone: 0xx51 33203000 / ramal 2725 ou 99017414

Endereço: Av. Ipiranga, 6690 – 2º andar, Caixa Postal 1429, CEP 90610-000, Porto Alegre

## 12. Anexo 4: Entrevista (*Check-up* geriátrico)

### FICHA DE AVALIAÇÃO CLÍNICA

Data do Atendimento: \_\_\_\_\_

Número de cadastro: \_\_\_\_\_

**Critérios de inclusão:**

- 1) Idosos com idade superior a 60 anos saudáveis
- 2) Adultos jovens com idade entre 20 e 40 anos saudáveis
- 3) Assinatura do termo de consentimento, com participação voluntária

**Critérios de exclusão:**

- 1) Infecções agudas
- 2) Diagnóstico de doenças auto-imunes (AR, lúpus, diabetes tipo 1, miastenia gravis,...)
- 3) Insuficiência cardíaca descompensada, em tratamento com medicamentos
- 4) Inflamação aguda
- 5) Desnutrição
- 6) Anemia
- 7) Leucopenia
- 8) Depressão maior
- 9) Diagnóstico de doença neurodegenerativa (Alzheimer, Parkinson)
- 10) Neoplasia maligna ativa
- 11) Uso de fármacos: hormônios, anticoagulantes, corticóides e imunossuppressores
- 12) Etilismo ou uso de drogas de abuso

#### 1) Dados de Identificação

a) Nome: \_\_\_\_\_

b) Idade: \_\_\_\_\_ Data de nascimento: \_\_\_\_\_ Estado civil: \_\_\_\_\_

c) Endereço: Rua \_\_\_\_\_ número \_\_\_\_\_ Bairro \_\_\_\_\_  
CEP \_\_\_\_\_ Cidade \_\_\_\_\_ Estado \_\_\_\_\_

d) Telefone: ( ) \_\_\_\_\_ Telefone para contato: ( ) \_\_\_\_\_

e) Sexo: ( ) masculino ( ) feminino

f) Cor: ( ) branca ( ) preta ( ) parda ( ) amarela

g) Naturalidade: \_\_\_\_\_

h) Escolaridade: \_\_\_\_\_ Quantos anos você estudou na escola? \_\_\_\_\_

i) Profissão: \_\_\_\_\_

j) Religião: \_\_\_\_\_ O(a) sr(a) é praticante? \_\_\_\_\_

k) Vínculo com paciente com diagnóstico de demência: \_\_\_\_\_

l) Divide o cuidado diário com outra pessoa? \_\_\_\_\_

m) Quantas horas por dia dedica-se ao cuidado do paciente? \_\_\_\_\_

n) Faz quanto tempo do diagnóstico da doença pelo médico? \_\_\_\_\_

o) Qual o nível de dependência do paciente? \_\_\_\_\_

p) Quantas horas de sono por noite o(a) sr.(a) consegue ter? \_\_\_\_\_

q) Faz alguma atividade física? Qual? \_\_\_\_\_

r) Suporte social: ( ) familiar ( ) psicoterapia ( ) apoio da comunidade (igreja, clube)

s) Satisfação de vida: ( ) péssima ( ) regular ( ) tolerável ( ) boa ( ) ótima

t) *Eventos significativos da sua vida:*  
*positivos:*  
*negativos:*

2) **Anamnese:**

**2.1 - O(a) sr(a) tem diagnóstico de alguma das seguintes doenças?**

*Qualquer resposta “SIM” exclui o paciente do estudo.*

Artrite reumatóide	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
Doença inflamatória do intestino	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
Vasculite	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
Esclerodermia	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
Miosite	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
Lúpus eritematoso sistêmico	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
Diabete tipo 1 (insulino-dependente)	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
Anemia hemolítica	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
Gota ou outra artropatia induzida por cristais	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
Doença da tireóide	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
Miastenia gravis	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
Parkinson	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
Alzheimer	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
Neoplasia maligna	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim

**2.2 - O(a) sr(a) está resfriado(a) ou tratando alguma infecção com antibióticos no momento?**

não     sim

*A resposta “sim” exclui o paciente do estudo.*



**2.3 - O(a) sr(a) tem usado algum dos seguintes medicamentos?**

*Qualquer resposta “SIM” exclui o paciente do estudo.*

<b>Hormônios (da tireóide, TRH)</b>	( ) não	( ) sim
<b>Anticoagulantes (Marcoumar ou Marevan)</b>	( ) não	( ) sim
<b>Imunossupressores (Azatioprina, Metotrexato, Ciclosporina, Etanercept, Leflunomida, outros)</b>	( ) não	( ) sim
<b>Glicocorticóides (Prednisona, Fludrocortisona, Prednisolona, Dexametasona, Hidrocortisona, outros)</b>	( ) não	( ) sim
<b>Antidepressivos</b>	( ) não	( ) sim

**2.4 - O(a) sr(a) sente falta de ar enquanto caminha apressadamente ou sobe uma lomba?**

( ) não ( ) sim – *Considere insuficiência cardíaca possível e classifique pelo maior grau.*

*Qualquer resposta “SIM” exclui o paciente do estudo.*

<b>Tem diagnóstico de insuficiência cardíaca ou vem em uso de medicações para o coração dilatado ou crescido?</b>	( ) não	( ) sim
<b>Sente falta de ar para acompanhar a caminhada de outras pessoas de sua idade, andando em terreno plano?</b>	( ) não	( ) sim (Grau 2)
<b>Sente falta de ar para caminhar em seu ritmo normal em um terreno plano?</b>	( ) não	( ) sim (Grau 3)
<b>Sente falta de ar para se vestir ou tomar banho sem auxílio?</b>	( ) não	( ) sim (Grau 4)

**2.5 - O(a) sr(a) ingere bebida de álcool de maneira habitual?**

( ) não ( ) sim

*A resposta “SIM” exclui o paciente do estudo.*

**2.6 - O(a) sr(a) faz uso de algum tipo de substância de abuso ( maconha, cocaína, LSD, êxtase,...)?**

( ) não ( ) sim

*A resposta “SIM” exclui o paciente do estudo*

**2.7 - O(a) sr(a) fuma atualmente?** ( ) sim ( ) não

**Ou já fumou?** ( ) sim ( ) não

<b>Em que ano começou a fumar?</b>
<b>Parou de fumar?</b> ( ) sim, em / (mês/ano) ( ) não
<b>Quantos cigarros fuma ou fumava por dia?</b> ( ) < 10 cigarros/dia ( ) 10 – 20 cigarros/dia

20 – 40 cigarros/dia

> 40 cigarros/dia

**2.8 - O(a) sr(a) ingere alimentos ou bebidas como:**

chocolate       café       chá preto/verde       chimarrão

**2.9 - O(a) sr(a) é diabético(a)?**

sim

não / não sabe

**Desde que ano sabe-se diabético?**

**3) Diagnósticos Clínicos Conhecidos:**

- a) \_\_\_\_\_
- b) \_\_\_\_\_
- c) \_\_\_\_\_
- d) \_\_\_\_\_

**4) Medicamentos em Uso:**

Nome Farmacológico	Início	mg / dia	Suspensão
1)			
2)			
3)			
4)			
5)			
6)			
7)			
8)			
9)			
10)			

**4.1 – O (A) sr.(a) toma seus medicamentos regularmente, nos horários indicados pelo seu médico?**

sim

não

O que o(a) sr.(a) faz quando esquece de tomar?

**4.2 – Se algum medicamento que o(a) sr.(a) usa regularmente lhe causa um ou mais dos sintomas abaixo, marque-o(s):**

náusea       diarreia       insônia       tontura       secura na boca

<input type="checkbox"/> dor de cabeça	<input type="checkbox"/> sonolência	<input type="checkbox"/> constipação	<input type="checkbox"/> tremores	<input type="checkbox"/> fezes amolecidas
--	-------------------------------------	--------------------------------------	-----------------------------------	---

### **5) Exame Físico:**

#### **5.1 - Dados Antropométricos:**

Peso	Kg
Altura	cm

#### **5.2 - Sinais Vitais:**

FC	bpm
PA (1)	mmHg
PA (2)	mmHg
<b>PA (média)</b>	<b>mmHg</b>

*Considere duas medidas consecutivas com diferença máxima de 5 mmHg.*

#### **5.3 - Inspeção, Palpação e Ausculta:**

<b>ACV</b>	
<b>AP</b>	
<b>ABD</b>	
<b>MsIs</b>	

### **6) Exames laboratoriais:**

<b><i>Análise de Urina (fita)</i></b>		
Proteinúria	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Glicosúria	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
ITU	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não

<b><i>Análise de sangue - Laboratório</i></b>	
Hemograma	
Hct	%
Hb	g/dL
VCM	fL
CHCM	g/dL
Leucócitos	/ $\mu$ L
TGO (AST)	U/L
TGP (ALT)	U/L
Glicemia	mg/dL
Creatinina	mg/dL

***Assinatura do médico examinador:***

### 13. Anexo 5: Escala de Depressão Geriátrica Yesavage

<i>QUESTÕES</i>	<i>SIM</i>	<i>NÃO</i>
Em geral, você está satisfeito com a vida?		
Abandonou várias de suas atividades e das coisas que tinha interesse?		
Sente que sua vida está vazia ?		
Sente-se aborrecido com freqüência ?		
Tem esperança quanto ao futuro ?		
Anda aborrecido com pensamentos que não saem da sua mente ?		
Está de bom humor a maior parte do tempo ?		
Tem medo que algo de ruim aconteça com o(a) sr(sra) ?		
Sente-se feliz a maior parte do tempo ?		
Sente-se desamparado(a) ou abandonado(a) com freqüência ?		
Sente-se impaciente e nervoso com freqüência ?		
Prefere ficar em casa a sair e fazer coisas diferentes ?		
Preocupa-se freqüentemente com o futuro ?		
Acha que tem mais problemas de memória do que a maioria ?		
Acha maravilhoso estar vivo agora ?		
Sente-se desanimado e triste com freqüência ?		
Sente-se inútil do jeito que você é agora ?		
O passado lhe aborrece muito ?		
Acha muito excitante viver ?		
Sente resistência para iniciar projetos novos ?		
Sente-se cheio de energia ?		
Considera sem esperança a situação em que se encontra ?		
Acha que as outras pessoas está numa situação melhor que o(a) sr(a) ?		
Fica aflito(a) freqüentemente com pequenas coisas ?		
Tem vontade de chorar com freqüência ?		
Tem problemas de se concentrar ?		
Gosta de se levantar de manhã ?		
Prefere evitar reuniões sociais ?		
É fácil para o(a) sr(a) tomar decisões ?		
A sua mente está clara como sempre ?		
<b>ESCORE FINAL</b>		

## 14. Anexo 6: Inventário de Enfrentamento do Stress (Coping)

### INVENTÁRIO DE ESTRATÉGIAS DE COPING

(Ways of Coping Inventory – Folkman e Lazarus, 1985 - adaptado por Savóia et al. 1996)

Leia cada item abaixo e indique, fazendo um círculo na categoria apropriada, o que você fez na situação \_\_\_\_\_.

(0) – Não usei esta estratégia

(1) – Usei um pouco

(2)– Usei bastante

(3)– Usei em grande quantidade

1. Concentrei-me no que deveria ser feito em seguida, no próximo passo (0) (1) (2) (3)
2. Tentei analisar o problema para entendê-lo melhor (0) (1) (2) (3)
3. Procurei trabalhar ou fazer alguma atividade para me distrair (0) (1) (2) (3)
4. Deixei o tempo passar , a melhor coisa que poderia fazer era esperar. O tempo é o melhor remédio (0) (1) (2) (3)
5. Procurei tirar alguma vantagem da situação (0) (1) (2) (3)
6. Fiz alguma coisa que acreditava não dar resultados, mas ao menos estava fazendo alguma coisa (0) (1) (2) (3)
7. Tentei encontrar a pessoa responsável para mudar suas idéias (0) (1) (2) (3)
8. Conversei com outra(s) pessoa(s) sobre o problema, procurando mais dados sobre a situação (0) (1) (2) (3)
9. Critiquei-me, repreendi-me (0) (1) (2) (3)
10. Tentei não fazer nada que fosse irreversível, procurando deixar outras opções (0) (1) (2) (3)
11. Esperei que um milagre acontecesse (0) (1) (2) (3)
12. Concordei com o fato e aceitei meu destino (0) (1) (2) (3)
13. Fiz como se nada tivesse acontecido (0) (1) (2) (3)
14. Procurei guardar para mim mesmo(a) os meus sentimentos (0) (1) (2) (3)
15. Procurei encontrar o lado bom da situação (0) (1) (2) (3)
16. Dormi mais que o normal (0) (1) (2) (3)
17. Mostrei a raiva para as pessoas que causaram o problema (0) (1) (2) (3)
18. Aceitei a simpatia e a compreensão das pessoas (0) (1) (2) (3)
19. Disse coisas a mim mesmo(a) que ajudassem a me sentir bem (0) (1) (2) (3)
20. Inspirou-me a fazer algo criativo (0) (1) (2) (3)
21. Procurei a situação desagradável (0) (1) (2) (3)
22. Procurei ajuda profissional (0) (1) (2) (3)
23. Mudei ou cresci como pessoa de uma maneira positiva (0) (1) (2) (3)
24. Esperei para ver o que acontecia antes de fazer alguma coisa (0) (1) (2) (3)
25. Desculpei ou fiz alguma coisa para repor os danos (0) (1) (2) (3)
26. Fiz um plano de ação e o segui (0) (1) (2) (3)
27. Tirei o melhor da situação, o que não era esperado (0) (1) (2) (3)
28. De alguma forma extravasei os meus sentimentos (0) (1) (2) (3)
29. Compreendi que o problema foi provocado por mim (0) (1) (2) (3)
30. Sai da experiência melhor do que eu esperava (0) (1) (2) (3)
31. Falei com alguém que poderia fazer alguma coisa concreta sobre o problema (0) (1) (2) (3)
32. Tentei descansar e tirar férias a fim de esquecer o problema (0) (1) (2) (3)
33. Procurei me sentir melhor comendo, fumando, utilizando drogas ou medicação (0) (1) (2) (3)
34. Enfrentei como um grande desafio, fiz algo muito arriscado (0) (1) (2) (3)
35. Procurei não fazer nada apressadamente ou seguir o meu primeiro impulso (0) (1) (2) (3)
36. Encontrei novas crenças (0) (1) (2) (3)
37. Mantive meu orgulho não demonstrando meus sentimentos (0) (1) (2) (3)
38. Redescobri o que é importante na vida (0) (1) (2) (3)

39. Modifiquei aspectos da situação para que tudo desse certo no final (0) (1) (2) (3)
40. Procurei fugir das pessoas em geral (0) (1) (2) (3)
41. Não me deixei impressionar, recusava-me a pensar muito sobre esta situação (0) (1) (2) (3)
42. Procurei um amigo ou parente para pedir conselhos (0) (1) (2) (3)
43. Não deixei que os outros soubessem da verdadeira situação (0) (1) (2) (3)
44. Minimizei a situação me recusando a preocupar-me seriamente com ela (0) (1) (2) (3)
45. Falei com alguém sobre como estava me sentindo (0) (1) (2) (3)
46. Recusei recuar e batalhei pelo que eu queria (0) (1) (2) (3)
47. Descontei minha raiva em outra(s) pessoa(s) (0) (1) (2) (3)
48. Busquei nas experiências passadas uma situação similar (0) (1) (2) (3)
49. Eu sabia o que deveria ser feito, portanto dobrei meus esforços para fazer o que fosse necessário (0) (1) (2) (3)
50. Recusei acreditar que aquilo estava acontecendo (0) (1) (2) (3)
51. Prometi a mim mesmo que as coisas serão diferentes na próxima vez (0) (1) (2) (3)
52. Encontrei algumas soluções diferentes para o problema (0) (1) (2) (3)
53. Aceitei, nada poderia ser feito (0) (1) (2) (3)
54. Procurei não deixar que meus sentimentos interferissem muito nas outras coisas que eu estava fazendo (0) (1) (2) (3)
55. Gostaria de poder mudar o que tinha acontecido, ou como me senti (0) (1) (2) (3)
56. Mudei alguma coisa em mim, modifiquei-me de alguma forma (0) (1) (2) (3)
57. Sonhava acordado(a) ou imaginava um lugar ou tempo melhores do que aqueles em que eu estava (0) (1) (2) (3)
58. Desejei que a situação acabasse ou que de alguma forma desaparecesse (0) (1) (2) (3)
59. Tinha fantasias de como as coisas iriam acontecer, como se encaminhariam (0) (1) (2) (3)
60. Rezei (0) (1) (2) (3)
61. Preparei-me para o pior (0) (1) (2) (3)
62. Analisei mentalmente o que fazer e o que dizer (0) (1) (2) (3)
63. Pensei em uma pessoa que admiro e a tomei como modelo (0) (1) (2) (3)
64. Procurei ver as coisas sobre o ponto de vista da outra pessoa (0) (1) (2) (3)
65. Eu disse a mim mesmo(a) que as coisas poderiam ter sido piores (0) (1) (2) (3)
66. Corri ou fiz exercícios (0) (1) (2) (3)

## 15. Anexo 7: Esquema e planejamento do trabalho com os participantes

### ESQUEMA

	DIA 1	DIA 2	DIA 3
<b>Local</b>	Consultório	HSL-PUCRS	Domicílio
<b>Procedimentos</b>	1.Termo de consentimento 2.Anamnese 3.Exame clínico	1. Saliva 8-9h 2. Sangue 09:30h 3. Aval.Psicológica (Estresse, Ansiedade, Depressão) 4. Teste Memória 5. Saliva 12h 6. Saliva 19-20h 7. Dexa (1 mg) 23h	1.Saliva 08-09h
<b>Material coletado</b>	-	Sangue (1x)/saliva (3x)	Saliva (1x)

### OBSERVAÇÕES:

1. O **DIA 1** será sempre num sábado, no consultório particular da M. Cristina Cachapuz Berleze, situado na Rua Pe. Chagas, conjunto .
2. Para o **DIA 2**, o cuidador deverá vir em jejum. Após a coleta de sangue, será servido um café da manhã.
3. A avaliação psicológica e o teste de memória serão feitos nas salas de aula do IGG, no 3º andar.
4. No **DIA 3**, os dois frascos de saliva serão recolhidos na residência do cuidador.

### DATAS :

JANEIRO – 17, 19 e 20  
24, 26 e 27

MARÇO – 13, 15 e 16  
20, 22 e 23  
27, 29 e 30

ABRIL - 17, 19 e 20  
24, 26 e 27

MAIO – 15, 17 e 18  
22, 24 e 25

## PLANEJAMENTO

	<b>Dia 1 (sábado)</b>	<b>Dia 2 (segunda)</b>	<b>Dia 3 (terça)</b>
<b>local</b>	Consultório particular Dra. M. Cristina C. Berleze – Rua Pe. Chagas, conj.	Hospital S.Lucas – PUCRS, 2º andar, IPB	Domicílio
<b>horário</b>	8h00min – 12h00min	8h00min – 12h00min	A combinar
<b>procedimentos</b>	Apresentação do Termo de Consentimento Anamnese Exame clínico	1. Coleta de saliva 2. Coleta de sangue 3. Entrevista psicológica (*) 4. Teste de memória (*) 5. Coleta de saliva 6. Entrega do material	1. Buscar os dois frascos com sua saliva, que devem ter ficado na GELADEIRA.
<b>equipe</b>	Dra. M. Cristina C. Berleze Cristina M. Moriguchi Jeckel Maria Elisa (acadêmica) Cristine Reis ( “ )	Cristina M. (1, 5 e 6) Leandro e Priscilla (bolsistas PSICO) (*) As entrevistas e o teste de memória serão feitos em duas salas de aula do IGG, já previamente reservadas até final de maio/04 Rodrigo (bolsista) Flávia (mestranda) Ingrid Moisés	Cristina M. M. J.
<b>material necessário</b>	Fita para exame de urina Cafezinho Bolachinhas	Avaliações clínicas (xerox) Entrevistas (escalas) Teste de memória (xerox) Lápis/caneta Som portátil Kits para a coleta de saliva, incluindo a dexametasona Café da manhã (café, leite...)	Moto-boy



---

## 16. ANEXO 8: CARTA-RESPOSTA AOS PARTICIPANTES DO ESTUDO

---

Porto Alegre, 11 de junho de 2004.

Prezado(a) senhor(a):

O Sr(a) participou da pesquisa com título "*Aspectos Psiconeuroimunológicos de Cuidadores de Pacientes com Demência*", tendo sido submetido a avaliação laboratorial através de exames de sangue e avaliação psicológica por testes de memória e entrevistas.

Seus exames laboratoriais apresentaram valores dentro da normalidade.

Na escalas de avaliação do estresse por nós utilizadas, seu nível de estresse permaneceu dentro dos valores médios demonstrados por cuidadores de familiares com demência.

Agradecemos a enorme contribuição de sua participação em nossa pesquisa e aproveitamos a oportunidade de convidá-lo(a) para as reuniões do Grupo de Cuidadores de Pacientes com Demência do HSL-PUCRS, no primeiro sábado de cada mês, no auditório do IPB (Instituto de Pesquisas Biomédicas), situado no 2º andar do Hospital São Lucas da PUCRS. Estamos enviando as datas dos próximos encontros em anexo.

Atenciosamente.

Cristina Maria Moriguchi Jeckel  
*Farmacêutica - Professora PUCRS*

Maria Cristina Cachapuz Berleze  
*Médica Geriatra*