

Concentrações de selênio em idosos com doença de Alzheimer: um estudo transversal com grupo controle

Selenium concentrations in elderly people with Alzheimer's disease: a cross-sectional study with control group
Concentraciones de selenio en ancianos con enfermedad de Alzheimer: un estudio trasversal con equipo-control

Carlos Queiroz do Nascimento^I

ORCID: 0000-0002-3345-2500

João Araújo Barros-Neto^{II}

ORCID: 0000-0002-7603-1095

Nathalia Fidelis Lins Vieira^{III}

ORCID: 0000-0002-0974-2196

José Antonio Menezes-Filho^{III}

ORCID: 0000-0002-3191-4484

Sabrina Joanny Felizardo Neves^{III}

ORCID: 0000-0001-9651-0600

Sonia Oliveira Lima^I

ORCID: 0000-0002-3257-2412

^I Universidade Tiradentes. Aracaju, Sergipe, Brasil.

^{II} Universidade Federal de Alagoas. Maceió, Alagoas, Brasil.

^{III} Universidade Federal da Bahia. Salvador, Bahia, Brasil.

Como citar este artigo:

Nascimento CQ, Barros-Neto JA, Vieira NFL, Menezes-Filho JA, Neves SJF, Lima SO. Selenium concentrations in elderly people with Alzheimer's disease: a cross-sectional study with control group. Rev Bras Enferm. 2021;74(Suppl 2):e20200984. <https://doi.org/10.1590/0034-7167-2020-0984>

Autor Correspondente:

Carlos Queiroz do Nascimento
E-mail: carlosqueiroz.nascimento@gmail.com



EDITOR CHEFE: Dulce Barbosa
EDITOR ASSOCIADO: Alvaro Sousa

Submissão: 30-05-2020 **Aprovação:** 26-09-2020

RESUMO

Objetivo: Investigar possíveis diferenças nas concentrações de selênio no plasma e nos eritrócitos de idosos com e sem a doença de Alzheimer (DA). **Métodos:** Estudo transversal, realizado com idosos com DA, diagnosticados por médico geriatra, e comparado a um grupo de idosos sem a doença, pareado por sexo, escolaridade e idade. As concentrações de selênio total (Se_t) intraeritocitárias e plasmáticas foram determinadas por espectrofotometria de absorção atômica. **Resultados:** A média da idade foi $74,41 \pm 7,1$ anos no grupo DA e $71,46 \pm 5,1$ anos no grupo controle. O grupo doença de Alzheimer apresentou menores concentrações plasmáticas (média de $45,29 \pm 14,51$ $\mu\text{g/dL}$ vs. $55,14 \pm 4,01$ $\mu\text{g/dL}$; $p = 0,004$) e eritrocitárias de Se_t (mediana de $56,36$ $\mu\text{g/L}$ vs. $76,96$ $\mu\text{g/L}$; $p < 0,001$). O modelo de regressão logística indicou associação entre concentrações eritrocitárias de Se_t e o diagnóstico de doença de Alzheimer ($p = 0,028$). **Conclusão:** Idosos com DA apresentam concentrações menores de selênio plasmático e eritrocitário.

Descritores: Selênio; Doença de Alzheimer; Idoso; Antioxidantes; Demência.

ABSTRACT

Objective: To investigate possible differences in plasma and erythrocyte concentrations of selenium among elderly with and without a diagnosis of Alzheimer's disease (AD). **Methods:** Cross-sectional study, performed with an elderly group with Alzheimer's disease, diagnosed by a geriatric doctor, and compared to an elderly group without the disease, equaling gender, education, and age. Atomic absorption spectrophotometry determined plasma and erythrocyte concentrations of total selenium (Se_t). **Results:** The mean age was 74.41 ± 7.1 years in the Alzheimer's disease group and 71.46 ± 5.1 years among the control group. The Alzheimer's disease group presented lower plasma concentrations (mean of 45.29 ± 14.51 $\mu\text{g/dL}$ vs. 55.14 ± 4.01 $\mu\text{g/dL}$; $p=0.004$), and erythrocyte Se_t (median of 56.36 $\mu\text{g/L}$ vs. 76.96 $\mu\text{g/L}$; $p < 0.001$). The logistic regression model indicated an association between erythrocyte Se_t concentrations and diagnosis of Alzheimer's disease ($p=0.028$). **Conclusion:** Elderly with Alzheimer's disease present lower selenium concentrations in the evaluated organic compartments.

Descriptors: Selenium; Alzheimer's Disease; Elderly; Antioxidants; Dementia.

RESUMEN

Objetivo: Investigar posibles diferencias en las concentraciones plasmáticas y eritrocitarias de selenio entre ancianos con y sin diagnóstico de Alzheimer (DA). **Métodos:** Estudio transversal, realizado con un equipo de ancianos con diagnóstico de Alzheimer, diagnosticados por geriatra, y comparado a un equipo de ancianos sin la enfermedad, pareado por sexo, escolaridad y edad. Las concentraciones plasmáticas y eritrocitarias de selenio total (Se_t) determinadas por espectrofotometría de absorción atômica. **Resultados:** La mediana de edad han sido $74,41 \pm 7,1$ años en el equipo diagnóstico de Alzheimer y $71,46 \pm 5,1$ años en el equipo control. El equipo diagnóstico de Alzheimer presentó menores concentraciones plasmáticas (mediana de $45,29 \pm 14,51$ $\mu\text{g/dL}$ vs. $55,14 \pm 4,01$ $\mu\text{g/dL}$; $p = 0,004$) y eritrocitarias de Se_t (mediana de $56,36$ $\mu\text{g/L}$ vs. $76,96$ $\mu\text{g/L}$; $p < 0,001$). El modelo de regresión logística indicó relación entre concentraciones eritrocitarias de Se_t y el diagnóstico de diagnóstico de Alzheimer ($p = 0,028$). **Conclusión:** Ancianos con diagnóstico de Alzheimer presentan menores concentraciones de selenio en los compartimentos orgánicos evaluados.

Descritores: Selenio; Enfermedad de Alzheimer; Anciano; Antioxidantes; Demencia.

INTRODUÇÃO

O envelhecimento populacional traz consigo problemas que desafiam o sistema de saúde⁽¹⁻²⁾. Dentre eles, as demências têm incapacitado idosos em todo o mundo por levarem à perda da independência e, quase inevitavelmente, da autonomia⁽³⁻⁴⁾.

A doença de Alzheimer (DA), forma mais comum de demência, é caracterizada por distúrbio progressivo da memória e outras funções, afetando o funcionamento ocupacional. Apresenta prevalência de pelo menos 27 milhões de pessoas em todo o mundo, correspondendo a um número que varia entre 60% e 70% de todos os casos de demência, sendo a idade o principal fator de risco para a doença⁽⁵⁾.

Adicionalmente, outros fatores podem favorecer a ocorrência de danos ao sistema nervoso central do idoso, entre os quais o estresse oxidativo, que parece estar relacionado com a maior ocorrência de lesões em regiões cerebrais responsáveis pela cognição e pode levar à inativação enzimática, mutação, ruptura de membrana e apoptose⁽⁶⁾.

O estresse oxidativo desempenha um papel central na iniciação e progressão da DA. O cérebro é particularmente vulnerável ao dano oxidativo devido à sua elevada taxa de utilização de oxigênio; alto conteúdo de lipídios poli-insaturados que são susceptíveis à peroxidação lipídica; e concentrações relativamente precárias de antioxidantes⁽⁷⁾. Além disso, o processo de envelhecimento implica mudanças morfológicas e fisiológicas no cérebro, resultando em maior produção de espécie reativa de oxigênio (ERO) e diminuição da capacidade antioxidante⁽⁸⁾.

Atualmente, evidências disponíveis sugerem que a deficiência de nutrientes com atividades antioxidantes, como vitamina A e E, além de alguns minerais como o zinco e selênio, esteja associada a declínios de cognição, possivelmente por algum mecanismo oxidativo, no qual os antioxidantes provenientes da dieta atuariam como fatores de proteção ao desenvolvimento dessas doenças⁽⁹⁾.

O selênio é um importante nutriente na DA devido às suas múltiplas funções. Como antioxidante, ele protege o dano celular mediado pelo estresse oxidativo por meio de uma série de selenoproteínas, principalmente glutatona peroxidase (GSH-Px) e selenoproteína P, as quais impedem a formação de radicais livres, protegendo o organismo da agressão oxidativa⁽⁹⁻¹⁰⁾. Essas proteínas parecem estar em concentrações menores nos diferentes compartimentos orgânicos (plasma, eritrócitos, líquido cefalorraquidiano e tecidos cerebrais) de idosos com declínio cognitivo quando comparados a idosos saudáveis^(9,11-12). Vincent et al. (2017) observaram correlação positiva entre as concentrações de espécies desse nutriente em alguns compartimentos corporais com o desenvolvimento da doença⁽¹³⁾, achado que fortalece a necessidade de esclarecimento da relação selênio versus DA.

Apesar da existência de metanálises, os resultados dos estudos disponíveis sobre os níveis plasmáticos de selênio em DA são inconsistentes, pois enquanto alguns estudos mostraram que os pacientes com DA têm níveis mais baixos de selênio plasmático^(7,14-15), outros relataram de forma contrária um aumento ou nenhuma mudança⁽¹⁶⁻¹⁷⁾. As avaliações das concentrações eritrocitárias, como as realizadas neste estudo, são ainda insuficientes, porém muito necessárias para contribuir para o entendimento da homeostase desse mineral em idosos e seus efeitos na DA⁽⁹⁾.

Dessa forma, conhecer as concentrações orgânicas de selênio, especialmente nos eritrócitos e plasma, é essencial para melhor identificação do status desse nutriente em idosos com DA, uma vez que a maioria dos estudos são limitados à análise de líquido cefalorraquidiano, soro ou tecidos cerebrais. Assim, são poucos os estudos que auxiliam na compreensão do estado nutricional relacionado a esse mineral em idosos e das possíveis associações entre a atividade desse micronutriente com o processo de desenvolvimento e progressão da doença. Uma tal investigação pode também contribuir para o planejamento e gestão das ações de atenção à saúde da pessoa idosa, bem como para a prevenção ou tratamento da DA.

OBJETIVO

Investigar possíveis diferenças nas concentrações plasmáticas e eritrocitárias de selênio entre idosos com e sem o diagnóstico da doença de Alzheimer.

MÉTODOS

Aspectos éticos

O estudo foi desenvolvido seguindo as recomendações da Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde do Brasil e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas. Os pacientes elegíveis e participantes do estudo assinaram, antes, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Desenho do estudo, local e período

Estudo exploratório e observacional do tipo transversal com grupo-controle, pareado por sexo, escolaridade e idade (± 5 anos).

A amostra desse estudo foi formada por idosos acompanhados no Ambulatório de Geriatria do Hospital Universitário Prof. Alberto Antunes/HUPAA e no Ambulatório de Nutrição para Idosos da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas/UFAL, de 5 de abril de 2017 a 30 de julho de 2018, tendo como guia a ferramenta STROBE (*Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology*)⁽¹⁸⁾.

População, amostra e critérios de inclusão e exclusão

Para calcular o tamanho amostral, os valores médios das concentrações plasmáticas de selênio e seus respectivos desvios-padrão foram determinados previamente a partir da realização de um projeto-piloto. A diferença média detectada como significativa foi baseada em estudos originais publicados com pacientes com Alzheimer. Foi identificado o tamanho amostral esperado para este estudo considerando-se o nível de significância de 5% e poder de 90%. Assim, o tamanho da amostra para comparação das duas proporções, ou seja, a proporção dos expostos com a doença e dos expostos sem doença, em relação às menores concentrações eritrocitárias de selênio total, foi de 102 idosos, tendo em conta a proporção de dois controles para cada paciente com diagnóstico clínico de doença de Alzheimer; portanto, o tamanho amostral foi de 34 pacientes no grupo doença de Alzheimer (DA) e 68 no grupo-controle (C)⁽¹⁹⁾.

O grupo-caso (DA) foi formado por idosos com diagnóstico clínico de doença de Alzheimer e que cumpriram os critérios de inclusão do estudo ($n = 34$) e foi encaminhado para essa pesquisa por um médico geriatra, após avaliação e diagnóstico da DA. O grupo-controle (C) foi composto por idosos saudáveis, preferencialmente indicados pelo próprio paciente ou cuidador (familiares ou pessoas residentes na mesma região geográfica) ou por idosos já assistidos pelo médico geriatra, desde que não possuíssem critérios para a DA, avaliados pelo mesmo profissional, e que atendessem aos critérios de pareamento, sendo recrutados dois controles para cada caso ($n = 68$). Foram incluídos idosos de ambos os sexos e com idade superior a 60 anos.

Para o grupo-caso, os critérios de inclusão foram: ter diagnóstico de Alzheimer confirmado por médico geriatra; não fazer uso de suplementação nutricional de selênio; e não possuir doenças metabólicas reconhecidas por comprometer o metabolismo de selênio. Para o grupo-controle, seguiram-se os mesmos critérios de inclusão do grupo-caso, exceto o diagnóstico para Alzheimer, além de não poder apresentar nenhum comprometimento cognitivo, também avaliado por médico geriatra.

Foram excluídos idosos com deficiência física e/ou com doenças crônicas descompensadas (cardiopatas, doenças tireoidianas, doença gastrointestinal crônica, doença renal ou insuficiência hepática). Também foram excluídos os idosos que apresentaram algum déficit cognitivo ou suspeita de outros tipos de demência, após avaliação geriátrica.

Protocolo do estudo

Como instrumento para coleta de dados, foi utilizado um questionário, previamente estabelecido e aplicado durante a primeira consulta, contendo informações como estilo de vida, dados antropométricos, tempo de diagnóstico e classificação da doença de Alzheimer, características étnicoraciais (autorreferidas), variáveis sociodemográficas, além das concentrações plasmáticas e eritrocitárias de selênio.

Todas as perguntas foram respondidas com auxílio do cuidador/a ou familiar dos idosos com diagnóstico da doença de Alzheimer, ao passo que, no grupo-controle, os próprios idosos responderam a todos os questionamentos da pesquisa.

Antropometria

A variável utilizada para diagnóstico nutricional nos idosos deste estudo foi o Índice de Massa Corporal (IMC), calculado pela razão entre o peso e o quadrado da altura. Para determinação da massa corporal (peso) foi utilizada balança digital, com capacidade máxima de 200 kg e precisão de 50g, seguindo os procedimentos estabelecidos por Lohman⁽²⁰⁾. A estatura foi obtida por meio do estadiômetro portátil (Seca[®]), graduado em décimos de centímetros, afixado a uma superfície plana conforme métodos propostos por Lohman, Roache e Martorell et al.⁽²¹⁾. A classificação do estado nutricional pelo IMC seguiu os critérios de Lipschitz, que considera eutrofia os valores de IMC entre 22 e 27kg/m²; magreza, IMC < 22kg/m²; e excesso de peso, IMC > 27kg/m²⁽²²⁾.

Diagnóstico da doença de Alzheimer e Capacidade Cognitiva

O diagnóstico de provável doença de Alzheimer foi realizado por médico geriatra, baseado nos critérios do National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS - ADRDA)⁽²³⁾ e critério revisado do National Institute on Aging-Alzheimer's Association⁽²⁴⁾. O tempo de diagnóstico da doença foi contabilizado a partir do primeiro dia de registro do diagnóstico em prontuário médico.

A avaliação da capacidade cognitiva, em ambos os grupos, foi realizada por meio do *MiniMental State Examination* (MMSE)⁽²⁵⁾, no primeiro dia de admissão nesta pesquisa.

Coleta de sangue e determinação de selênio total (Se_t)

Para as dosagens de selênio, foram coletados 18,0 mL de sangue, com os idosos em jejum por um período mínimo de 8 h. A coleta desse material foi realizada utilizando tubo com anticoagulante (citrato de sódio a 0,32%) e posteriormente foi centrifugado a 3.000 rpm durante 15 minutos para obtenção do plasma, o qual foi transferido para tubos tipo eppendorf com capacidade de 1 mL.

A massa de eritrócitos foi extraída após a separação do plasma. Na sequência a massa de eritrócitos foi lavada utilizando solução de cloreto de sódio a 0,9%, centrifugada por 3 vezes em 10.000 rpm por 10 minutos e armazenada a -80 °C.

A concentração de Se_t no plasma foi determinada por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e correção baseada no efeito Zeeman. Para esta análise o aparelho foi calibrado da seguinte forma:: Comprimento de onda (λ): 196,0 nm; Corrente da lâmpada: 290 mA; e Fenda: 2,0 nm.

O modificador químico de matriz utilizado para esta análise foi o *Palladium* (Pd) e o Mg (NO₃)₂ (200 μ L de Pd e 125 μ L do Mg [NO₃]₂). A detecção limítrofe do método foi inferior a 10 mg/L com precisão de 11% e 1%, respectivamente. As amostras foram diluídas — na proporção de 1:4 com HNO₃ a 0,2% + 0,2% de TRITON com análises realizadas em duplicatas.

A dosagem do selênio intracelular ocorreu inicialmente por meio da digestão da massa de eritrócitos utilizando solução de HNO₃ concentrado (2mL) e H₂O₂ (500 μ L) que foram adicionadas às alíquotas de eritrócitos em *beckers* de vidro, os quais permaneceram em repouso por período de 12 horas. Posteriormente foram mantidos em chapa aquecida gradativamente de 50 °C para 110 °C por um período médio de duas horas para volatilização do material orgânico. Na sequência, as soluções foram avolumadas para 5 mL com água ultrapura (Milli-Q, Merck/Millipore) e submetidas à leitura diretamente no espectrômetro modelo GTA 120.

O ponto de corte usado para avaliar as concentrações de Se_t no plasma foi 46-143 μ g/dL. Como atualmente não há consenso quanto ao ponto de corte para concentrações de selênio nos eritrócitos, a frequência de idosos com baixas concentrações intraeritrocitárias de selênio total foi analisada por meio de agrupamento dos valores encontrados da concentração deste mineral nos eritrócitos em quartis e os resultados foram apresentados em μ g/L.

Análises estatísticas

Para realização das análises estatísticas foi identificado inicialmente a natureza da distribuição e comportamento das variáveis quanto à normalidade de seus resíduos pela aplicação do teste Kolmogorov-Smirnov com correção de Lilliefors. Foi ainda considerado, sua classificação e delineamento experimental. Adotou-se um valor de alfa igual a 5% para rejeição da hipótese nula e os testes foram realizados utilizando o software RStudio - versão 1.1.463 (2018).

A análise descritiva dos dados foi realizada para caracterizar e apresentar as variáveis estudadas. As variáveis discretas/contagem, foram apresentadas em frequências absolutas (n) e relativas (%), enquanto as contínuas foram apresentadas como medidas de tendência central (média ou mediana) e de dispersão/posição [desvio-padrão (DP) ou intervalos interquartis (IQ)].

Para verificar a associação entre as frequências esperadas e as observadas foi aplicado o teste qui-quadrado de Pearson ou teste de Barnard. A magnitude da associação entre as variáveis de exposição e desfecho foi avaliada mediante a razão de chances/*odds ratio* (OR) e seu respectivo IC 95%. A seleção de potenciais variáveis de exposição para a verificação de uma possível associação com a ocorrência da doença de Alzheimer foi realizada, primeiramente, por meio de análises não lineares (*logit*) bivariadas tendo o $p < 0,2$ como ponto de corte para seleção.

A fim de avaliar uma possível diferença entre grupos ($p < 0,05$) para as variáveis Se, plasmático e eritrocitário no presente estudo, adotou-se a estatística teste *t* de Student e Mann-Whitney, respectivamente.

Com o objetivo de modelar a associação da doença de Alzheimer em função das reservas corporais de selênio (concentrações séricas e eritrocitárias) e outras possíveis variáveis de confundimento, adotou-se o método GLM (modelos lineares generalizados; família "binomial"), ajustado pelas variáveis "sexo", "idade" e "escolaridade".

Para a escolha do modelo regressivo linear múltiplo que melhor atendesse ao referido estudo, adotou-se o método dos mínimos quadrados ordinários (MQO) na opção *Backward*. Assim, partiu-se de um modelo composto por todas as variáveis explicativas para o desfecho DA até obter-se um modelo mais bem ajustado, respeitando-se os pressupostos de normalidade dos resíduos, homocedasticidade e ausência de multicolinearidade, além da qualidade do ajustamento pelo coeficiente de determinação ajustado (R_{adj}^2).

RESULTADOS

A amostra desta pesquisa foi formada por 102 idosos (34 com DA e 68 idosos sem a doença). Ambos os grupos foram formados em sua maioria por mulheres (64,7 e 77,9%, respectivamente), casadas ou em união estável (70,6 e 50,8%), não tabagistas (97,1 e 98,5%) (Tabela 1).

A média da idade no grupo de idosos com Alzheimer foi de 74,41 anos \pm 7,1 DP e no grupo de idosos sem o diagnóstico da doença foi de 71,46 anos \pm 5,1 DP. O tempo médio de diagnóstico da doença no grupo de idosos com DA foi de aproximadamente 11,4 meses, e nenhum dos idosos desta pesquisa foi classificado com nível severo da doença, sendo 15 (44,1%) classificados com DA leve; e 19 (63,9%), moderada.

Tabela 1 - Perfil socioeconômico, estilo de vida, condições de saúde e estado nutricional de idosos com e sem doença de Alzheimer, Maceió, Alagoas, Brasil, 2018

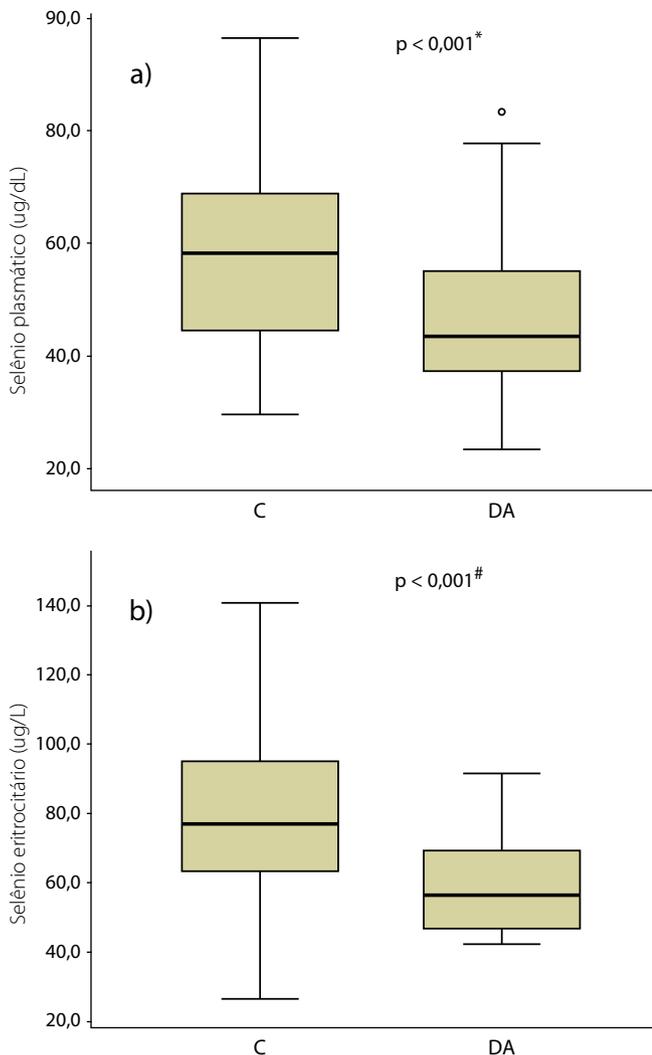
	DA (n = 34)		C (n = 68)		χ^2	Valor de p	OR	OR (IC _{95%})
	N	%	n	%				
Sexo								
Homens	12	35,3	15	22,1	2,04	0,153 ^a	0,51	0,290 – 0,1286
Mulheres	22	64,7	53	77,9				
Renda								
> 1 SM	24	70,6	39	57,3	1,68	0,195 ^a	0,56	0,232 - 1,286
< 1 SM	10	29,4	29	42,7				
Escolaridade								
> 5 anos de estudo	10	29,4	39	57,4	7,09	0,008 ^a	3,23	1,338 – 7,785
< 5 anos de estudo	24	70,6	29	42,6				
Estado civil								
Casado/União estável	24	70,6	40	58,8	1,34	0,247 ^a	0,59	0,246 – 1,438
Solteiro/divorciado/viúvo	10	29,4	28	41,2				
Hipertensão Arterial								
Sim	20	58,8	42	61,8	0,08	0,774 ^a	0,88	0,382 – 2,049
Não	14	41,2	26	38,2				
Diabetes								
Sim	9	26,5	10	14,7	2,07	0,150 ^a	2,09	0,756 – 5,763
Não	25	73,5	58	85,3				
Doenças ósseas								
Sim	1	2,9	16	23,5	2,63	0,020 ^b	0,10	0,012 – 0,778
Não	33	97,1	52	76,5				
Estado Nutricional								
Baixo peso	3	8,8	4	5,9	-0,55	0,625 ^b	1,10	0,683 – 0,429
Eutrofia/Excesso de peso	31	81,2	64	94,1				

Notas: DA = Grupo-caso – doença de Alzheimer; C = Grupo-controle; SM = Salário mínimo – equivalente a R\$ 937,00/mês, aproximadamente; ^a Teste qui-quadrado de Pearson; ^b Teste incondicional de Barnard.

O número de anos de estudo (< 5 anos) associou-se com a presença da doença de Alzheimer, aumentando em aproximadamente 3,2 vezes a chance de o idoso ter a DA ($\chi^2 = 7,09$; $p = 0,008$) (Tabela 1).

Com relação às condições de saúde e estado nutricional, pode-se afirmar que os grupos foram semelhantes, não havendo diferença significativa nas frequências de idosos hipertensos, diabéticos ou com comprometimento do estado nutricional. Entretanto, observou-se maior frequência de relato de doenças ósseas (osteopenia/osteoporose) no grupo de idosos com Alzheimer ($\chi^2 = 0,020$; $p = 0,010$) (Tabela 1).

Observou-se que o grupo com DA apresentou concentrações mais baixas de Se_t no plasma, com média de $45,29 \mu\text{g/dL} \pm 14,51 \text{ DP}$ vs. $55,14 \mu\text{g/dL} \pm 14,01 \text{ DP}$ ($p = 0,004$). Menores concentrações eritrocitárias de Se_t também foram observadas no grupo de idosos com o diagnóstico da doença (Mediana = $56,36 \mu\text{g/L}$; Mínimo = $40,64 \mu\text{g/L}$ e Máximo = $93,99 \mu\text{g/L}$ vs. Mediana = $76,96 \mu\text{g/L}$; Mínimo = $26,33 \mu\text{g/L}$ e Máximo = $141,04 \mu\text{g/L}$) ($p < 0,001$) (Figura 1).



Legenda: a) Concentração de selênio plasmático em idosos com e sem Alzheimer; b) Concentração de selênio eritrocitário em idosos com e sem Alzheimer; * Teste t de Student; # Teste de Mann-Whitney.

Figura 1 – Concentração plasmática e eritrocitária de selênio nos idosos com e sem Alzheimer, Maceió, Alagoas, Brasil, 2018

A frequência de idosos classificados com baixas concentrações plasmáticas de Se_t foi maior no grupo-caso (60,60% vs. 27,69%; $\chi^2 = 8,48$; $p = 0,004$). Do mesmo modo, a frequência de idosos agrupados no 1º quartil para as concentrações de Se_t eritrocitário foi maior no grupo de idosos com Alzheimer (51,51% vs. 11,29%; $\chi^2 = 13,34$; $p < 0,001$).

As concentrações plasmáticas e eritrocitárias de Se_t não apresentaram associação com o tempo de diagnóstico da doença no grupo-caso ($p > 0,050$).

A média de pontos obtida no MEEM pelos idosos do grupo-caso foi de 18 pontos (Mín. = 16 e Máx. = 21 pontos), ao passo que a média no grupo-controle foi de 26 pontos (Mín. = 24 e Máx. = 28 pontos).

Considerando que a pontuação obtida no MEEM, em cada grupo, apresentou-se com seus resíduos distribuídos numa curva normal de probabilidades, foi realizada uma análise de regressão linear para explicar o efeito das concentrações plasmáticas e eritrocitárias de Se_t na redução da capacidade cognitiva avaliada pelo MEEM, ajustada por idade, escolaridade e sexo. A concentração plasmática de Se_t não apresentou correlação com a capacidade cognitiva dos idosos. Entretanto, a concentração de selênio intraeritrocitária apresentou correlação positiva com a avaliação cognitiva realizada pelo Mini Exame de Estado Mental em ambos os grupos e em todos os modelos (Tabela 2).

Tabela 2 – Coeficientes regressores lineares para capacidade cognitiva avaliada pelo instrumento de rastreio Mini Exame do Estado Mental (MEEM) em idosos com e sem doença de Alzheimer (DA), Maceió, Alagoas, Brasil, 2018

	Modelo 1		Modelo 2		Modelo 3	
	β^a	Valor p^b	β^a	Valor p^b	β^a	Valor p^b
Grupo DA (n = 34)						
Se_t plasmático	0,146	0,250	0,068	0,647	-	-
Se_t eritrocitário	0,513	< 0,001	0,502	0,002	0,508	0,002
Escolaridade	-0,087	0,491	0,002	0,990	-0,007	0,962
Idade	-0,284	0,033	-0,270	0,084	-0,284	0,060
Sexo	-0,446	0,001	-	-	-	-
R^2	0,609		0,426		0,422	
R^2 ajustado	0,540		0,347		0,364	
Grupo C (n = 68)						
Se_t plasmático	0,104	0,414	0,113	0,370	-	-
Se_t eritrocitário	0,429	< 0,001	0,519	< 0,001	0,570	< 0,001
Escolaridade	0,025	0,825	0,016	0,887	-0,003	0,976
Idade	-0,086	0,446	-0,072	0,513	-0,048	0,651
Sexo	-0,076	0,493	-	-	-	-
R^2	0,335		0,330		0,321	
R^2 ajustado	0,281		0,287		0,289	

Notas: DA = Grupo-caso – doença de Alzheimer; C = Grupo-controle; ^a Coeficientes regressores (Beta) estimados pelo MQO/opção Backward, ajustados por sexo, idade e escolaridade; ^b Teste t; $p < 0,05$; Modelo 1: Ajustado por escolaridade, idade e sexo; Modelo 2: Ajustado por escolaridade e idade; Modelo 3: Ajustado por escolaridade e idade, mas excluindo Se_t plasmático.

O modelo de regressão logística, ajustado por escolaridade, idade e sexo foi desenvolvido com o objetivo de identificar a associação entre os resultados das variáveis independentes deste estudo com o desfecho doença de Alzheimer. Foram incluídos no modelo inicial as concentrações plasmáticas e eritrocitárias de Se_t , diagnóstico clínico de hipertensão e diabetes, estado nutricional, prática de atividade física, condições de moradia e renda.

Após exclusão de Se_t plasmático, diagnóstico clínico de hipertensão e diabetes, prática de atividade física, estado nutricional, condições de moradia e renda, apenas a concentração de selênio intraeritrocitária apresentou associação importante com a DA. Com 95% de confiança, observou-se que, para cada $1 \mu\text{g/L}$ de

selênio intracelular, há uma diminuição de aproximadamente 2,5% na chance de o idoso ter DA (OR = 0,975; p = 0,028; IC 95% = 0,953 – 0,997).

DISCUSSÃO

No presente estudo, as concentrações plasmáticas e eritrocitárias de Se_t aparecem como importantes fatores de risco para a doença de Alzheimer e capacidade cognitiva. Entretanto, as concentrações eritrocitárias de selênio, quando ajustadas por idade, sexo e escolaridade, se mostram como um preditor independente para a doença. O tempo de estudo e a idade, fatores já conhecidos na literatura por aumentar o risco para desenvolvimento da DA, também foram fatores de risco observados nesta pesquisa. É importante destacar que nenhuma correlação entre a idade e as concentrações de selênio foi observada.

O grupo de idosos com Alzheimer apresentou menor tempo de estudo, quando comparado ao grupo sem a doença. Estudo realizado por Iwata et al. identificou uma possível associação entre nível educacional e comprometimento cognitivo leve nos idosos, em que o grupo de homens com alto nível de escolaridade revelou taxa de declínio significativamente mais lenta do que os outros grupos⁽²⁶⁾. Uma metanálise de estudos de coorte prospectivos investigou a relação entre o nível educacional e o risco de demência e evidenciou que o menor desempenho educacional está relacionado a uma maior incidência de demência, e este risco diminui a cada ano de acréscimo na escolaridade⁽²⁷⁾.

O presente estudo identificou que o grupo de idosos com DA apresentou menores concentrações plasmáticas e eritrocitárias de Se_t . Entretanto, Ceballos-Picot et al. observaram associação inversa entre declínio cognitivo e concentrações de selênio, em que o grupo de idosos com DA apresentou maiores concentrações de selênio em eritrócitos e plasma⁽²⁸⁾.

Estudo do tipo caso-controle, realizado por Cardoso et al. na cidade de São Paulo, Brasil, observou que as menores concentrações plasmáticas e eritrocitárias de selênio foram no grupo de idosos com DA, quando comparado ao grupo-controle⁽¹⁴⁾. Do mesmo modo, estudo realizado por Chmatalova et al. na República Tcheca também observou menores concentrações de selênio plasmático no grupo de idosos com Alzheimer quando comparado ao grupo-controle⁽⁷⁾, corroborando os resultados encontrados nesta pesquisa.

Cabe destacar que os critérios utilizados pelos pesquisadores do primeiro estudo são menos sensíveis para Alzheimer (e mais sensível para outras demências) e a análise do selênio plasmático foi realizada por fluorometria, diferindo da maioria dos estudos que, assim como esta pesquisa, utilizaram a espectrofotometria por absorção atômica.

Recente revisão sistemática com metanálise mostrou que os níveis circulantes de selênio (soro, plasma ou sangue total) são realmente menores no grupo de idosos com Alzheimer. Esse resultado também foi visto nas concentrações eritrocitárias, porém sem relevância estatística, devido a uma heterogeneidade significativa entre os dois estudos envolvidos nesta metanálise (I² = 81%)⁽⁹⁾, estudo que corrobora os resultados observados e sugere que novas pesquisas sejam realizadas, principalmente com análise de selênio eritrocitário, para melhor elucidar a relação entre selênio e DA.

Considerando que o estresse oxidativo é o primeiro evento que antecede a DA e, por isso, assume importante papel na etiologia da doença, baixas concentrações desse mineral podem estar associadas a seu processo de esgotamento devido à oxidação que acompanha o envelhecimento e a progressão da DA^(10,29-30).

O equilíbrio entre mecanismos oxidantes e antioxidantes, protagonizado muitas vezes por esse mineral, pode ser um fator que auxilie na descoberta de algumas respostas⁽³¹⁾. Entretanto, nesta pesquisa, não foi possível avaliar o estresse oxidativo nos pacientes.

Além disso, as menores concentrações plasmáticas de selênio encontradas no grupo de idosos com AD podem ser secundárias a uma ingestão atual insuficiente desse mineral, no entanto as concentrações de selênio nesta matriz podem ser afetadas por outros fatores além do comprometimento da ingestão alimentar, particularmente na resposta inflamatória de fase aguda e estresse oxidativo⁽³²⁻³³⁾. Convém destacar que os eritrócitos são o principal locus de armazenamento desse mineral no organismo humano e a redução de suas concentrações ocorrem de maneira mais lenta que no plasma, devido à vida relativamente longa dos eritrócitos⁽³²⁾. Isso reforça a hipótese de que as baixas concentrações de selênio intraeritrocitárias, como observado neste estudo, podem refletir comprometimento crônico da ingestão desse mineral ou demanda metabólica aumentada ao longo dos anos, contribuindo para o desenvolvimento ou evolução clínica da doença.

O desenho deste estudo, transversal com grupo de comparação, não permite identificar a estreita relação causa-efeito entre baixas concentrações de selênio e o aparecimento da doença de Alzheimer, mas evidencia a relação existente entre as duas condições clínicas. Por fim, ressalta-se que, diante do exposto, há a necessidade de melhor elucidar a relação existente entre deficiência de selênio e a DA para posteriormente estabelecer medidas terapêuticas eficazes, seja pela correção da ingestão alimentar habitual, suplementação, desenvolvimento de novos fármacos, seja até mesmo pela combinação dessas ações com o estímulo ao desenvolvimento de atividades ocupacionais que, conhecidamente, reduzem o risco para a doença e garantem qualidade de vida no processo do envelhecimento. Isso porque os estudos sobre suplementação de selênio (exclusivo ou combinado com outros nutrientes) como única terapia utilizada no tratamento da AD também são imprecisos e apresentam resultados contraditórios⁽³⁴⁻³⁸⁾.

Como poucos estudos avaliaram as concentrações de eritrócitos em idosos com Alzheimer, sugere-se que outros, de caráter epidemiológico e clínico, sejam realizados para esclarecer a relação causal entre baixas concentrações de selênio e DA. Clinicamente, faz-se necessário avaliar os efeitos da suplementação de maneira ininterrupta e em longo prazo somado a outros fatores potenciais para o tratamento, permitindo assim entendermos adequadamente o papel deste nutriente na prevenção e/ou controle da progressão da DA. Recomenda-se também que um maior número de pessoas com o diagnóstico da doença possam compor amostras de futuras pesquisas.

Limitações do estudo

Neste estudo, não foi possível estabelecer uma associação direta entre deficiência de selênio e estresse oxidativo em pacientes com

DA, o que é uma limitação significativa. Contudo, uma hipótese de relação indireta parece estar estabelecida.

Outra limitação importante diz respeito à avaliação da capacidade cognitiva pelo MEEM. Embora o Mini Exame do Estado Mental seja um método válido e aceito internacionalmente para identificar o comprometimento cognitivo, essa avaliação pode sofrer influência de outras variáveis (como estado emocional, motivação para o tratamento e nível educacional). Porém, essa limitação foi corrigida ajustando-se as análises por escolaridade para evitar vieses na interpretação dos resultados.

Contribuições para enfermagem, saúde ou políticas públicas

Este estudo teve como objetivo contribuir para o estabelecimento de medidas terapêuticas eficazes, seja pela correção da ingestão alimentar habitual, pela suplementação, seja pelo desenvolvimento de novos medicamentos ou ainda pela combinação dessas ações por meio da estimulação das atividades ocupacionais que, como se sabe, reduzem o risco para a doença e garantem qualidade de vida no processo de envelhecimento. Entretanto, é importante destacar que novas farmacoterapias não devem se limitar apenas ao tratamento nem seguir uma única hipótese postulada. É necessário considerar a prevenção de doenças por meio de estratégias de saúde.

CONCLUSÃO

Os resultados desta pesquisa sugerem que as concentrações plasmáticas e eritrocitárias de Se_t têm uma importante associação com a doença de Alzheimer e que baixas concentrações eritrocitárias podem aumentar as chances de pessoas idosas serem diagnosticadas com DA.

AGRADECIMENTO

Agradecemos a Nutricionista Thainá Barbosa Wanderley por sua contribuição na coleta de dados desta pesquisa. Agradecemos também aos técnicos do Laboratório de Toxicologia (LabTox) da Universidade Federal da Bahia pelo apoio nas análises do material biológico.

FOMENTO

Esta pesquisa foi financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa de Alagoas em parceria com a Secretaria de Saúde do Estado de Alagoas e Ministério da Saúde com recursos para Projetos de Pesquisas para o Sistema Único de Saúde e pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) com financiamento de bolsa de mestrado que possibilitou o desenvolvimento da pesquisa e dissertação⁽³⁹⁾ da qual resultou este manuscrito.

REFERÊNCIAS

1. Partridge L, Deelen J, Slagboom PE. Facing up to the global challenges of ageing. *Nature*. 2018;561:45-56. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0457-8>
2. Wang S, Yang S, Jia W, Cao W, Han K, Liu M, et al. Relationships of lipids profile with health-related quality of life in Chinese Centenarians. *J Nutr Health Aging*. 2020;24:404-11. <https://doi.org/10.1007/s12603-020-1340-5>.
3. Hartman YAW, Karssemeijer EGA, Van Diepen LAM, Olde Rikkert MGM, Thijssen DHJ. Dementia patients are more sedentary and less physically active than age- and sex-matched cognitively healthy older adults. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2018;46(1-2):81-9. <https://doi.org/10.1159/000491995>
4. Mc Ardle R, Del Din S, Donaghy P, Galna B, Thomas A, Rochester L. Factors that influence habitual activity in mild cognitive impairment and dementia. *Gerontol*. 2020;66(2):197-208. <https://doi.org/10.1159/000502288>
5. Silva MVF, Loures CDMG, Alves LCV, Souza LC, Borges KBG, Carvalho MDG. Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures. *J Biomed Sci*. 2019;9;26(1):3. <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0524-y>
6. Cosín-Tomás M, Senserrich J, Arumí-Planas M, Alquézar C, Pallàs M, Martín-Requero Á, et al. Role of resveratrol and selenium on oxidative stress and expression of antioxidant and anti-aging genes in immortalized lymphocytes from Alzheimer's Disease Patients. *Nutrients*. 2019;11(8):1764. <https://doi.org/10.3390/nu11081764>
7. Chmatalova Z, Vyhnaek M, Laczó J, Hort J, Pospisilova R, Pechova M, et al. Relation of plasma selenium and lipid peroxidation end products in patients with Alzheimer's Disease. *Physiol Res*. 2017;20;66(6):1049-56. <https://doi.org/10.33549/physiolres.933601>
8. Cardoso RB, Cominetti C, Cozzolino SMF. Importance and management of micronutrient deficiencies in patients with Alzheimer's disease. *Clin Interv Aging*. 2013;8:531-42. <https://doi.org/10.2147/CIA.S279883>
9. Reddy VS, Bukke S, Dutt N, Rana P, Pandey AK. A systematic review and meta-analysis of the circulatory, erythrocytic and CSF selenium levels in Alzheimer's disease: a metal meta-analysis (AMMA study-I). *J Trace Elem Med Biol*. 2017;42:68-75. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2017.04.005>
10. Solovyev N, Drobyshv E, Björklund G, Dubrovskii Y, Lysiuk R, Rayman MP. Selenium, selenoprotein P, and Alzheimer's disease: is there a link? *Free Radic Biol Med*. 2018;127:124-33. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.02.030>
11. Varikasuvu SR, Prasad VS, Kothapalli J, Manne M. Brain Selenium in Alzheimer's Disease (BRAIN SEAD Study): a systematic review and meta-analysis. *Biol Trace Elem Res*. 2019;189:361-9. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1492-x>
12. Wilde MC, Vellas B, Girault E, Yavuz AC, Sijben JW. Lower brain and blood nutrient status in Alzheimer's disease: results from meta-analyses. *Alzheimer's Dement*. 2017;416-31. <https://doi.org/10.1016/j.trci.2017.06.002>

13. Vinceti M, Chiari A, Eichmüller M, Rothman KJ, Filippini T, Malagoli C, et al. A selenium species in cerebrospinal fluid predicts conversion to Alzheimer's dementia in persons with mild cognitive impairment. *Alzheimers Res Ther.* 2017;9(1):100. <https://doi.org/10.1186/s13195-017-0323-1>
14. Cardoso BR, Bandeira VS, Jacob-Filho W, Silvia MFC. Selenium status in elderly: relation to cognitive decline. *J Trace Elem Med Biol.* 2014;28(4):422-6. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2014.08.009>
15. Gerhardsson L, Lundh T, Minthon L, Londos E. Metal concentrations in plasma and cerebrospinal fluid in patients with Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2008;25(6):508-15. <https://doi.org/10.1159/000129365>
16. Paglia G, Miedico O, Cristofano A, Vitale M, Angiolillo A, Chiaravalle AE, et al. Distinctive pattern of serum elements during the progression of Alzheimer's Disease. *Sci Rep.* 2016;9:6:22769. <https://doi.org/10.1038/srep22769>
17. Koç ER, İlhan A, Aytürk Z, İlhan A, Acar B. A comparison of hair and serum trace elements in patients with Alzheimer disease and healthy participants. *Turk J Med Sci.* 2015;45(5):1034-9. <https://doi.org/10.3906/sag-1407-67>
18. Elm EV, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP, et al. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol.* 2008;61:344-9. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2007.11.008>
19. Lwanga SK, Lemeshow S. Sample size determination in health studies: a practical manual [Internet]. Geneva, Suíça: World Health Organization; 1991 [cited 2020 Apr 20]. 80 p. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/40062>
20. Lohman TG. Advances in body composition assessment. *Med Sci Spots Exerc.* 1993;25:762. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X1993000500016>
21. Lohman TJ, Roache AF, Martorell R. Anthropometric standardization reference manual. *Med Sci Spots Exerc.* 1992;24:952. <https://doi.org/101249/00005768-199208000-00020>
22. Lipschitz DA. Screening for nutritional status in the elderly. *Prim Care.* 1994;2(1):55-7.
23. Mckhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR Jr, Kawas CH, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from National Institute on Aging and the Alzheimer's Association workgroup. *Alzheimer's Dement.* 2011;7(3):263-9. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.005>
24. Jack Jr CR, Albert MS, Knopman DS, Mckhann GM, Sperling RA, Carrillo MC, et al. Introduction to the recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2011;7:257e62. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.004>
25. Kochham R, Varela JS, Lisboa CS, Chaves MLF. The mini mental state examination: review of cutoff points adjusted for schooling in a large southern Brazilian sample. *Dement Neuropsychol.* 2010;4(1):35-41. <https://doi.org/10.1590/S198>
26. Iwata A, Iwatsubo T, Ihara R, Suzuki K, Matsuyama Y, Tomita N, et al. Effects of sex, educational background, and chronic kidney disease grading on longitudinal cognitive and functional decline in patients in the Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative study. *Alzheimers Dement.* 2018;4:765-74. <https://doi.org/10.1016/j.trci.2018.06.008>
27. Xu W, Tan L, Wang HF, Tan MS, Tan L, Li JQ, et al. Education and risk of dementia: dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Mol Neurobiol.* 2016;53:3113-23. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9211-5>
28. Ceballos-Picot I, Merad-Boudia M, Nicole A, Thevenin M, Hellier G, Legrain S, et al. Peripheral antioxidant enzyme activities and selenium in elderly subjects and in dementia of Alzheimer's type – place of the extracellular glutathione peroxidase. *Free Radic Biol Med.* 1996;20(4):579-87. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02058-6](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02058-6)
29. Luchsinger JA, Mayeux R. Dietary factors and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 2004;3(10):579-87. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(04\)00878-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(04)00878-6)
30. Zhu X, Lee H, Perry G, Smith MA. Alzheimer disease, the two-hit hypothesis: an update. *Biochim Biophys Acta.* 2007;1772(4):494-502. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(04\)00878-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(04)00878-6)
31. Aaseth J, Alexander J, Bjørklund G, Hestad K, Dusek P, Roos PM, et al. Treatment strategies in Alzheimer's disease: a review with focus on selenium supplementation. *Biomaterials.* 2016;29(5):827-39. <https://doi.org/10.1007/s10534-016-9959-8>
32. Stefanowicz FA, Alwar D, O'Reilly DSJ, Dickinson N, Atkinson J, Hursthouse AS, et al. Erythrocyte selenium concentration as a marker of selenium status. *Am J Clin Nutr.* 2020; 32 (5)837–42. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqaa095>
33. Duncan A, Talwar D, McMillan DC, Stefanowicz F, O'Reilly DSJ. Quantitative data on the magnitude of the systemic inflammatory response and its effect on micronutrient status based on plasma measurements. *Am J Clin Nutr.* 2012;95(1):64e71. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.023812>
34. Cornelli U. Treatment of Alzheimer's Disease with a Cholinesterase Inhibitor Combined with Antioxidants. *Neurodegenerative Dis.* 2010;7:193-202. <https://doi.org/10.1159/000295663>
35. Onakpoya IJ, Heneghan CJ. The efficacy of supplementation with the novel medical food, Souvenaid, in patients with Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Nutr Neurosci.* 2017;20(4):219-27. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2015.1110899>
36. Kryscio RJ, Abner EL, Caban-Holt A, Lovell M, Goodman P, Dark AK, et al. Association of antioxidant supplement use and Dementia in the Prevention of Alzheimer's Disease by Vitamin E and Selenium Trial (PREADVISE). *JAMA Neurol.* 2017;74(5):567-73. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.5778>

37. Van der Jeugd A, Parra-Damas A, Baeta-Corral R, Soto-Faguás CM, Ahmed T, LaFerla FM, et al. Reversal of memory and neuropsychiatric symptoms and reduced tau pathology by selenium in 3xTg-AD mice. *Sci Rep.* 2018;8(1):6431. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24741-0>
 38. Tamtaji OR, Heidari-Soureshjani R, Mirhosseini N, Kouchaki E, Bahmani F, Aghadavod E, et al. Probiotic and selenium co-supplementation, and the effects on clinical, metabolic and genetic status in Alzheimer's disease: a randomized, double-blind, controlled trial. *Clin Nutr.* 2019;38(6):2569-75. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.11.034>
 39. Nascimento CQ. Níveis plasmáticos e eritrocitários de selênio em idosos com Alzheimer: um estudo caso-controlado [Dissertação] [Internet]. Maceió: Universidade Federal de Alagoas – UFAL; 2019[cited 2020 Apr 20]. <http://www.repositorio.ufal.br/handle/riufal/5581>
-