Joana Bisol Balardin

**Análise dos correlatos neurais associados ao uso de estratégias de
memória no comprometimento cognitivo leve: avaliação por
ressonância magnética funcional**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Neurologia

Orientadora: Profa. Dra. Eliane Correa
Miotto

São Paulo

2013

Ficha catalográfica (no verso da folha de rosto)

Agradecimentos

Agradeço a Deus, por mais uma etapa concluída.

Aos meus pais, Salete e Nelson, por tudo que me foi dado, e pelo exemplo de dignidade e amor ao trabalho, mesmo que o resultado da colheita seja incerto. À minha irmã Paula, por estar presente quando eu estive ausente.

Ao Piero, pelo carinho e suporte, que, junto com Rosângela, foram a minha família paulistana.

À Profa. Dra. Eliane Correa Miotto, pelas inúmeras oportunidades de aprendizado proporcionadas durante o doutorado, pela confiança deposita e pela compreensão e orientação na realização deste trabalho.

Ao Prof. Edson Amaro Jr., por apoiar a viabilização deste projeto, por compartilhar seu imenso conhecimento, e por contagiar a todos com seu entusiasmo pela pesquisa em neuroimagem funcional.

Ao Prof. João Ricardo Sato, por toda a atenção dispensada e conhecimento compartilhado, pelas oportunidades de aprendizado proporcionadas. Muito obrigada pela paciência, incentivo e amizade.

Ao Prof. Dr. Ricardo Nitrini, pelo fundamental papel em viabilizar a realização deste projeto e por incentivar a pesquisa multidisciplinar na integração dos campos da neurologia, neuropsicologia e neurociência.

À Dra. Maria da Graça Moraes Martin pela indispensável contribuição neste trabalho, e pela atenção e ensinamentos dispensados ao longo de sua execução.

Ao amigo e colega Marcelo Batistuzzo, presente do início ao fim, agradeço a imensa ajuda, amizade e generosidade.

Às amigas e colegas Mariana Nucci e Katerina Lukasova, pela convivência, suporte e inspiração ao longo do doutorado.

Ao Carlos Alberto Moraes e Cesario da Cruz pelo suporte técnico para a realização deste projeto.

Às Dra. Adriana Conforto e Dra. Monica Yassuda pelas valiosas contribuições fornecidas no exame de qualificação.

A todos os integrantes do GNNC e CEREDIC, em especial Dra. Jerusa Smid e Dra. Claudia Porto, pela colaboração. E a Dra. Sonia Brucki pela criteriosa avaliação dos pacientes. Agradeço também à Simone, e aos colegas Fabio Porto e Lívia Spíndola.

À Thais Figueira, pela atenção e ajuda nos trâmites burocráticos durante o doutorado.

Às Profas. Elke Bromberg e Helena Bolli Mota, mestres de etapas anteriores, pelo incentivo à carreira científica.

À FAPESP pela concessão da bolsa de Doutorado.

E a todos os voluntários que aceitaram em realizar o exame de ressonância magnética funcional, e que doaram de forma generosa seu tempo para concretizar este trabalho.

Esta dissertação ou tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*.

Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha,

Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso,

Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de Figuras

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas

Lista de tabelas

Resumo

Sumário

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Apresentação do tema	1
1.1 Objetivos	5
2 REVISÃO DE LITERATURA	6
2.1 Comprometimento Cognitivo Leve (CCL)	6
2.2 Ressonância magnética funcional.....	9
2.3 Memória episódica	13
2.4 Déficits de memória episódica nos pacientes com CCL	17
2.5 Intervenções cognitivas para os déficits de memória.....	19
3 HIPÓTESES.....	23
4 MÉTODOS	25
4.1 Aspectos éticos	25
4.2 Desenho do estudo	25
4.3 Casuística	25
4.3.1 Grupo CCL.....	25
4.3.2 Grupo controle	27
4.3.3 Critérios de exclusão para os grupos CCL e controle.....	28
4.3.4 Avaliação clínica e funcional	29
4.3.5 Avaliação do grupo controle	30
4.3.6 Avaliação neuropsicológica	30
4.4 Ressonância Magnética.....	31

4.4.1 Instrumentos para apresentação dos estímulos	33
4.4.2 Princípios do paradigma de codificação da memória verbal.....	33
4.4.3 Paradigma utilizado durante a coleta das imagens funcionais	35
4.4.4 Orientação para o uso dirigido da estratégia de aprendizagem verbal	37
4.4.5 Preparação para a realização do exame de ressonância magnética	39
4.5 Análise estatística	40
4.5.1 Análise estatística dos dados comportamentais	40
4.5.2 Análise das imagens de ressonância magnética funcional.....	41
5 RESULTADOS	45
5.1 Casuística	45
5.2 Resultados comportamentais do paradigma de RMf	48
5.3 Resultados da RMf.....	50
5.3.1 Mudanças na ativação cerebral durante a codificação dirigida de palavras em relação à condição de codificação espontânea não-dirigida em indivíduos com CCL e controles cognitivamente saudáveis	51
5.3.2 Diferentes padrões de mudança da ativação cerebral durante a codificação dirigida em relação à codificação espontânea entre o grupo CCL e o grupo controle.....	55
5.3.3 Regiões com diferente padrão de correlação entre mudanças no desempenho comportamental e ativação pelo uso dirigido da estratégia de aprendizagem verbal	57
6 DISCUSSÃO	59
6.1 Casuística	59
6.2 Resultados comportamentais do paradigma de RMf	61
6.3 Resultados da ressonância magnética funcional	63
6.3.1 Detecção de áreas relacionadas à estimulação produzida pelo paradigma.....	63

6.3.2 Aumento da ativação durante a codificação de palavras com a aplicação dirigida da estratégia de aprendizagem verbal em relação à codificação espontânea	65
6.3.3 Diferentes padrões de mudança da atividade cerebral entre o grupo CCL e o grupo controle durante a codificação em resposta ao uso dirigido da estratégia	67
7 CONCLUSÃO.....	72
8 ANEXOS	73
9 REFERÊNCIAS.....	104

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema do paradigma experimental de RMf. Em cada aquisição (espontânea e direcionada), cada lista de palavras (NR e SR), composta de 16 itens, foi apresentada três vezes. A ordem de apresentação das listas foi contrabalanceada entre as aquisições. O tempo total de cada aquisição foi de 282s (4min42s), totalizando 94 volumes. 36

Figura 2. Áreas da superfície cortical dos mapas de ativação dos contrastes t pareados comparando a atividade cerebral durante a codificação de palavras antes e após a orientação específica para o uso da estratégia no grupo controle (clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$). Em azul, áreas nas quais houve diminuição da ativação, e em vermelho, áreas nas quais houve aumento da ativação após a instrução para aplicação da estratégia. Vistas laterais do hemisfério direito, esquerdo, posterior e superior do cérebro. A) Ativações relacionadas à condição SR. B) Ativações relacionadas à condição NR. 53

Figura 3. Áreas da superfície cortical dos mapas de ativação dos contrastes t pareados comparando a atividade cerebral durante a codificação de palavras antes e após a orientação específica para o uso da estratégia no grupo CCL (clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$). Em azul, áreas nas quais houve diminuição da ativação, e em vermelho, áreas nas quais houve aumento da ativação após a instrução para aplicação da estratégia. Vistas laterais do hemisfério direito,

esquerdo, posterior e superior do cérebro. A) Ativações relacionadas à condição SR. B) Ativações relacionadas à condição NR. 54

Figura 4. Mudanças na ativação cerebral em regiões de interação grupo x sessão significativas, mostrando que no giro frontal superior (A) e no CPFM (B) houve uma diminuição da ativação nos controles e um aumento nos CCL após a orientação dirigida para a aplicação da estratégia de aprendizagem verbal. 56

Figura 5. . Diferentes padrões de associação entre a mudança no índice estratégico de agrupamento semântico e a mudança na ativação entre as sessões de codificação no COF. Nos controles, o maior aumento do uso da estratégia foi preditivo de maior diminuição da ativação no COF ($r^2=0.59$), enquanto que nos CCLs o aumento no comportamento foi capaz de prever uma pequena variação do aumento da ativação nesta região ($r^2= 0.11$). 57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características dos controles e sujeitos com CCL. Os resultados estão expressos como média (EP).	56
Table 2.. Desempenho na tarefa de memória de reconhecimento. Resultados expressos como média (EP).	58
Table 3. Áreas de significativa interação grupo x treino na ativação cerebral durante a codificação de palavras semanticamente relacionadas (SR>fixação).	60

Balardin J B. Análise dos correlatos neurais associados ao uso de estratégias de memória em pacientes com Comprometimento Cognitivo Leve avaliados por ressonância magnética funcional. [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

Introdução: Déficits de memória episódica constituem o marcador cognitivo mais frequente em pacientes com Comprometimento Cognitivo Leve (CCL). Estudos prévios mostram que déficits de memória episódica podem ser minimizados nestes pacientes por intervenções comportamentais. Entretanto, os mecanismos cerebrais envolvidos nos efeitos do treino cognitivo ainda são pouco explorados. O objetivo deste estudo foi avaliar o correlato neural por ressonância magnética funcional de um treino breve de memória em pacientes com CCL e compará-los com os achados em idosos saudáveis. Foram avaliados 18 pacientes com CCL e 19 idosos controles com a utilização de ressonância magnética funcional (RMf) em uma tarefa de codificação de listas de palavras com diferentes graus de relação semântica antes e após uma sessão de treino de estratégias de memória. Na sessão pré-treino, os participantes foram instruídos a memorizar as palavras durante a sessão de RMf sem qualquer orientação sobre o uso de estratégias de codificação. Após um treino breve no qual estratégias específicas de organização e agrupamento semântico foram exercitadas, os sujeitos foram reconduzidos ao aparelho de ressonância magnética e realizaram a sessão pós-treino, na qual foram instruídos a utilizar a estratégia treinada durante o paradigma de codificação de palavras. Os resultados dos exames de ressonância magnética funcional foram processados e analisados com o programa FSL versão 4.1. Ambos os grupos apresentaram aumento no número de palavras evocadas associado ao uso da estratégia treinada. Em ambos os grupos foi observado um aumento do sinal BOLD após o treino em regiões do córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo e do córtex parietal bilateral. No grupo de idosos controles, entretanto, foi observada também uma redução da ativação em regiões do córtex parietal posterior esquerdo e cíngulo posterior bilateral, do córtex pré-frontal medial e cíngulo anterior direitos, do lóbulo parietal inferior e do córtex temporal superior direitos, do córtex pré-frontal dorsolateral direito e do córtex orbito-frontal bilateral. A interação grupo x tempo foi significativa em áreas do córtex pré-frontal dorsolateral e ventromedial direitos. Estes resultados indicam que existem diferenças no recrutamento de regiões pré-frontais em resposta ao uso de estratégias de codificação em paradigmas de codificação de palavras entre pacientes com CCL e idosos cognitivamente saudáveis.

Descritores: Neuroimagem funcional Comprometimento Cognitivo Leve .Memória Cognição .Envelhecimento

Balardin J B. Functional neural correlates of strategic memory processes in Mild Cognitive Impairment: an fMRI study.[Thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

The present study investigated the effects of different applications of verbal learning strategies during episodic memory encoding in patients with Mild Cognitive Impairment (MCI) (n=18) and normal controls (n=17) using functional magnetic resonance imaging (fMRI). The main goal of this study was to verify whether externally guided increases in verbal learning strategy application during episodic memory encoding modulate brain activity in memory-related networks in the same level in MCI as in controls. Participants were scanned twice, using a word-list encoding fMRI paradigm. In the first session, self-initiated encoding strategies were used to intentionally memorize words during encoding. In the second session, participants received an explicit instruction to apply a semantic organization strategy (i.e. semantic clustering) to perform the task. The fMRI word list learning paradigm consisted of alternating blocks of encoding and resting baseline conditions. To perform the spontaneous fMRI session, participants were not instructed about the semantic organization of the words in the lists beforehand or given any practice with related lists. Therefore, any grouping by category observed in the subsequent free recall at the end of this fMRI acquisition was presumed to be self-initiated by the subject. At the end of the spontaneous session, each subject received a brief period of guidance or instructions to apply semantic strategies and organize words in terms of semantic categories during encoding, using a new set of word lists. Immediately after practicing the application of the strategy, participants were scanned again using the same type of paradigm as in the first session, except for the use of new set of word lists and the explicit instruction to apply semantic clustering. Free recall and strategic index scores were assessed after each session. fMRI brain activation and deactivation during encoding of word lists in memory-related networks were examined across sessions. Results from the fMRI analysis revealed that after the explicit orientation to apply the verbal learning strategy, greater recruitment of frontoparietal network regions were observed in both MCI and control groups in relation to the unconstrained encoding condition. Group-differences in functional deactivations, however, were observed in the medial prefrontal (mPFC) cortex and in the right superior frontal gyrus, two critical nodes of the default mode network, related to the absence of modulation in the activity of the mPFC, along with a lack of suppression of the right superior frontal gyrus in MCI, in response to the increased use of the encoding strategy. A different association between improvement in strategy use and session-related changes in activation of the medial orbital frontal cortex between groups was also confirmed. That is, improvements in strategy use in controls contribute to a great extent in the amount of deactivation in OFC, whereas in patients, only a small portion of the increase in activation in this region was predicted by increases in strategy application.

Descritores: Neuroimagem funcional Comprometimento Cognitivo Leve Memória Cognição Envelhecimento

1 INTRODUÇÃO

1.1 Apresentação do tema

Distúrbios cognitivos são manifestações frequentes em diversas condições clínicas associadas ao envelhecimento e, em certa medida, um declínio normal da capacidade cognitiva é esperado com o avanço da idade, ainda que algumas habilidades permaneçam estáveis ou sejam aperfeiçoadas ao longo do ciclo vital. A grande variabilidade na manifestação destas alterações, no entanto, representa uma dificuldade para a compreensão dos mecanismos psicológicos e neurais envolvidos nas mesmas. Um grande desafio consiste em diferenciar os efeitos do envelhecimento normal de sintomas iniciais decorrentes de processos patológicos que afetam a cognição, tais como, Doença de Alzheimer (DA), Doença de Parkinson, hipertensão e arteriosclerose. Isto se deve, em parte, à constatação de que mesmo idosos cognitivamente saudáveis podem apresentar evidências sugestivas de presença de alguma forma de neuropatologia, tais como microlesões na substância branca encefálica ou atrofia da substância cinzenta em exames de neuroimagem. E, ainda, pela possibilidade de alterações cognitivas leves, mas significativas, ocorrerem acompanhadas de características clínicas insuficientes para a elaboração de um diagnóstico sugestivo de doença incipiente, como por exemplo na DA, que representa a maior causa de demência no mundo (ref), e para qual ainda não foi estabelecida uma relação consistente entre a presença de um biomarcador específico e o subsequente aparecimento da sintomatologia clínica (Sperling et al., 2011). Desta forma, a caracterização das

diferenças entre o funcionamento cognitivo normal e os estágios iniciais de doenças crônico-degenerativas no envelhecimento tem sido tema frequente de pesquisa científica dos campos da neurologia, neuropsicologia e neurociência cognitivas (Mesulam et al., 1998; Grady et al., 2012).

Neste contexto surge o estabelecimento do conceito diagnóstico de Comprometimento Cognitivo Leve (CCL) (do inglês *mild cognitive impairment*, Petersen et al., 1999), a partir da observação de que idosos com declínio leve e lentamente progressivo da memória episódica apresentavam maiores taxas de conversão para a DA (Tierney et al., 1996; Petersen et al., 1999). Atualmente, CCL é o termo utilizado para descrever uma síndrome clinicamente heterogênea, com déficits em diferentes domínios cognitivos, como memória, linguagem e funções executivas, que, em alguns casos, pode representar um estágio intermediário entre o envelhecimento normal e demência (Patel et al., 2012). Particularmente, os casos de CCL que apresentam déficits de memória episódica, definidos como CCL amnésico (CCLa), são considerados como possíveis precursores da DA (Petersen et al., 2001; Gauthier et al., 2006; Albert et al., 2011; Frota et al., 2011), embora estudos indiquem que uma significativa parcela destes indivíduos permaneça com sintomas estáveis e alguns revertam a níveis cognitivos normais (Mitchell e Shiri-Feshki, 2009).

Frequentemente, o déficit objetivo de memória episódica no CCL e na DA é investigado com a utilização de testes de aprendizagem verbal, nos quais os indivíduos devem estudar listas de palavras apresentadas oralmente para posterior evocação (Delis et al., 1991; Deweer et al., 1995; Fox et al., 1998; Greenaway et al., 2006; Libon et al., 1998). O desempenho rebaixado no número de palavras evocadas é interpretado, de forma geral, como um déficit

de memória episódica. Quando um diagnóstico de possível ou provável DA é realizado, este desempenho alterado é geralmente associado à déficits de aquisição e retenção da informação, dada a neuropatologia da doença nas estruturas do lobo temporal medial, e o conhecido papel do hipocampo na consolidação da memória (Squire, 2004). No quadro de CCL, entretanto, a natureza deste déficit ainda é desconhecida, mas uma das hipóteses existentes sugere uma diminuição da eficiência de codificação de novas informações, mediada por mecanismos de interação do hipocampo com o córtex pré-frontal, associada à alterações menos severas de consolidação da memória episódica (Twamley, Ropacki, & Bondi, 2006; Storandt et al., 2008).

Um dos métodos de investigação que vem sendo utilizado para a pesquisa das modificações provocadas pelo CCL em relação ao envelhecimento normal em diferentes sistemas neurais que suportam a memória episódica é a ressonância magnética funcional (RMf). Em conjunto, os estudos de RMf no CCL sugerem que possíveis mecanismos compensatórios dependentes da severidade dos sintomas são recrutados para a realização de diferentes tarefas de memória ao longo do *continuum* envelhecimento normal-CCL-DA (Dickerson e Sperling, 2011). Um dos aspectos não considerados pela maioria dos estudos prévios da literatura é a influência de diferentes estratégias cognitivas adotadas por idosos saudáveis e pacientes com CCL para a realização de tarefas de memória, o que significativamente interfere no padrão de resultados destes estudos (Price e Friston, 1999). Os resultados de um influente estudo mostram que, em idosos saudáveis, o uso direcionado de uma estratégia de elaboração durante a codificação da memória esteve associada à melhora do desempenho comportamental e ao aumento da atividade do córtex

pré-frontal que inicialmente apresentava uma diminuição da ativação em relação a adultos jovens (Logan et. al., 2004).

Neste contexto, este trabalho procurou identificar os correlatos neurais da aplicação dirigida de uma estratégia de aprendizagem verbal durante a codificação da memória episódica em indivíduos cognitivamente saudáveis e pacientes com CCL por meio da RMf. A modulação da atividade neural em regiões associadas à memória pelo uso de estratégias cognitivas pode contribuir para o delineamento de futuras intervenções comportamentais de suporte para o CCL, uma vez que estudos comportamentais indicam que estes pacientes utilizam menos estratégias espontâneas de aprendizado verbal durante tarefas de memória episódica (Hudon et al., 2012; Ribeiro et al., 2007), o que está diretamente relacionado com a eficiência da codificação das informações e sua subsequente evocação (Craik e Ferguson, 1972). Acredita-se que os resultados aqui descritos possam contribuir para a compreensão das alterações de memória e de seus mecanismos subjacentes nos transtornos cognitivos associados ao envelhecimento.

1.1 Objetivos

A fim de contribuir para a melhor compreensão dos distúrbios cognitivos associados ao envelhecimento, o objetivo principal desta tese foi investigar os correlatos neurais envolvidos em processos estratégicos da memória episódica durante a codificação de informações verbais em indivíduos com CCL. De forma específica, nos propusemos a:

1. Avaliar mudanças na ativação cerebral em regiões associadas à memória episódica e controle cognitivo durante a codificação dirigida de palavras (i.e. com orientação explícita para a aplicação de uma estratégia de aprendizagem verbal) em relação à condição de codificação espontânea não-dirigida (i.e. sem instrução específica para o uso de estratégias de memorização) em indivíduos com CCL e controles cognitivamente saudáveis.
2. Verificar a existência de diferentes padrões de mudança da atividade cerebral entre o grupo CCL e o grupo controle durante a codificação em resposta ao uso dirigido da estratégia.
3. Verificar se a melhora do desempenho comportamental pelo uso dirigido da estratégia de aprendizado verbal prediz diferentes padrões mudança da ativação em regiões cerebrais associadas à codificação da memória episódica entre os grupos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Comprometimento Cognitivo Leve (CCL)

CCL é o termo utilizado para descrever, em idosos, uma síndrome definida pela preservação da independência para a realização de atividades instrumentais da vida diária na presença da percepção de mudança cognitiva associada ao envelhecimento e de déficits maiores do que os esperados para a idade e escolaridade em um ou mais testes de avaliação das funções cognitivas (Albert et al., 2011). Como uma síndrome, o CCL não está associado à apenas uma etiologia. Entretanto, este conjunto de sintomas foi inicialmente reconhecido como conceito diagnóstico por Petersen et al (1999) para descrever idosos em estágios intermediários entre um certo declínio cognitivo acompanhado do envelhecimento normal e déficits cognitivos mais pronunciados, como nos casos das demências. Desde então, o conceito de CCL têm sido utilizado para descrever idosos com um maior risco de estarem em estágios prodrômicos de doenças neurodegenerativas com impacto primordial nos sistemas de memória, como a Doença de Alzheimer (Petersen et al., 2003; Devanand et al., 2005; Gauthier et al., 2006 ; Griffith et al., 2006; Schonknecht et al., 2007; Landau et al., 2010).

Embora a realização do diagnóstico de CCL seja controversa, os critérios diagnósticos descritos por Petersen et al. (1999), revisados posteriormente (Petersen et al., 2001; Wimblad et al., 2004; Petersen 2011), são os utilizados com maior frequência em pesquisa, e incluem: (I) queixa de memória preferencialmente corroborada por um informante; (II) atividades de vida diária preservadas e atividades instrumentais minimamente prejudicadas;

(III) déficit cognitivo confirmado pelo desempenho em testes ajustados para idade e escolaridade; (IV) não preenchimento dos critérios diagnósticos para síndromes demenciais. Dada a heterogeneidade reconhecida no uso do diagnóstico, três subclassificações do CCL foram propostas: (I) CCL amnésico único domínio (déficit exclusivo de memória) ou múltiplos domínios (déficits de memória associados à déficits em outros domínios cognitivos); (II) CCL não-amnésico único domínio (déficit em domínio cognitivo que não memória) ou múltiplos domínios (déficits em mais de um domínio cognitivo que não memória) (Wimblad et al., 2004). Os subtipos amnésicos único (CCLa) e múltiplos domínios (CCLa+md) têm sido referidos como os com maior risco de progressão para a DA (Petersen et al., 2001).

Em 2011, uma nova revisão dos critérios diagnósticos para DA foram publicados em 27 anos (McKhann et al, 2011) pelos grupos norte-americanos envolvidos na National Institute on Aging-Alzheimer's Association e, pela primeira vez, diretrizes específicas para o diagnóstico de CCL foram incluídas (Albert et al., 2011). O documento reconhece o CCLa como uma fase sintomática pré DA quando excluídas outras doenças sistêmicas ou neurológicas (ex. vasculares, traumáticas, médicas) como etiologia das manifestações cognitivas dos pacientes pelo uso de instrumentos neuropsicológicos, de neuroimagem e de exames laboratoriais. Para fins de pesquisa, o documento também reconhece um estágio pré-clínico da DA em indivíduos sem sintomas cognitivos, mas com presença de achados neuropatológicos relacionados à doença detectados por neuroimagem, biomarcadores ou em amostras de liquor.

A partir da aceitação do CCLa como uma estágio pré DA, cabe

descrever que os principais fatores de risco para o desenvolvimento da doença são a idade, história familiar, sexo feminino e a presença do alelo ϵ 4 da apolipoproteína E (apoE) (Burns e Iliffe, 2009). As alterações anatomopatológicas típicas encontradas em pacientes com DA são as placas senis, formadas a partir do acúmulo extracelular da proteína beta-amilóide, e os emaranhados neurofibrilares, constituído pela hiperfosforilação da proteína tau intracelular (Querfurth e LaFerla, 2010).

A taxa média anual de conversão para a DA em pacientes com CCL é de 10% (Petersen, 2011). Apesar de não existir nenhuma recomendação clínica sobre a utilização de métodos diagnósticos para avaliação da progressão da doença (Petersen et al., 2011), estudos indicam que alguns dos fatores de risco incluem o grau do déficit cognitivo medido por testes neuropsicológicos no momento do diagnóstico (Visser et al., 2009; Dickerson et al., 2007) e a presença do alelo 4 da apoE (Petersen et al., 2005). Diminuição do volume hipocampal (Jack et al., 2008; Apostolova et al. 2006) e aumento do volume dos ventrículos (McEvoy et al., 2010) também têm sido reportados como preditores da progressão para a DA. Estudos iniciais descreveram que pacientes com CCL que apresentavam menores níveis do peptídeo amilóide 42 (Ab42) e elevados níveis da proteína tau no liquor cefalorraquidiano apresentaram maior risco de progressão para a DA (Mattson et al., 2010). Estudos que utilizaram técnicas de neuroimagem funcional como a tomografia por emissão de pósitrons com o marcador F-flúor-deoxi-2-glicose (FDG-PET), mostraram que pacientes com CCL com hipometabolismo em regiões temporais e parietais foi preditor progrediram em média mais rápida para a DA do que pacientes sem este padrão (Landau et al., 2004; Chételat et al., 2003). Em

relação à RMf, em uma busca eletrônica realizada no PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) em junho de 2011, não foram localizados estudos envolvendo a avaliação do poder preditivo desta técnica na conversão do CCL para a DA. No entanto, um número significativo de estudos sobre a descrição de áreas cerebrais envolvidas na realização de tarefas de memória ou no estado de repouso avaliadas indiretamente pelo efeito BOLD nestes pacientes tem sido realizado (Dickerson e Sperling, 2009; Pihlajamäki et al., 2009).

Uma vez que neste estudo a RMf foi adotada para descrever as áreas cerebrais envolvidas em processos de codificação da memória episódica verbal no CCL, uma descrição breve da técnica, seguida por uma revisão de conceitos sobre memória episódica e estudos já realizados sobre o tema em pacientes com CCL será descrita em seções específicas da revisão de literatura.

2.2 Ressonância magnética funcional

Tradicionalmente em estudos de ressonância magnética funcional, imagens sensíveis ao contraste BOLD são adquiridas enquanto o voluntário realiza uma tarefa experimental. A RMf é uma técnica indireta para a avaliação da função cerebral que tem como base o fenômeno de acoplamento neurovascular, e infere a atividade neural a partir das modificações no fluxo e volume sanguíneo bem como do consumo de oxigênio em uma determinada região (Buxton e Frank, 1997).

O efeito BOLD foi proposto como contraste endógeno para formação de

imagens de RM por Ogawa et al. (1990), que baseou-se nas diferenças de susceptibilidade magnética entre a hemoglobina oxigenada (diamagnética) e a desoxi-hemoglobina (paramagnética), descritas anteriormente (Pauling e Coryell, 1936). Fisiologicamente, quando há um aumento da atividade neuronal em uma determinada região cerebral, há um aumento do fluxo de sangue e do aporte de oxigênio para o tecido. Em contrapartida, o aumento na extração de oxigênio pelo tecido cerebral é bastante discreto (Fox & Raichle, 1986), o que faz a concentração relativa de desoxi/oxi-hemoglobina diminuir. Esta mudança é detectada como aumento do sinal nas imagens de RM (Bandettini et al., 1992). Entretanto, as mudanças de sinal são transitórias e de ordem muito pequena, que em muitas vezes podem ser confundidas com o ruído do aparelho (van der Zwaag et al., 2009). Assim, para detecção das modificações do sinal, é necessário que um número significativo de imagens seja colhido ao longo do tempo, alternando-se momentos de maior e menor aporte de oxigênio ao tecido (Huettel, 2008). Estas aquisições são geralmente realizadas com sequências rápidas sensíveis ao contraste BOLD conhecidas como imagens eco-planares (EPI) ponderadas em $T2^*$ (Huettel, 2008).

O planejamento de um estudo de RMf foi descrito didaticamente por Amaro e Barker (2006). A idéia central dos experimentos de RMf é avaliar diferenças do sinal BOLD entre momentos em que o voluntário executa uma tarefa em relação a momentos em que a mesma não é executada enquanto imagens do cérebro são adquiridas a cada 1-3 segundos (s). Esta alternância entre estados mentais é descrita como paradigma. Os dois formatos de apresentação paradigmas mais utilizados descritos pelos autores são os de desenho em bloco e os relacionados a eventos. Nos paradigmas em bloco, os

sujeitos alternam blocos de realização da tarefa de interesse, intercalados com blocos da tarefa controle. Em paradigmas relacionados à eventos, a realização de um único evento é comparada à condição controle. Neste artigo, os autores também descrevem as formas de comparação entre as imagens adquiridas. Nos paradigmas com apresentação dos estímulos em bloco, as comparações entre as condições de interesse e a condição controle são realizadas por métodos de subtração, que assumem que duas ou mais condições cognitivas podem ser somadas desde que não haja interação entre seus componentes cognitivos. Embora esta premissa não seja aplicada na maioria dos estudos, os Amaro e Barker (2006) citam estudos que mostram que a subtração produz resultados robustos e reprodutíveis (Friston et al., 1999). Outros métodos de comparação, como o fatorial, o paramétrico e o de conjunção são descritos como alternativos à subtração, por possibilitarem a verificação de efeitos de interação de componentes cognitivas entre condições e/ou estímulos.

O sinal BOLD pode ser modelado por uma função matemática que contempla diferentes eventos envolvidos na resposta hemodinâmica e que descreve como seria, teoricamente, a resposta à um único evento. Esta função é chamada de função resposta hemodinâmica canônica. Após a estimulação, um aumento gradual do sinal, que pode ser precedido por uma pequena queda inicial, atinge o ápice por volta de 6s após a estimulação, e é seguido por um declínio até a linha de base, com duração de aproximadamente 10s, e que pode cair ainda mais para um período de negatização que pode variar de 10-15s, até se estabilizar (Friston e Henson, 2007). Esta forma da resposta BOLD parece similar entre as áreas sensoriais primárias (Boynton et al., 1996; Josephs et al., 1997), embora sua forma precisa pareça variar entre regiões,

especialmente em áreas multimodais de linguagem e memória (Schacter et al., 1997), provavelmente por variações na vascularização entre as regiões (Lee et al., 1995). Além disso, uma variabilidade da resposta BOLD também é observada entre indivíduos (Friston e Henson, 2007).

Em um experimento de RMf, inúmeras imagens sensíveis ao contraste BOLD são adquiridas ao longo do tempo, em intervalos pequenos, geralmente 2-3s, em comparação com o tempo da resposta BOLD à um determinado estímulo, que é de aproximadamente 30s. Após sucessivas aquisições, o sinal BOLD não é uma medida independente e tende a se correlacionar. Assim, os sinais BOLD ao longo do tempo são analisados por pacotes estatísticos por um modelo linear geral (GLM) (Henson, 2007). O objetivo central do GLM é descrever o comportamento (variações de brilho) de cada ponto tridimensional da imagem (voxel) a partir de um conjunto de variáveis, que geralmente são as condições experimentais de interesse. Simplificadamente, o modelo consiste em ajustar a resposta hemodinâmica obtida com a estimulação da tarefa com uma resposta preditora (que pode ser a função de resposta hemodinâmica canônica). Este ajuste é verificado por testes estatísticos com o uso de contrastes (Friston et al., 1995) Os voxels que possuem variação semelhante a esta função, ou seja, nos quais a variação de sinal é condizente com o estímulo aplicado, serão considerados significativos.

Antes que a análise estatística seja realizada, no entanto, as imagens funcionais devem ser pré-processadas para melhorar a qualidade do sinal e a sensibilidade das análises estatísticas posteriores. Entre as técnicas de pré-processamento mais comumente utilizadas estão a correção de movimento, a aplicação de filtros temporais e espaciais e a correção de tempo de aquisição

entre as fatias (Huettel, 2008). A correção de movimento tem como objetivo minimizar os efeitos da movimentação da cabeça do participante ao longo do experimento, que pode ocorrer, entre outros motivos, por fadiga ou movimento correlacionado ao paradigma experimental. De forma resumida, um índice de movimento tanto de rotação como de translação é calculado ao longo do experimento, volume a volume. Uma correção é aplicada baseada nesta estimativa, tomando-se o primeiro volume da série como referência, de modo a tornar alinhados todos os volumes adquiridos. A aplicação de filtro espacial tem como objetivo aumentar a relação sinal-ruído das imagens. Com a sua utilização, no entanto, um pouco de resolução espacial é perdida. A aplicação do filtro temporal está relacionada à minimização da influência de frequências de ruídos decorrentes do equipamento ou fisiológicos não relacionadas ao efeito BOLD. A correção de tempo de aquisição entre as fatias tem como objetivo minimizar o tempo de defasagem na aquisição entre as fatias de um mesmo volume alinhando todas as séries temporais.

2.3 Memória episódica

A memória, como domínio cognitivo, não representa um construto unitário. Diversas classificações têm sido propostas para descrever os diferentes sistemas de memória, e, sob o aspecto prático ou clínico, as mais utilizadas dizem respeito ao conteúdo e ao tempo de duração da mesma. Uma das classificações mais utilizadas é a descrita por Kandel (2000). As memórias declarativas ou explícitas relacionam-se à informações com conotação temporal no âmbito pessoal, memória autobiográfica, ou geral, memória

episódica, e à fatos ou conhecimentos adquiridos sem necessariamente depender do aspecto temporal, como a memória semântica. As memórias procedurais ou implícitas envolvem os hábitos ou procedimentos. Por sua vez, as memórias de curto prazo mantêm-se por minutos, enquanto as memórias de longo prazo permanecem por dias, semanas, meses e até uma vida inteira. Um outro sistema de memória de curto prazo, que pode considerado um subsistema da memória episódica, é a memória de trabalho (Izquierdo, 2000), a qual está envolvida na manipulação ou manutenção das informações por curtos períodos de tempo enquanto o indivíduo recebe e processa outros estímulos (Baddeley, 2003).

A tarefa de evocação tardia refere-se à habilidade do sujeito evocar espontaneamente o maior número de estímulos adquiridos durante a sessão de aprendizado, após 30 ou mais minutos do término da sessão, e tem como objetivo avaliar a habilidade de manutenção dos estímulos na memória de curto e médio prazo. Déficits em tarefas de evocação tardia podem indicar prejuízo em diferentes fases do processo de memória, como na aquisição, também chamada de codificação, na consolidação, também chamada de aprendizado, ou na recuperação propriamente dita. A contribuição de cada um destes processos na caracterização dos déficits de memória episódica em pacientes com CCL e DA é tema de estudos neuropsicológicos e de neurociência cognitiva.

Nos últimos 20 anos, estudos de neuroimagem, entre eles de RMf, têm contribuído para a ampliação do conhecimento sobre a descrição de regiões cerebrais específicas nos processos de memória episódica. Estes estudos podem ser classificados em 3 grupos, de acordo com o processo e o estímulo a

ser investigado. No primeiro deles, as imagens funcionais são coletadas enquanto os participantes codificam os estímulos, e a ativação correspondente a cada um deles é correlacionada com a performance em testes de reconhecimento subsequentes, realizados fora do equipamento de ressonância. A ativação dos itens lembrados com sucesso é contrastada com a dos itens não-lembrados (Buckner et al., 1998). No segundo grupo de estudos, os participantes codificam os itens em sessões experimentais comportamentais e, em seguida, realizam a tarefa de reconhecimento durante a aquisição das imagens funcionais. A ativação é contrastada entre os itens estudados e lembrados corretamente vs os itens não estudados, mas corretamente rejeitados (Kim, 2011). O terceiro grupo de estudos tem como objetivo avaliar processos cognitivos gerais que ocorrem naturalmente ou que podem ser manipulados durante a codificação de conjuntos de estímulos, como o uso de estratégias. Neste caso, a aquisição das imagens funcionais é realizada durante a realização ou não da estratégia, e a ativação é contrastada entre estas duas condições (Buckner e Koustal, 1998). Somadas as evidências de estudos em modelos animais, em pacientes com lesões e de neuroimagem sobre a neuroanatomia da memória episódica, verifica-se que esta habilidade relaciona-se com uma ampla rede de estruturas cerebrais e que, mais comumente, áreas pré-frontais e temporo-parietais do hemisfério estão envolvidas fase de codificação, enquanto que áreas contralaterais estão envolvidas nas habilidades de evocação e/ou reconhecimento (Markowitsch, 1995; Tulving, 2001).

Em relação à neuroanatomia funcional das estruturas do lobo temporal medial, a ativação do córtex peririnal está associada ao processamento de

informações sensoriais unimodais dos estímulos e, conseqüentemente, ao processamento de estímulos novos; já o córtex parahipocampal está associado ao processamento de características polimodais relacionadas ao contexto dos estímulos (Eichenbaum et al., 2007).

Em relação ao córtex pré-frontal, a ativação específica das suas subdivisões em tarefas de memória episódica parece refletir a aplicação de diferentes processos executivos durante a fase de codificação (Buckner et al., 2000). A região pré-frontal dorsolateral, correspondente às áreas 9 e 46 de Brodmann (BA) e que inclui áreas dos giros frontais superior e médio, está primordialmente relacionada à processos de executivos de integração e monitorização envolvidos tanto na memória de longo-prazo quanto na memória de trabalho (Petrides, 2005; Blumenfeld e Ranganath, 2006). Esta região está fortemente conectada com outras regiões pré-frontais e direta e indiretamente com outras estruturas corticais, como o córtex parietal, e subcorticais, como o tálamo (Miller e Cohen, 2001). Sua ativação em paradigmas de RMf esteve associada à codificação em condições de maior esforço e motivação, com maiores demandas organizacionais, à processos estratégicos e à associação entre estímulos (Jansma et al., 2006; Miotto et al., 2006; Long et al., 2010). Em relação à fase de recuperação da memória episódica, a ativação desta região está associada à tarefas de memória contextual, e parece ser consequência da maior demanda cognitiva imposta pelo processamento de aspectos periféricos temporais e espaciais associados ao item central (Brand e Markowitsch, 2008).

A região órbito-frontal, na sua porção lateral (BA 11) e medial (BA 10), está relacionada ao processamento de aspectos autobiográficos, emocionais, de tomada de decisão e à identificação e mobilização inicial de estratégias

efetivas em situações novas ou ambíguas (Savage et al., 2001; Svoboda et al., 2006).

A região dorsal medial do córtex pré-frontal (BA 8,10), juntamente com o cíngulo anterior, está associada ao processamento de estímulos autorreferenciais, emocionais ou não, e à maiores demandas de controle cognitivo (Brand e Markowitsch, 2008).

Recentemente, o papel de porções do córtex parietal na memória episódica foi formalizado de forma teórica a partir de evidências de estudos de neuroimagem funcional (Cabeza et al., 2008). A partir da sua associação com processos de alocação voluntária da atenção durante o processamento perceptual dos estímulos, o papel do córtex parietal superior na memória também está associado às operações voluntárias de busca, monitoramento e verificação durante a fase de recuperação da memória. O córtex parietal inferior, por sua vez, está relacionado com a solução de conflitos gerados pelo resultado do processamento efetuado pelo córtex parietal superior, como, por exemplo, na recuperação de características perceptuais adicionais para a evocação do traço de memória com sucesso.

2.4 Déficits de memória episódica nos pacientes com CCL

Embora um desempenho inferior em testes de atenção, linguagem e função executiva nos pacientes com CCL em comparação à idosos cognitivamente saudáveis seja reportado na literatura (Collie e Maruff, 2000), déficits de memória episódica em testes de evocação tardia são a principal característica clínica destes pacientes, principalmente daqueles que progridem

para a DA (Petersen et al., 2001; Gauthier et al., 2006). Achados de estudos neuropsicológicos sugerem que os déficits observados nos pacientes com CCLa seriam resultado de prejuízos em processos de memória que demandam recursos executivos e atencionais suportados pelos lobos frontais, como a evocação livre das informações da memória episódica (Anderson et al., 2008). Um importante déficit já descrito em pacientes com CCL em comparação à idosos cognitivamente saudáveis é uma diminuição da habilidade de utilizar espontaneamente estratégias de memória, como a elaboração semântica, principalmente em tarefas de evocação livre (Froger et al., 2009 ; Hudon et al., 2011).

Esta incapacidade dos pacientes com CCL beneficiarem-se dos já bem descritos efeitos facilitatórios da categorização semântica sobre a memória suportam ainda mais a hipótese sobre o comprometimento de processos mais controlados de memória em relação a processos automáticos neste quadro clínico (Perri et al., 2005).

Estudos iniciais de RMF têm demonstrado que estes déficits estão associados à diminuição do sinal BOLD na parte ventral lateral do giro frontal inferior durante a codificação de palavras com diferentes graus de relação semântica (Dannhauser et al., 2008). Neste contexto, os mecanismos cognitivos subjacentes ao treinamento cognitivo, no que diz respeito à utilização de estratégias de categorização semântica para conteúdo verbal, poderiam envolver o engajamento dos processos executivos de planejamento, elaboração e evocação envolvidos na aquisição e na recuperação da memória episódica.

Em relação aos achados de estudos de RMf em pacientes com CCL,

assim como em outras populações com distúrbios cognitivos, é importante considerar que seus resultados são altamente influenciados pelas características do paradigma utilizado. Se o procedimento não estiver associado ao recrutamento de uma determinada região, alterações funcionais da mesma não serão detectadas. Quando identificadas alterações, estas regiões podem ter a resposta hemodinâmica prejudicada diretamente pelos mecanismos patológicos da doença, indiretamente via conectividade com regiões prejudicadas ou, de fato, podem representar um resultado inespecífico (Dickerson e Sperling, 2008).

Estudos com o objetivo de comparar a ativação em tarefas associados à estruturas lobo temporal medial e do córtex pré-frontal entre pacientes com CCL e idosos controles têm produzido resultados variados. Diminuição (Machulda et al., 2003; Johnson et al., 2006) e aumento (Dickerson et al., 2005; Hamalainen et al., 2006; Kircher et al., 2007) da ativação nos pacientes com CLL em relação aos controles foram reladas. Ausência de diferenças entre os grupos na ativação de regiões do córtex temporal medial foi reportada por Petrella et al. (2006) durante a codificação em um paradigma de associação de faces a nomes. Esta variabilidade de resultados pode ser influenciada por diferentes níveis de dificuldade impostas pelo paradigma utilizado, características da aquisição das imagens e técnicas de análise estatística utilizadas pelos estudos.

2.5 Intervenções cognitivas para os déficits de memória

Intervenções cognitivas têm sido propostas como métodos alternativos à

terapia farmacológica para o tratamento dos sintomas cognitivos dos pacientes com CCL. Estas intervenções, com aplicação individualizada ou em grupo, podem ser divididas em 3 modalidades (Clare e Woods, 2003). A primeira delas, os programas de treino cognitivo, podem ser definidas pelo uso de técnicas específicas voltadas à melhorar o desempenho em habilidades particulares do funcionamento cognitivo. Este é o caso das estratégias de memorização. As outras duas modalidades de intervenção referem-se à programas de estimulação cognitiva que utilizam técnicas inespecíficas como música ou interação social, e à reabilitação cognitiva, que utiliza um planejamento terapêutico individualizado para as dificuldades e necessidades do paciente e da sua família. Em idosos cognitivamente saudáveis, intervenções de estimulação cognitiva são muito populares, e, apesar de estudos controlados para testagem da eficácia destas intervenções serem de difícil realização, efeitos de melhora nos domínios cognitivos treinados (Verhaeghen et al., 1992; Ball et al., 2002) e da manutenção dos ganhos obtidos com o tratamento por até 5 anos após a sua conclusão (Willis et al., 2006) já foram reportados.

Em idosos com CCL, uma meta-análise recentemente publicada (Jean et al., 2010) selecionou 15 estudos sobre o tema publicados entre 2002 e 2009. Apesar de diferentes ganhos terem sido reportados entre os estudos, foram realizadas recomendações sobre a realização de novos trabalhos com amostras representativas e desenhos experimentais robustos para que a eficácia da intervenção seja adequadamente testada.

Uma questão pouco explorada é a investigação sobre os correlatos neurais das das modificações comportamentais observadas como ganhos das

intervenções cognitivas. Olesen et al. (2004) investigou os efeitos de um treinamento de memória de trabalho na atividade cerebral por RMf. Comparações pré e pós-treino revelaram aumento da ativação no giro frontal médio e nas regiões superiores e inferiores do córtex parietal, a qual esteve correlacionada com o aumento da capacidade da memória de trabalho.

Especificamente em relação aos efeitos do treino de estratégias de organização semântica sobre a atividade neural, um estudo prévio do nosso grupo de pesquisa (Miotto et al., 2006) foi o primeiro a fornecer evidências diretas sobre o recrutamento de áreas específicas do córtex pré-frontal associado ao treinamento cognitivo. Utilizando ressonância magnética funcional, 15 adultos saudáveis foram avaliados antes e após 30 minutos de treinamento de uma estratégia de categorização semântica de listas de palavras. No treino, os sujeitos foram orientados a memorizar o maior número possível de itens com base na natureza de sua categoria semântica (ex. frutas, animais). O efeito da estratégia foi calculado a partir do número de itens da mesma categoria semântica evocados consecutivamente. Ativações bilaterais das regiões dorsolateral do córtex pré-frontal e órbito-frontal foram associadas ao uso da estratégia.

Em indivíduos idosos, modificações no fluxo sanguíneo regional avaliadas por tomografia por emissão de pósitrons (PET) associadas ao treinamento de uma estratégia específica de memória episódica foram investigadas por Nyberg et al. (2003). Um aumento da ativação do córtex pré-frontal dorsolateral e do córtex parieto-occipital do hemisfério esquerdo foi observado após o treino. Diferenças relacionadas à idade na ativação cerebral em função do uso espontâneo de estratégias verbais de codificação não foram

encontradas no estudo de Kirchhoff et al. (2011).

Recentemente, Belleville et al (2011) avaliou os correlatos neurais de um protocolo de treino cognitivo de 6 sessões em pacientes com CCL e idosos controles por RMf. Os participantes realizaram paradigmas de codificação e de reconhecimento antes e após o treinamento. Nos pacientes com CCL, um aumento da ativação após o treino foi observado em áreas frontais, temporais e parietais. No grupo de idosos controles, foi observado um maior número de áreas com diminuição da ativação após o treino.

3 HIPÓTESES

Considerando as informações apresentadas na revisão de literatura que sugerem a presença de alterações na fase de codificação da memória episódica como mecanismo contribuinte para os déficits cognitivos no CCL, e dadas as evidências de que estratégias comportamentais facilitadoras podem modular a atividade neural em regiões das redes frontoparietais e de controle cognitivo do cérebro envolvidas na realização de tarefas de memória em adultos e idosos saudáveis, as seguintes hipóteses foram formuladas para o presente estudo:

Hipótese 1 - Indivíduos com CCL apresentam desempenho inferior aos controles saudáveis na evocação das informações codificadas espontaneamente, o que é minimizado pelo uso dirigido da estratégia de aprendizagem verbal. Paralelamente à melhora comportamental, espera-se um aumento da ativação de regiões cerebrais da rede frontoparietal, como em porções do córtex pré-frontal dorsolateral e do córtex parietal posterior, ao longo das bordas do sulco intraparietal, em ambos os grupos, durante a codificação de palavras com a aplicação dirigida da estratégia em relação à codificação espontânea.

Hipótese 2 - Um possível mecanismo neural compensatório no CCL é representado pelo recrutamento adicional (i.e. aumento da ativação) de regiões frontoparietais ou de menor supressão (i.e. diminuição da ativação) em regiões de controle cognitivo, como o córtex do cíngulo anterior e córtex pré-frontal

medial, em comparação com os controles, na condição de codificação direcionada para o uso da estratégia em relação à condição espontânea.

Hipótese 3 - O aumento do uso da estratégia de aprendizado está correlacionado a diferentes padrões de modificação da atividade neural entre os grupos em regiões associadas às funções de controle cognitivo, como o CPFVM.

4 MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) do HCFMUSP sob protocolo número 0349/09 (Anexo A). Os participantes receberam informações sobre os objetivos e procedimentos do estudo e forneceram consentimento por escrito (Anexo B) para participação no mesmo.

4.2 Desenho do estudo

Este estudo transversal, de natureza observacional, avaliou a diferença de atividade em regiões cerebrais associadas à memória episódica e controle cognitivo durante a codificação de palavras com o uso espontâneo de estratégias de memorização e após a orientação explícita para o uso de uma estratégia de aprendizagem verbal em indivíduos com CCL e controles cognitivamente saudáveis. Os participantes foram selecionados por conveniência entre o período de dezembro de 2009 a maio de 2011.

4.3 Casuística

4.3.1 Grupo CCL

Os sujeitos com CCL (n=18) foram recrutados no Ambulatório de Neurologia Cognitiva e do Comportamento (ANCC) do HCFMUSP e no Centro de Referência de Distúrbios Cognitivos (CEREDIC) do HCFMUSP. Os pacientes foram selecionados a partir dos critérios descritos abaixo.

Critérios de inclusão

- dados disponíveis das avaliações neurológica e neuropsicológica;
- idade entre 55 e 85 anos;
- lateralidade destra, avaliada pelo Inventário de Lateralidade de Annett-Lezak (Lezak et al., 2004), escore superior a 9;
- português brasileiro como primeira língua;
- preenchimento dos critérios de Petersen para diagnóstico de CCL amnésico único (CCLa) ou múltiplos domínios (CCLa+md) (Petersen et al., 2001; Winblad et al., 2004), sejam eles: 1) presença de queixa de memória, preferencialmente corroborada por um informante; 2) déficit objetivo de memória isolado (CCLa), ou associado à déficits em outros domínios cognitivos (CCLa+md), evidenciados em teste padronizado para idade e escolaridade; 3) atividades de vida diária preservadas e atividades instrumentais minimamente prejudicadas; e 4) ausência de demência.
- diagnóstico de consenso de CCLa único ou múltiplos domínios, realizado por um médico neurologista e um neuropsicólogo da equipe, com base nas avaliações clínicas e complementares;

Para operacionalização dos critérios de Petersen foram utilizados os seguintes procedimentos:

- relato de queixa de memória subjetiva do paciente e percepção da sua dificuldade pelo informante, fornecidas ao neurologista, psiquiatra ou geriatra, no momento da anamnese e confirmadas pelo Informant Questionnaire of Cognitive Decline in the Elderly (IQCODE; Jorm et al., 1989; Bustamante et al., 2003);
- escore de evocação tardia do Teste de Aprendizagem Auditivo Verbal de Rey

(RAVLT; Spreen e Strauss, 1998; 1958) inferior a pelo menos 1DP da média ajustada para idade e escolaridade (Malloy-Diniz et. al., 2000). Atualmente não há consenso sobre o ponto de corte ou instrumento a ser utilizado para caracterização de déficit cognitivo objetivo nos quadros de CCL. No artigo original de Petersen et al. (2001) e na subsequente revisão dos critérios diagnósticos de CCL por Winblad et al. (2004) não são descritos pontos de corte específicos para a realização do diagnóstico. Optou-se por um ponto de corte mais liberal, em contrapartida ao conservador 1,5DP, para aumentar a sensibilidade do diagnóstico (Jak et al., 2009) e pelo interesse em se estudar indivíduos no início do espectro da doença. A evocação tardia do RAVLT foi utilizada pelo seu poder de discriminação entre sujeitos com déficits subjetivos de memória, CCL e DA (Estévez-González et al., 2003), e por avaliar habilidades de memória episódica mais comumente observadas em pacientes com CCL que progridem para a DA (Albert et al., 2011).

- escore normal no Mini Exame do Estado Mental (Folstein et al., 1975). Para a pontuação do teste, foram utilizadas como ponto de corte as médias descritas de acordo com a escolaridade (1 a 4 anos > 24; 5 a 8 anos > 26; 9 a 11 anos > 27; igual ou superior a 12 anos > 28) [Brucki et al., 2003].

- ausência de alterações funcionais relevantes, evidenciada por escore menor que 5 no questionário de Pfeffer (Pfeffer et al., 1982) e menor que 3,41 no (IQCODE);

4.3.2 Grupo controle

Os indivíduos do grupo controle (n=17) foram recrutados a partir da divulgação da pesquisa entre os acompanhantes dos pacientes com CCL,

entre os funcionários aposentados do HCFMUSP e entre frequentadores de estabelecimentos de interação social como igrejas e centros de convivência do distrito de Pinheiros, São Paulo, SP. Os indivíduos controles foram selecionados a partir dos critérios descritos abaixo.

Critérios de inclusão

- idade entre 55 e 85 anos;
- lateralidade destra, avaliada pelo Inventário de Lateralidade de Annett-Lezak (Lezak et al., 2004), ponto de corte > 9 ;
- português brasileiro como primeira língua;
- ausência de déficit subjetivo de memória. Como ponto de corte, foi utilizado o escore maior que 25 no Questionário de Queixas Subjetivas de Memória (MAC-Q; Crook et al., 1992);
- ausência de déficits funcionais de acordo com o questionário de Pfeffer (Pfeffer et al., 1982), ponto de corte < 5 , e no IQCODE (Jorm et al., 1989), ponto de corte $< 3,41$ (Bustamante et al., 2003);
- escore normal no MEEM (Folstein et al., 1975; Brucki et al., 2003);

4.3.3 Critérios de exclusão para os grupos CCL e controle

- participação atual ou prévia em programas ou estudos sobre treinamento da memória;
- presença atual de sintomas depressivos, avaliada pela Escala de Depressão Geriátrica (GDS; Yesavage et al., 1983; Almeida e Almeida, 1999), ponto de corte > 5 ;
- diagnóstico atual ou prévio de qualquer outra doença neurológica,

neurodegenerativa ou psiquiátrica;

- condições de saúde instáveis (ex. neoplasias, cardiopatias, diabetes tipo I ou tipo II, além de hipotireoidismo, déficit de vitamina B12/folato e hipertensão) não controladas nos últimos 6 meses);
- menos de quatro anos de estudo formal;
- uso atual ou nos seis meses prévios de substâncias psicoativas. O uso de antidepressivos tricíclicos ou inibidores da recaptação de serotonina e/ou noradrenalina não foram considerados critérios de exclusão quando em uso estabilizado por, no mínimo, dois meses;
- contraindicações para a realização do exame de ressonância magnética tais como presença de marca-passo, cliques metálicos, implante coclear ou claustrofobia;
- presença de próteses fixas e/ou implantes dentários que possam ocasionar artefatos nas imagens de ressonância magnética;
- alterações estruturais nos exames de ressonância magnética, mesmo que assintomáticas (ex. cistos, meningiomas). Achados relacionados à idade (ex. diminuição do volume encefálico ou focos inespecíficos de alteração da substância branca) não constituíram critério de exclusão.
- déficits sensoriais não corrigidos ou incompatíveis com a realização dos procedimentos da pesquisa;

4.3.4 Avaliação clínica e funcional

Todos os participantes do grupo CCL foram submetidos à avaliação médica (neurológica, geriátrica ou psiquiátrica) por profissionais do ANCC-

HCFMUSP ou do CEREDIC, exames laboratoriais e exames de imagem (tomografia computadorizada ou ressonância magnética de crânio). Os pacientes foram submetidos à avaliação física ou neurológica, e foram avaliados pelos seguintes instrumentos (ou questionários): 1) MEEM (Folstein et al., 1975); 2) Bateria Breve de Rastreio Cognitivo (Nitrini et al., 1994); 3) Escore Isquêmico de Hachinski (Hachinski et al., 1975); 4) GDS (GDS; Yesavage et al., 1983; Almeida e Almeida, 1999); 5) Questionário de Pfeffer (Pfeffer et al., 1982) e 6) IQCODE (Jorm et al., 1989). O diagnóstico de CCL foi estabelecido por consenso entre os integrantes da equipe médica (Portet et al., 2001).

4.3.5 Avaliação do grupo controle

Os participantes do grupo controle foram avaliados pelos seguintes instrumentos: 1) Questionário sobre histórico de saúde, hábitos e contraindicações para realização do exame de ressonância magnética (Anexo C); 2) MAC-Q (Crook et al., 1992); 3) MEEM (Folstein et al., 1972); 4) GDS (GDS; Yesavage et al., 1983; Almeida e Almeida, 1999); 5) Questionário de Pfeffer (Pfeffer et al., 1982) e 6) IQCODE (Jorm et al., 1989).

4.3.6 Avaliação neuropsicológica

Todos os participantes foram submetidos à avaliação das funções neuropsicológicas, realizada pelos profissionais da equipe de neuropsicologia do ANCC-HCFMUSP ou neuropsicólogo com experiência na área. A bateria foi

composta pelos seguintes testes:

- memória episódica verbal: RAVLT (Spreen e Strauss, 1998; 1958; Malloy-Diniz et al., 2000) e subteste Memória Lógica da WMS-R (Wechsler, 1987);
- memória episódica visual: subteste Reprodução Visual da WMS-R (Wechsler, 1987) e Figura Complexa de Rey (Spreen e Strauss, 1998);
- habilidades visuo-construtivas: cópia da Figura Complexa de Rey (Spreen e Strauss, 1998);
- eficiência intelectual: subtestes Vocabulário e Matrizes da Escala Wechsler de Inteligência para Adultos (WAIS; Wechsler, 1997);
- nomeação: Teste de Nomeação de Boston (Goodglass e Kaplan, 1987; Radanovic et al., 2004);
- atenção e velocidade de processamento: Teste de Trilhas (Spreen e Strauss, 1998) e Teste Stroop (Spreen e Strauss, 1998);
- amplitude atencional e memória de trabalho: subteste Dígitos Direto e Inverso da WAIS (Wechsler, 1997);
- funções executivas: fluência verbal para categorias fonêmicas (FAS; Spreen e Strauss, 1998) e subteste fluência verbal para a categoria semântica supermercado da Escala de Avaliação de Demência (DRS; Mattis, 1988);
- lateralidade: Inventário de Lateralidade de Annett-Lezak (Lezak et al., 2004).

Uma medida indicativa do QI estimado foi calculada pela soma dos escores ponderados dos subtestes matrizes e vocabulário da escala WAIS (Schoenberg et al., 2002).

4.4 Ressonância Magnética

Os exames de RM foram realizados no Serviço de Ressonância Magnética do Instituto de Radiologia do HC-FMUSP. Todos os procedimentos foram realizados no mesmo equipamento Philips Achieva, campo de 3 Tesla.

Em cada sessão foi realizada uma sequência localizatória nos 3 planos (X, Y e Z) para localização da estrutura anatômica a ser estudada (tempo total 40s). Também foi realizada uma sequência localizatória ponderada em T2 (sagital T2) para localização das comissuras anterior e posterior (tempo total 20s), utilizadas para angulação das imagens funcionais (T2*). Com os objetivos de investigar a presença de possíveis lesões intracranianas, foram realizadas imagens axiais FLAIR (fluid-attenuated inversion recovery), com tempo total da sequência de 3min51s. Foram coletadas também imagens volumétricas de alta resolução anatômica, a fim de permitir o co-registro das imagens funcionais de cada indivíduo, com tempo total da sequência de 5min58s.

As imagens FLAIR também foram utilizadas para avaliar as hiperintensidades em substância branca, tanto periventriculares como profundas, utilizando-se a escala Fazekas (Inzitari et al., 2009). Os exames foram avaliados por uma neurorradiologista com experiência na área, não ciente do diagnóstico quanto ao grupo CCL e ao grupo controle. Os hipersinais foram avaliados e graduados visualmente em três níveis de gravidade, sendo periventriculares: 0 = ausentes, 1 = finas linhas de hipersinais, 2 = halos tênues, 3 = halos irregulares se estendendo à substância branca profunda; e em substância branca profunda: 0 = ausentes, 1 = focos puntiformes, 2 = focos começando a se confluir, 3 = grandes áreas confluentes.

As imagens funcionais consistiram de imagens T2* ecoplanares (EPI), de contraste dependente do nível de oxigenação da hemoglobina (BOLD),

orientadas no plano bicomissural AC-PC, voxel isotrópico de 3mm³, espaçamento de 0,3mm, matriz de 80x78, FOV 240mm², flip angle=90°, TE=30ms, TR=3000ms, 41 fatias de forma a cobrir todo o encéfalo, total de 94 volumes, e tempo total da sequência de 4min42s. Os quatro primeiros volumes das sequências funcionais foram descartados, antes da sincronização com os estímulos visuais, a fim de obterem-se apenas imagens após o equilíbrio do sinal.

4.4.1 Instrumentos para apresentação dos estímulos

Os estímulos do paradigma de RMf foram programados no software E-Prime 1.0 (Schneider et al., 2002). Na sala de comando, um computador PC conectado a um projetor multimídia foi utilizado para projetar os estímulos em uma tela constituída de material não ferromagnético posicionada dentro da sala do magneto. Os participantes visualizavam a tela posicionada aos pés da maca de exame através de um jogo de espelhos acoplados na bobina de crânio, a uma distância de aproximadamente 2,60m. Para sincronização precisa da apresentação dos estímulos visuais com a aquisição das imagens funcionais, foi utilizado um trigger programável (Zurc & Zurc, São Paulo, SP) que recebe um sinal do console controlador do aparelho de RM e o transmite ao PC a cada nova aquisição funcional. Um sistema de som composto de microfones e alto-falantes permitiu a interação entre a sala de comando e sala de exame.

4.4.2 Princípios do paradigma de codificação da memória verbal

O paradigma de memória verbal utilizado neste estudo foi desenvolvido a partir de uma adaptação do Teste de Aprendizagem Verbal Califórnia (Delis et al., 1988), já utilizada previamente em um experimento de PET (Savage et al., 2001) e de ressonância magnética funcional (RMf) [Miotto et al., 2006]. O teste original consiste na apresentação de uma lista com dezesseis palavras pertencentes a quatro categorias semânticas: roupas, vegetais, ferramentas e frutas. A lista é apresentada oralmente por cinco vezes pelo examinador, e após cada uma delas o examinando deve evocar, de forma intencional, o máximo de palavras que conseguir memorizar. Os escores do teste podem ser computados pelo número de palavras evocadas após cada tentativa, pelo número total de palavras evocadas e pelo número de agrupamentos de cada categoria entre as palavras evocadas, medida esta que é utilizada para composição de um índice de estratégia semântica durante ao aprendizado.

No presente estudo, utilizou-se parte dos estímulos propostos por Miotto e cols (2006). O material consiste de duas listas de palavras (Anexo D), cada uma composta por 16 substantivos concretos e inanimados e com diferentes graus de relacionamento semântico: 1) palavras não relacionadas semanticamente (NR); 2) palavras relacionadas semanticamente porém apresentadas de forma não estruturada (SR), isto é, palavras de uma mesma categoria semântica não são apresentadas consecutivamente para que processos estratégicos de organização sejam necessariamente exigidos quando da utilização de estratégias de codificação. As listas de palavras relacionadas foram construídas a partir de oito diferentes categorias, sendo cada uma delas representada por quatro palavras em cada lista. Para evitar a ocorrência de efeitos de teto na realização de agrupamentos em indivíduos

sadios (Delis et al., 1998), foram incluídas duas categorias associadas dentro de cada lista (ex. frutas e verduras). As listas foram pareadas pelo número total de letras, e sua exequibilidade em promover ou não o uso de estratégias de agrupamento foi testada em estudos pilotos em indivíduos jovens e idosos, e pelo estudo anterior de Miotto et al. (2006). Em resumo, o objetivo principal do material é promover o uso espontâneo ou direcionado de estratégias de codificação suportadas pelo processamento semântico da linguagem e pelo funcionamento executivo.

Duas sessões para aquisição de imagens de RMf foram realizadas. Na primeira, designada como sessão espontânea, nenhuma orientação específica para memorização intencional das palavras foi fornecida aos participantes. Na segunda, chamada de sessão dirigida, os participantes foram instruídos a utilizar uma estratégia de aprendizado verbal para realização da tarefa. A diferença de processamento estratégico da memória episódica entre as sessões foi o componente cognitivo de interesse investigado.

4.4.3 Paradigma utilizado durante a coleta das imagens funcionais

Um esquema do paradigma experimental utilizado em cada uma das sessões (espontânea e direcionada) para avaliação de processos estratégicos da memória episódica é descrito na Figura 1, o qual consiste em uma modificação do procedimento utilizado por Miotto et al. (2006). O paradigma é classificado como do tipo bloco ABC. Durante os blocos A e B, cada uma das listas de palavras, SR e NR, é apresentada visualmente, e os blocos são intercalados pela apresentação da condição C, uma condição linha-de-base na

qual são apresentados símbolos sem significado linguístico para fixação ocular. Em cada sessão, as listas de palavras SR e NR foram apresentadas 3 vezes, intercaladas por 7 apresentações da fixação. A fixação foi composta de sequências dos caracteres “x” e “+”, pareadas em extensão com o número de letras das palavras das listas SR e NR. Cada sequência da fixação foi apresentada por 2000ms, em blocos de 12s. Em cada bloco das condições A e B, cada uma das palavras foi apresentada por aproximadamente 2000ms, em blocos de 33s. Nas 3 condições, os estímulos foram apresentados de forma aleatorizada.

Figura 1. Esquema do paradigma experimental de RMf. Em cada aquisição (espontânea e direcionada), cada lista de palavras (NR e SR), composta de 16 itens, foi apresentada três vezes. A ordem de apresentação das listas foi contrabalanceada entre as aquisições. O tempo total de cada aquisição foi de 282s (4min42s), totalizando 94 volumes.

Diferentes listas de palavras foram utilizadas para cada uma das sessões, a fim de minimizar os efeitos de re-teste. A ordem de apresentação das listas foi contrabalanceada entre as sessões. Na sessão espontânea, os sujeitos foram orientados a visualizar as palavras apresentadas na tela por meio do espelho acoplado à bobina de crânio e a memorizar o maior número de palavras possível para posterior recordação. Nenhuma instrução específica

para memorização das palavras foi fornecida. Imediatamente após a sessão espontânea, ainda dentro do equipamento de ressonância, os participantes realizaram uma tarefa de evocação livre de memória.

4.4.4 Orientação para o uso dirigido da estratégia de aprendizagem verbal

Após a tarefa de evocação livre, os sujeitos foram transferidos para a sala de consulta da pesquisa, ao lado da sala de exame, e realizaram uma tarefa de memória de reconhecimento dos estímulos apresentados. Nesta tarefa foram apresentadas as 32 palavras das listas NR e SR, e 32 palavras novas, não visualizadas durante a sessão espontânea de codificação (Anexo D). A seguir, foi solicitado que os participantes descrevessem verbalmente os procedimentos utilizados para memorizar as palavras durante a sessão de codificação espontânea. As informações referidas pelos participantes foram registradas.

Os participantes então foram submetidos a uma breve sessão de orientação e prática, para a aplicação direcionada de uma estratégia específica de memorização durante a codificação de palavras, denominada estratégia de agrupamento semântico. O efeito facilitador desta intervenção teve como base os pressupostos de teorias cognitivas sobre o funcionamento da memória (Bousfield, 1953; Tulving, 1974), que postulam que o grau de elaboração e organização semântica das informações verbais durante a codificação melhora a aquisição, a consolidação e a recuperação das informações. Os participantes foram inicialmente orientados sobre os objetivos do uso da estratégia e em seguida praticaram sua aplicação durante a memorização de listas de palavras.

Durante a prática, os sujeitos foram instruídos a ler e identificar palavras pertencentes à mesma categoria semântica, de forma a organizá-las para posterior evocação. Somente listas do tipo SR foram utilizadas (Anexo D). Estímulos diferentes dos visualizados na sessão espontânea, porém na mesma interface de apresentação, foram utilizados.

Após a sessão de orientação, os sujeitos realizaram a sessão de codificação direcionada de RMf, com o mesmo paradigma adotado na codificação espontânea, porém com novas listas de palavras. Neste momento, no entanto, os participantes receberam uma orientação específica para utilizar a estratégia de agrupamento semântico praticada, durante a codificação. Ao final da sessão direcionada, os sujeitos realizaram novas tarefas de evocação livre e reconhecimento de palavras, e foram novamente solicitados a reportar os procedimentos adotados para realizar a tarefa. O número de palavras evocadas de cada condição (SR e NR), após cada sessão (espontânea e direcionada) foi contabilizado. A evocação consecutiva de duas palavras da lista SR foi contabilizada como uma unidade de agrupamento semântico. Índices de agrupamento foram calculados para cada sujeito, e em cada sessão, por meio da proporção entre o número de agrupamentos realizados e o total de possibilidades em relação ao total de palavras evocadas, dado por $[\text{número de agrupamentos} / (\text{total de palavras evocadas} - \text{categorias evocadas})]$. Este índice foi utilizado como uma medida indicativa da tendência dos sujeitos em organizar as palavras nos sistemas de memória e manipulá-las de acordo com suas características semânticas, e foi assumido como um indicador do grau de processamento estratégico utilizado pelos participantes durante a codificação das palavras.

4.4.5 Preparação para a realização do exame de ressonância magnética

Inicialmente, todos os sujeitos foram entrevistados pela equipe de enfermagem do setor de Ressonância Magnética do Instituto de Radiologia (InRad) do HCFMUSP para verificação de quaisquer contraindicações para a realização do exame. Os participantes foram orientados a deixar seus pertences nos armários do InRad, e a vestir a roupa destinada à eles para o procedimento de avaliação.

Em seguida, os participantes realizaram uma sessão de pré-teste do experimento no consultório de pesquisa do InRad. Para este pré-teste, foi utilizado um computador portátil e os estímulos foram apresentados pelo programa E-Prime 1.0 (Schneider et al., 2002), em condições similares às presentes na sessão de aquisição das imagens funcionais. A instrução da tarefa foi lida ao sujeito, e em seguida foi realizada a simulação da situação experimental, porém com estímulos verbais de natureza diferente da do teste (i.e. nomes próprios de pessoas). Caso houvesse dúvida por parte do voluntário, uma nova explicação lhe era fornecida, até que o mesmo compreendesse o procedimento de forma satisfatória.

Para realização do exame de RM, os sujeitos foram posicionados na maca e instruídos a utilizar protetor auricular interno e outro externo para minimização do ruído decorrente do procedimento. Foram adotadas medidas de contenção de movimentos para minimizar possíveis artefatos decorrentes da movimentação. Duas fitas adesivas foram utilizadas para fixação da testa e do queixo em relação à bonina de crânio, além de almofadas de espuma, que

foram posicionadas nas laterais para imobilização do segmento cefálico. O grau de desconforto dos sujeitos foi checado e, se necessário, adaptações individuais na colocação dos imobilizadores foi realizada. Um botão de segurança foi posicionado na mão direita dos participantes e estes foram orientados a utilizá-lo para comunicação com a equipe de avaliação.

4.5 Análise estatística

4.5.1 Análise estatística dos dados comportamentais

Para descrição dos resultados, foram empregados a média e o erro-padrão da média, exceto para a variável sexo que foi descrita como proporção mulheres/homens. Para análise dos dados demográficos, neuropsicológicos, e clínicos, a aderência à curva normal foi avaliada pelo uso do teste Komolgorov-Smirnov para cada grupo. As comparações entre médias foram realizadas pelo teste t-Student para amostras independentes, ou pelo teste de Mann-Whitney. Para a comparação das proporções homens/mulheres entre os grupos, utilizou-se o teste do qui-quadrado. A homogeneidade das variâncias dos dados de evocação e de agrupamento semântico da tarefa experimental entre os grupos foi testada através do teste de Levine. Quando aceita a premissa de homocedasticidade, foram realizadas análises de variância (ANOVA) com medidas repetidas para três fatores para verificação dos efeitos de grupo (CCL vs. controle), de lista de palavras (SR vs. NR), de sessão (espontânea vs. dirigida) e das suas interações sobre os escores das tarefas de evocação livre e reconhecimento. Uma ANOVA de medidas repetidas foi utilizada para

verificação dos efeitos de grupo e de sessão sobre o índice estratégico. Todas as análises foram realizadas utilizando o pacote estatístico SPSS 12.0 (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, EUA), sendo adotado o nível de significância de 5%.

4.5.2 Análise das imagens de ressonância magnética funcional

O processamento e a análise das imagens funcionais foram realizados pelo pacote estatístico FSL versão 4.1 (FMRIB, Analysis Group, Oxford, UK, <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/>). Inicialmente, as imagens EPI de cada sessão foram pré-processadas pelos seguintes procedimentos: correção de movimento, suavização espacial com um filtro Gaussiano de 5mm para aumento da relação sinal ruído, correção do tempo de aquisição entre as fatias, remoção de voxels em estruturas extra-encefálicas, filtro temporal passa-alto com tempo máximo de passagem de 100s para controlar os limites de oscilação do sinal BOLD associada à estimulação. Para as análises de grupo, a imagem T2 EPI de cada sujeito foi registrada no espaço padrão MNI 152 utilizando a ferramenta de registro linear (FLIRT). Esta transformação foi realizada a partir da combinação de duas outras transformações: inicialmente da imagem funcional para sua respectiva imagem estrutural de alta resolução, e, posteriormente, para o espaço padrão MNI.

Em análises de primeiro nível, os mapas de ativação individuais de cada uma das aquisições (espontânea e direcionada) foram obtidos por um modelo linear geral (GLM). As respostas devido à estimulação produzida por cada uma das condições experimentais (SR e NR) foram detectadas pela análise da série

temporal de cada voxel, por meio da convolução da função estímulo com a função da resposta hemodinâmica canônica dada pela função Gamma (tempo para o pico 6s, desvio padrão 3s). A diferença média de sinal entre as condições experimentais e a fixação e entre as condições foi avaliada pelos seguintes contrastes de primeiro nível : SR> fixação, NR>fixação e SR>NR.

Em análises de segundo nível, as imagens relativas a cada um dos contrastes de primeiro nível em cada sujeito foram analisadas por testes t para produzir mapas de ativação de grupo. Diferenças entre os grupos nas ativações durante a sessão espontânea foram avaliadas por contrastes t para amostras independentes (controle espontânea > CCL espontânea; CCL espontânea > controle espontânea).

Para responder o primeiro objetivo específico deste trabalho, (avaliar mudanças na ativação cerebral durante a codificação dirigida de palavras em relação à condição de codificação espontânea não-dirigida em indivíduos com CCL e controles cognitivamente saudáveis), diferenças de ativação entre as sessões, separadamente para cada grupo, foram examinadas por contrastes t para amostras dependentes, (dirigida > espontânea; espontânea > dirigida).

Para responder ao segundo objetivo (verificar a existência de diferentes padrões de mudança na ativação cerebral entre o grupo CCL e o grupo controle durante a codificação em resposta ao uso dirigido da estratégia), a interação grupo x sessão foi examinada por um teste t para amostras independentes entre os contrastes t pareados de cada grupo. Para controlar parcialmente a possibilidade de que diferenças de ativação refletissem apenas diferenças de desempenho na tarefa entre os grupos, o número de palavras evocadas em cada sessão foi incluído nesta análise como variável de ajuste. O

padrão de diferenças entre os grupos nas modificações da ativação entre as sessões foi examinado pela construção de gráficos contendo a média dos parâmetros que indicam a variação do sinal BOLD entre as condições experimentais em cada voxel dentro dos clusters com interação significativa, em cada grupo, para cada sessão.

Para responder ao terceiro objetivo (verificar se a melhora do desempenho comportamental pelo uso dirigido da estratégia de aprendizado verbal prediz diferentes padrões de mudança da ativação em regiões cerebrais associadas à codificação da memória episódica entre os grupos), foram calculadas, para cada sujeito, as diferenças entre as sessões na variável de desempenho comportamental índice estratégico (Δ estratégia) e no parâmetro que define a variação do sinal BOLD no contraste SR>fixação (Δ ativação). A seguir, a interação grupo x Δ estratégia sobre a Δ ativação foi examinada.

As análises no nível de grupo foram realizadas considerando-se tanto a variabilidade entre os sujeitos quanto entre as sessões (i.e análise de efeitos mistos), o que possibilita generalizar os resultados para as populações das amostras estudadas. Para controle de resultados falso positivos, foram considerados significativos os clusters compostos de voxels sobreviventes ao limiar de $Z = 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas ao nível de significância de 0,05 (Worsley, 2001). A localização anatômica das áreas cerebrais ativadas será apresentada no sistema de coordenadas MNI (Montreal Neurological Institute) e foi qualitativamente descrita pelo atlas de Talairach e Tournoux (1988) e por inspeção visual de um neurorradiologista experiente. As ilustrações com os mapas das ativações foram construídas no software MRIcron (www.mricron.com, versão 12/2009).

5 RESULTADOS

5.1 Casuística

Do total de sujeitos com diagnóstico de CCL selecionados para participar da pesquisa, 6 não manifestaram interesse em realizar o protocolo de ressonância magnética funcional, 2 foram excluídos por presença de artefatos de susceptibilidade magnética nas imagens funcionais e 1 por dados brutos dos exames de imagem incompletos devido a problemas técnicos. Entre os sujeitos recrutados para o grupo de controles, 1 foi excluído por presença de artefato de susceptibilidade magnética nas imagens funcionais, 1 por claustrofobia desencadeada pela situação de exame, 2 por movimento excessivo durante a realização do exame de RMf, e 1 por identificação de lesão estrutural. Este último sujeito recebeu encaminhamento para o Ambulatório de Neurologia do HCFMUSP para avaliação clínica, de acordo com o pressuposto no Termo de Consentimento (Anexo A).

As características demográficas, neuropsicológicas e clínicas dos participantes são descritas na Tabela 1. A amostra final foi constituída por 18 sujeitos com CCL e 17 controles. No grupo CCL, 3 sujeitos não realizaram a tarefa de Nomeação de Boston e 2 sujeitos não realizaram a tarefa de fluência verbal categoria itens de supermercado. No grupo controle, 2 pacientes não realizaram as tarefas de Stroop e de Nomeação de Boston e 4 sujeitos não realizaram a tarefa de fluência verbal categoria itens de supermercado.

Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos em relação à idade, sexo, anos de estudo formal, nível socioeconômico, funcionamento cognitivo geral (MEEM), e sintomas depressivos (GDS). O

grupo CCL apresentou uma pontuação média maior no questionário de atividades funcionais de Pfeffer, embora o desempenho médio de cada grupo esteja dentro das faixas estipuladas nos critérios de inclusão. Em relação às alterações em substância branca avaliadas pela escala visual de Fazekas nas imagens FLAIR, não foram encontradas diferenças entre os grupos quanto à gravidade de lesões em região periventricular e na substância branca profunda.

Em comparação ao grupo controle, o grupo CCL apresentou um valor de QI estimado inferior ao grupo controle, embora ambos os grupos encontrem-se na faixa de QI médio. Conforme previsto a partir dos critérios de inclusão, o grupo CCL apresentou desempenho inferior ao grupo controle nos testes neuropsicológicos de memória verbal de evocação tardia (RAVLT e Memória Lógica). O grupo CCL também apresentou pontuação inferior nas medidas de evocação imediata do teste RAVLT, o que sugere um comprometimento da habilidade de aquisição da memória. Este padrão de desempenho também foi observado nos testes que avaliam evocação da memória visual (Figura de Rey), velocidade de processamento (velocidade de processamento), função executiva (fluência verbal categorias semântica e fonética), atenção e memória de trabalho (Dígitos direto e indireto) e nomeação (Teste de Boston). Na medida de avaliação da função inibitória (Stroop), o desempenho do grupo CCL foi marginalmente inferior ao do grupo controle. Não foram observadas diferenças entre os grupos na evocação imediata de histórias (Memória Lógica) e na cópia da figura complexa de Rey. Em conjunto, estes resultados indicam a confirmação do comprometimento primordial da memória episódica verbal no CCL, mas também a presença de um perfil neuropsicológico heterogêneo, com alterações em diferentes domínios cognitivos e algumas habilidades

preservadas.

Tabela 1. Características dos controles e sujeitos com CCL. Os resultados estão expressos como média (EP).

	Controles (n=17)	CCL (n=18)	Valor-p
Idade	68,25 (1,54)	69,50 (1,91)	0,652
Educação	11,19 (1,35)	9,20 (1,13)	0,332
Gênero	8M/9F	8M/10F	0,870
Escore Fazekas – SB profunda	1,21 (0,33)	1,50 (0,37)	0,107
Escore Fazekas – SB periventricular	1,38 (0,55)	1,15 (0,74)	0,375
GDS	1,25 (0,38)	1,69 (0,41)	0,444
Pfeffer	0,27 (0,2)	2,19 (0,52)	0,002
MMSE	28,33 (0,37)	27,06 (0,53)	0,167
WMS-R, evocação imediata	26,36 (1,60)	20,61 (2,10)	0,053
WMS-R, evocação tardia	24,36 (1,44)	9,06 (1,59)	<0,001
QI estimado	95,83 (2,81)	104,56 (2,28)	0,02
Vocabulário (WAIS)	33,25 (4,52)	39,14 (7,93)	0,081
Matrizes (WAIS)	16,93 (1,28)	11,53 (1,16)	0,004
RAVLT escore total	46,60 (2,89)	27,94 (2,22)	<0,001
RAVLT evocação imediata	9,80 (0,67)	5,24 (0,59)	<0,001
RAVLT evocação tardia	9,44 (0,65)	4,41 (0,46)	<0,001
Dígitos Direto (WAIS)	7,17 (0,52)	5,06 (0,34)	0,002
Dígitos Inverso (WAIS)	5,42 (0,41)	3,06 (0,14)	<0,001
Figura de Rey (cópia)	31,50 (1,24)	30,69 (1,22)	0,649
Figura de Rey (evocação tardia)	14,62 (1,78)	8,63 (1,71)	0,024
Stroop (tempo na terceira prancha)	31,77 (2,28)	43,39 (5,31)	0,045
Fluência Verbal (supermercado, MDRS)	24,64 (2,53)	17,79 (1,40)	0,020
Fluência Verbal (FAS)	38,33 (2,61)	27,24 (3,42)	0,024
Teste de Nomeação de Boston	54,07 (1,20)	48,83 (2,18)	0,020

SB = substância branca profunda; GDS = Escala de Depressão Geriátrica; MDRS = Escala de Mattis para Avaliação da Demência; MMSE = Mini Exame do Estado

Mental; WMS-R = Escala de Memória Wechsler – Revisada, subteste Memória Lógica; WAIS = Escala de Inteligência Wechsler para Adultos.

5.2 Resultados comportamentais do paradigma de RMf

O desempenho dos grupos nas tarefas de evocação livre, índice estratégico e reconhecimento das palavras do paradigma de RMf, avaliadas antes e após a orientação explícita para o uso da estratégia de organização semântica durante a codificação da memória, são mostrados na Figura 1 e Tabela 2. Os resultados da ANOVA de medidas repetidas 2 x 2 indicam que ambos os grupos evocaram um maior número de palavras após receberem a orientação explícita para a aplicação da estratégia de codificação [efeito de sessão, $F(1,33) = 20.766$, $p < 0.001$], sendo que as palavras da lista SR foram mais evocadas do que as da lista NR [efeito de lista, $F(1,33) = 115.447$, $p < 0.001$]. O desempenho do grupo CCL foi inferior ao do grupo controle após ambas as sessões, e para as palavras das duas listas [efeito de grupo, $F(1,33) = 13.923$, $p = 0.001$]. Uma análise a posteriori indicou, entretanto, que o desempenho do grupo CCL após o uso direcionado da estratégia equiparou-se ao grupo controle após a sessão de codificação espontânea ($t(33) = -1.18$, $p = 0.272$). Em relação ao índice de agrupamento semântico, que indica a proporção de palavras evocadas de forma agrupada por categorias em relação ao total de agrupamentos possíveis, valores significativamente maiores foram observados em ambos os grupos após o uso direcionado da estratégia [$F(1,33) = 28.859$, $p < 0.001$]. Dada a diferença significativa entre os grupos na quantidade de palavras evocadas, o número médio de agrupamentos realizados pelo grupo controle, como esperado, foi maior do que o observado no grupo CCL [$F(1,33) = 4.275$, $p = 0.047$].

Figura x. Média e erro padrão do número de palavras evocadas pelos grupos CCL e controle, após cada sessão de codificação, pertencentes às listas de palavras não-relacionadas (NR) e relacionadas (SR) em termos de categorias semânticas.

Na tarefa de memória de reconhecimento (Tabela 1), não foram identificadas diferenças significativas entre as sessões de codificação na proporção de palavras corretamente lembradas (acertos) [$F(1,33) = 0.050$, $p = 0.825$] em ambos os grupos. Entretanto, o grupo CCL obteve uma taxa de acertos menor do que o grupo controle tanto após a sessão espontânea como da dirigida [$F(1,33) = 10.518$, $p = 0.003$]. Em relação à proporção de palavras corretamente rejeitadas, houve uma diferença (i.e. aumento) significativamente maior no desempenho entre as sessões no grupo CCL do que no grupo controle [efeito de interação, $F(1,33) = 11.876$, $p = 0.002$].

Table 1. Desempenho na tarefa de memória de reconhecimento. Resultados expressos como média (EP).

	Controle		CCL	
	Espontânea	Dirigida	Espontânea	Dirigida
Reconhecimento				
Acertos	0.88 (0.024)	0.84 (0.027)	0.77 (0.026)	0.75 (0.028)
Rejeições corretas	0.92 (0.029)	0.89 (0.023)	0.82 (0.031)	0.92 (0.024)

Em resumo, os resultados comportamentais mostraram que o grupo CCL evocou um menor número de palavras do que o grupo controle. Entretanto, após a orientação dirigida para o uso da estratégia de aprendizagem verbal, o desempenho na evocação das palavras da lista SR do grupo CCL foi semelhante ao do grupo controle na condição de codificação espontânea. Um desempenho reduzido na habilidade de reconhecer as palavras apresentadas durante a tarefa de codificação foi observado no grupo CCL em relação ao controle, embora ambos os grupos tenham obtido desempenho acima do nível do acaso.

5.3 Resultados da RMf

Para cada grupo, em cada uma das sessões, um aumento do sinal BOLD significativo foi observado durante a codificação de cada uma das listas de palavras em relação à condição de fixação (SR>fixação; NR>fixação). Não foram observadas regiões com aumento significativo da ativação durante a codificação da lista SR em relação à NR.

Os resultados descritos nas seções subsequentes, que descrevem as

comparações previstas nos objetivos deste trabalho, utilizam os contrastes (SR>fixação; NR>fixação), os quais foram sensíveis para detectar aumento da ativação médio em cada um dos grupos em regiões cerebrais frequentemente reportadas em estudos de codificação visual de estímulos verbais em relação à fixação, incluindo o córtex frontal inferior esquerdo (giro frontal inferior e giro pré-central), giro fusiforme e porções do cerebelo bilateral, córtex parietal posterior, nas bordas do sulco intraparietal, e no giro angular e lóbulo parietal superior esquerdo (Anexo, Tabela 1).

Para cada comparação, uma descrição do tamanho do cluster, das coordenadas MNI dos voxels com os picos de ativação e seus respectivos valores Z, e da descrição anatômica com sua área de Brodmann correspondente está descrita no formato de tabelas nos Anexos. Ao longo do texto, será realizada uma descrição anatômica dos voxels com os picos de ativação de cada cluster significativo em cada comparação.

5.3.1 Mudanças na ativação cerebral durante a codificação dirigida de palavras em relação à condição de codificação espontânea não-dirigida em indivíduos com CCL e controles cognitivamente saudáveis

As comparações entre as sessões, utilizando os contrastes SR>fixação e NR>fixação, resultou em clusters com mudanças de ativação significativas em regiões espacialmente similares, o que já era sugerido pela ausência de significância do contraste SR>NR.

Grupo controle

No grupo controle, para o contraste SR>fixação, foi observado aumento da ativação (Figura 8a, em vermelho) após a orientação para o uso da estratégia de aprendizagem verbal no córtex frontal inferior, ao longo das bordas do sulco frontal inferior, e porções do córtex pré-frontal dorsolateral, incluindo o giro frontal médio, giro pré-central, córtex parietal posterior, nas bordas do sulco intraparietal e giro angular, e em porções do cerebelo no hemisfério esquerdo, além da área motora pré-suplementar (tabela 5, Apêndice). Redução da ativação durante a codificação dirigida em relação à codificação espontânea (figura A, em azul) foi observada no pré-cúneo esquerdo e no cíngulo posterior (BA 30, 31) bilateral; na porção medial do giro frontal superior e cíngulo anterior direitos, em porções do giro orbital medial direito e giro reto esquerdo, no lóbulo parietal inferior, giro supramarginal e giros temporais médio e superior direitos; e na região dorsal do giro frontal superior direito.

No contraste NR>fixação, foi observado aumento da ativação após a orientação dirigida para o uso da estratégia (figura 8b, em vermelho) no giro frontal inferior, bordas do sulco frontal inferior e giro pré-central esquerdos; giro angular, pré-cúneo e lóbulo parietal inferior esquerdos; em porções do cerebelo bilateral e na área pré-motora suplementar (tabela 6, Apêndice). Diminuição da ativação após a orientação para uso da estratégia (figura B, em azul) foi observada em porções do giro frontal superior, giro frontal orbital medial e cíngulo anterior direitos; no giro lingual bilateral, cíngulo posterior e cúneo direito e no pré-cúneo bilateral.

Figura 2. Áreas da superfície cortical dos mapas de ativação dos contrastes t pareados comparando a atividade cerebral durante a codificação de palavras antes e após a orientação específica para o uso da estratégia no grupo controle (clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$). Em azul, áreas nas quais houve diminuição da ativação, e em vermelho, áreas nas quais houve aumento da ativação após a instrução para aplicação da estratégia. Vistas laterais do hemisfério direito, esquerdo, posterior e superior do cérebro. A) Ativações relacionadas à condição SR. B) Ativações relacionadas à condição NR.

Grupo CCL

No contraste $SR > \text{fixação}$, foi observado aumento da ativação na sessão de codificação dirigida em relação à sessão espontânea (figura A, em vermelho) na região dorsal do giro frontal médio e giro frontal inferior esquerdos; nas bordas do sulco intraparietal, giro angular e giro temporal superior esquerdos; e no giro supramarginal, giro temporal médio e pré-cúneo direitos (tabela 7, Apêndice). Redução da ativação foi observada após a orientação para o uso da estratégia de aprendizagem verbal no giro lingual esquerdo e cúneo bilateral (figura A, em azul).

No contraste $NR > \text{fixação}$, houve aumento da ativação após a orientação para a aplicação da estratégia (figura 9b, em vermelho) em porções dos giros

frontais médio e inferior e do giro pré-central; pré-cúneo bilateral; e na porção medial do giro frontal superior bilateralmente (tabela 8, Apêndice). Diminuição da ativação durante a codificação direcionada em relação à condição espontânea (figura 9b, em azul) ocorreu nos giros temporais superior e médio e lóbulo parietal inferior direitos.

Figura 3. Áreas da superfície cortical dos mapas de ativação dos contrastes t pareados comparando a atividade cerebral durante a codificação de palavras antes e após a orientação específica para o uso da estratégia no grupo CCL (clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$). Em azul, áreas nas quais houve diminuição da ativação, e em vermelho, áreas nas quais houve aumento da ativação após a instrução para aplicação da estratégia. Vistas laterais do hemisfério direito, esquerdo, posterior e superior do cérebro. A) Ativações relacionadas à condição SR. B) Ativações relacionadas à condição NR.

5.3.2 Diferentes padrões de mudança da ativação cerebral durante a codificação dirigida em relação à codificação espontânea entre o grupo CCL e o grupo controle

Para identificar regiões com diferentes padrões de ativação durante a sessão de codificação dirigida em relação à codificação espontânea entre o grupo CCL e o controle, a interação grupo x sessão foi examinada utilizando os contrastes SR>fixação e NR>fixação.

A interação foi significativa, utilizando o contraste SR>fixação, em dois clusters (Tabela 1) localizados no córtex pré-frontal medial, estendendo-se para o cíngulo anterior, e no giro frontal superior direito, estendendo-se para o giro frontal médio. Na figura x, são apresentados gráficos que representam a natureza da interação, em cada um dos clusters. No córtex frontal medial, observa-se que houve uma diminuição da ativação no grupo controle durante a codificação dirigida em relação à codificação espontânea, ao passo que no CCL, a ativação não se modificou entre as sessões. No giro frontal superior direito, por outro lado, houve uma diminuição da ativação no grupo controle e um aumento no grupo CCL após a orientação dirigida para a aplicação da estratégia de aprendizagem verbal. (Figure 2). A interação grupo x treino utilizando o contraste NR>fixação não foi significativa.

Table 2. Áreas de significativa interação grupo x treino na ativação cerebral durante a codificação de palavras semanticamente relacionadas (SR>fixação).

Região	Lado	Tamanho	Coordenadas no MNI			Z	p-valor Cluster
			x	y	z		
Cluster pré-frontal dorsolateral		549					0.0034
Giro frontal médio (BA 46)	D		36	32	44	3.46	
Giro frontal inferior (BA 44)	D		48	12	46	3.38	
Giro frontal superior (BA 9)	D		24	40	46	3.35	
Cluster frontal medial		431					0.016
Giro frontal superior (BA 10)	D		6	68	8	4.13	
Giro orbital medial (BA 11)	D		12	54	-6	3.24	
Cíngulo anterior (BA 32)	D		6	52	0	2.93

Figura 4. Mudanças na ativação cerebral em regiões de interação grupo x sessão significativas, mostrando que no giro frontal superior (A) e no CPFM (B) houve uma diminuição da ativação nos controles e um aumento nos CCL após a orientação dirigida para a aplicação da estratégia de aprendizagem verbal.

5.3.3 Regiões com diferente padrão de correlação entre mudanças no desempenho comportamental e ativação pelo uso dirigido da estratégia de aprendizagem verbal

Diferentes padrões de correlação entre o aumento do índice estratégico de memória e mudanças na ativação entre as sessões de codificação foram observados no grupo controle e no grupo CCL (figura x) em um cluster localizado no córtex frontal orbital, estendendo-se para o córtex frontal medial e cíngulo anterior (pico do cluster no voxel com coordenada MNI 4 18 -16 no giro reto; $z = 3.58$; p-valor do cluster = 0.0429, corrigido para comparações múltiplas). No grupo controle, o aumento do uso da estratégia foi fortemente correlacionado com a diminuição da ativação ($r = -0.734$, $r^2=0.59$), ao passo que no grupo CCL, o aumento do uso da estratégia explicou um pequeno aumento da ativação nesta região após o uso dirigido da estratégia ($r = 0.339$, $r^2= 0.11$) (Figure 4).

Figura 5. Diferentes padrões de associação entre a mudança no índice estratégico de agrupamento semântico e a mudança na ativação entre as sessões de codificação no COF. Nos controles, o maior aumento do uso da estratégia foi preditivo de maior diminuição da ativação no COF ($r^2=0.59$), enquanto que nos CCLs o aumento no comportamento foi capaz de prever uma pequena variação do aumento da ativação nesta região ($r^2= 0.11$).

Em resumo, os resultados das análises de RMf indicaram que ambos os grupos apresentaram aumento da ativação durante a codificação dirigida em relação à codificação espontânea em regiões frontoparietais. O grupo controle, no entanto, exibiu diminuição da ativação em regiões do córtex pré-frontal medial e cíngulo anterior, córtex orbitofrontal, pré-cuneus e cíngulo posterior, e giro frontal superior direito. Diferentes padrões de mudança de ativação entre os grupos foram observados. No córtex frontal medial, enquanto o grupo controle apresentou uma diminuição da ativação durante a codificação dirigida em relação à codificação espontânea, o grupo CCL não apresentou modificações de ativação nesta região. No giro frontal superior direito, por outro lado, houve uma diminuição da ativação no grupo controle e um aumento no grupo CCL após a orientação dirigida para a aplicação da estratégia de aprendizagem verbal. A associação desta diferença de ativação em função da sessão na região do córtex frontal orbital, estendendo-se para o córtex ventromedial, foi reforçada pelo diferente padrão de correlação com o aumento do desempenho estratégico entre os grupos.

6 DISCUSSÃO

6.1 Casuística

Neste estudo, procurou-se investigar os mecanismos neurais subjacentes aos déficits de memória episódica em quadros de distúrbios cognitivos associados ao envelhecimento que podem conferir maior risco para a progressão para a DA.

Os indivíduos com CCL selecionados apresentaram perfil clínico e neuropsicológico semelhante ao descrito na literatura como característico de quadros de CCL que tem como etiologia provável a DA. Neste perfil (Albert et al., 2011; Frota et al. 2011) incluem-se queixa de memória corroborada por um informante, déficits objetivos em habilidades de memória episódica, preservação da independência nas atividades funcionais, não preenchimento de critérios para o diagnóstico de demência e ou de outras doenças sistêmicas ou neurológicas que poderiam ser responsáveis pelo declínio cognitivo. Entretanto, a verificação da presença de evidência de declínio longitudinal da cognição compatível com evolução natural da DA, recomendada pela Academia Brasileira e Americana de Neurologia, não foi realizada e representa uma limitação do presente estudo.

Os participantes deste estudo apresentam em média menores níveis de reserva cognitiva (ex. anos de escolaridade), uma variável que confere maior risco de progressão para quadros mais graves de distúrbios de memória (Nitrini et al., 2010). Estudos futuros que considerem a influência de características de reserva cognitiva na resposta à intervenções de reabilitação e nas modificações do sinal BOLD podem contribuir para a melhora da compreensão

sobre os mecanismos de compensação neurais e cognitivos frente ao envelhecimento.

O objetivo principal da avaliação neuropsicológica neste estudo foi o estabelecimento de pontos de corte para a inclusão e exclusão de participantes e não a caracterização dos perfis neuropsicológicos no envelhecimento cognitivamente saudável e no CCL. Entretanto, algumas considerações podem ser realizadas sobre estes achados. Apesar de encontraram-se dentro dos limites da faixa média de QI estimado, o desempenho inferior dos participantes com CCL nesta medida foi influenciado primordialmente pelo desempenho no teste de execução raciocínio matricial. O desempenho neste teste parece estar diretamente associado com as habilidades de função executiva (ref), as quais também se mostraram reduzidas no CCL em relação aos normais. Diversos estudos reportaram a presença de déficits em tarefas que avaliam funções executivas em pacientes com CCLa (Economou et al., 2007ç. ref). De forma específica, estes déficits tipicamente não estão associados a severas alterações no processo de consolidação da memória, mas interferem significativamente em habilidades necessárias para a aquisição e evocação das informações, como o uso de estratégias de organização e manipulação durante a codificação e a recuperação, e a inibição de informações externas irrelevantes para a realização da tarefa (Alexander e Stuss, 2000).

Cabe ressaltar que uma das dificuldades da realização de estudos em pacientes com CCL no Brasil reside na operacionalização do critério de Petersen et al. (2001) relacionado ao desempenho em testes objetivos de memória. Na nossa realidade, ainda são poucos os estudos voltados à normatização dos resultados de testes neuropsicológicos por faixa etária e

escolaridade, e também à investigação dos efeitos do envelhecimento em medidas de memória utilizadas em adultos. Entretanto, iniciativas na pesquisa nacional nesta direção têm sido realizadas nos últimos anos (Malloy-Diniz et al, 2000; Yassuda et al., 2005; Miotto et al., 2010).

6.2 Resultados comportamentais do paradigma de RMf

O déficit dos sujeitos com CCL na evocação das palavras apresentadas durante o paradigma foi condizente com o déficit de memória episódica apresentado na evocação imediata e tardia no RAVLT. Diversos trabalhos prévios mostraram que o desempenho de evocação livre em testes de aprendizagem verbal foi sensível para diferenciar participantes normais de CCL e DA (Delis et al., 1991; Deweer et al., 1995; Fox et al., 1998; Greenaway et al., 2006; Libon et al., 1998).

De acordo com o previsto na hipótese 1 deste estudo, o déficit de evocação no CCL foi atenuado com a aplicação dirigida da estratégia de aprendizagem verbal. Mais importante, o aumento do uso da estratégia equiparou o desempenho dos participantes com CCL ao nível dos normais na situação de codificação não-dirigida. Esta melhora do desempenho foi observada apenas para as palavras da lista SR, o que sugere que o efeito da estratégia de agrupamento semântico foi específico para este tipo de estímulos, como o esperado (Savage et al., 2001; Miotto et al., 2006).

O efeito facilitador da elaboração semântica durante a codificação da memória na subsequente evocação das informações (Tulving, 1972) é um princípio psicológico amplamente aceito nas teorias cognitivas sobre o

funcionamento da memória (Kandel, 2001). Estudos prévios mostram que o nível de processamento da informação durante a codificação pode reverter déficits de evocação e reconhecimento da memória associados à idade em idosos saudáveis (Craik e Fergunson; Freire et al., 2004). Foi demonstrado previamente, no entanto, que pacientes com CCL e DA leve apresentaram déficits relacionados à habilidade espontânea de realizar agrupamentos semânticos na evocação de palavras (Ribeiro et al., 2007; Malek-Ahmadi et al., 2011). Os achados do presente estudo indicaram que a habilidade de beneficiar-se de estratégias de suporte cognitivo durante a codificação parece estar preservada, ao menos no estágio do CCL.

Uma importante questão a ser considerada é em que medida a utilização dos processos cognitivos envolvidos na aplicação intencional da estratégia testada experimentalmente neste estudo podem ser generalizadas para situações da vida real dos pacientes com CCL, nas quais as exigências mnemônicas são, em maior parte, incidentais. Recentes revisões sistemáticas e meta-análises da literatura (Simon et al., 2012; Li et al., 2011) indicaram que estratégias de elaboração semântica são frequentemente utilizadas em estudos sobre intervenções cognitivas em idosos com CCL como parte de um protocolo de que envolve o treinamento de diversas estratégias mnemônicas. Desta forma, a contribuição específica da estratégia de agrupamento semântico sobre o funcionamento cognitivo de pacientes com distúrbios cognitivos no envelhecimento ainda é desconhecida.

Embora o desempenho reduzido na habilidade de reconhecer as palavras apresentadas durante a tarefa de codificação foi observado no CCL, ambos os grupos obtiveram um desempenho acima do nível do acaso e, por

isso, é pouco provável que alterações no estágio de retenção da memória tenham interferido no desempenho na tarefa evocação.

6.3 Resultados da ressonância magnética funcional

6.3.1 Detecção de áreas relacionadas à estimulação produzida pelo paradigma

Diferenças significativas de ativação foram detectadas no nível de grupo somente para os contrastes entre cada uma das condições ativas (SR e NR) e a fixação, esta última sendo considerada a condição linha de base da ativação cerebral durante a realização do paradigma. Este resultado também foi observado em estudos prévios que utilizaram uma versão similar deste paradigma (Miotto et al. 2006; Miotto et al., 2013). Um dos fatores que pode ter contribuído para a ausência de diferenças significativa de sinal nos contrastes entre as condições ativas (SR>NR), as quais diferiram pelo nível de associação semântica entre as palavras, pode estar relacionado com a instrução fornecida aos participantes para a realização da tarefa. Em ambas as aquisições (espontânea e direcionada), os sujeitos foram instruídos a memorizar as palavras da apresentação sem distinção entre as listas, o que pode ter sido representado pelo mesmo mecanismo de ativação em virtude da adoção de uma mesma estratégia cognitiva. De acordo com esta possibilidade, as comparações entre sessões utilizando os contrastes SR>fixação e NR>fixação, resultaram em clusters significativos espacialmente similares. Estudos que identificaram diferenças de ativação em regiões tipicamente associadas ao processamento semântico da linguagem, como o giro frontal inferior e o córtex

temporal médio (Paller & Wagner, 2002; Otten et al., 2001; Lambon Ralph et al., 2009), utilizaram desenhos em que cada uma das condições foi executada pelos sujeitos em aquisições separadas e sob instruções específicas para utilização da estratégia em cada condição (Savage et al., 2001; Strangman et al., 2009). Um segundo fator que pode ter influenciado na ausência de detecção de diferenças entre as condições ativas no presente estudo poderia incluir as limitações inerentes da RMf em detectar modificações na atividade neural associadas ao processo cognitivo de interesse que estejam além da sua resolução espacial e temporal (Poldrack, 2000).

Em relação à detecção de diferenças de ativação entre cada uma das condições em relação à linha de base (i.e. fixação), não se pode descartar a influência de diferenças de processamento geral dos estímulos não previstas inicialmente. Ao realizar a tarefa de codificação de palavras, os participantes tiveram como objetivo final evocar as palavras memorizadas ao término da aquisição, e, por isso, é possível que estratégias de ensaio para manter a informação verbal na memória de curto prazo tenham ocorrido ao longo da fixação. Uma vez que estamos contrastando a ativação durante a codificação de palavras com a ativação durante a fixação, diferenças nas modificações do sinal BOLD entre as duas condições podem ter sido minimizadas. Nesta mesma linha de raciocínio, a presença de clusters significativos de ativação em áreas não associadas diretamente com tarefas de memória verbal, como o cerebelo, pode representar diferenças na complexidade dos estímulos entre as palavras da condição de interesse e a fixação (Shergill et al., 2003). Outra variável que deve ser considerada na interpretação dos resultados é a problemática da questão do registro e normalização espacial das imagens dos

idosos (Samanez-Larkin & D'Esposito, 2008), gerado pelo aumento da variabilidade individual, pela diminuição do volume de substância cinzenta e aumento do volume do liquor. Esta limitação é minimizada no presente estudo, uma vez que foram comparados grupos de indivíduos da mesma faixa etária.

6.3.2 Aumento da ativação durante a codificação de palavras com a aplicação dirigida da estratégia de aprendizagem verbal em relação à codificação espontânea

Após a orientação explícita para a aplicação da estratégia de aprendizagem verbal e consequente melhora do desempenho estratégico e de memória, um aumento da ativação foi observado no grupo controle e no CCL em regiões cerebrais frequentemente descritas em estudos de RMf como parte da rede neural frontoparietal, tais como o CPFDL, córtex frontal inferior, e córtex parietal posterior, incluindo as bordas do sulco intraparietal.

Como sugerido pelos estudos anteriores (Savage et al., 2001; Miotto), o aumento do uso dirigido da estratégia de organização semântica provavelmente induziu os participantes a monitorar e manipular a informação para que palavras relacionadas fossem agrupadas, com o objetivo final de serem evocadas de forma estruturada. Habilidades de monitoramento e manipulação concomitantes da informação são consideradas subjacentes ao funcionamento do sistema de memória de trabalho (Baddeley e Hitch, 1974). Evidências sobre os mecanismos neurais dos processos de memória de trabalho durante a codificação de palavras são fornecidas por um estudo que mostrou que um aumento linear da ativação em uma porção do CPFDL, no giro frontal médio, foi observado durante a monitorização e manipulação de

incrementos lineares no número de palavras apresentadas. Um aumento linear da ativação no córtex parietal posterior (i.e. sulco intraparietal), no entanto, foi observado somente durante a manipulação das informações na memória de trabalho (Champod e Petrides, 2010).

O maior recrutamento de regiões da rede frontoparietal em resposta ao maior uso de estratégias durante a codificação de palavras foi recentemente reportado em indivíduos com CCL por um estudo que avaliou os efeitos de um protocolo de treino de memória (Belleville et al., 2011). O aumento da ativação em regiões frontais, temporais e parietais após o treino foi interpretado pelos autores como modificações decorrentes de mecanismos de plasticidade neural preservados no CCL.

Um aumento da ativação após o aprendizado de uma nova estratégia para executar o paradigma é frequentemente interpretado por muitos estudos de RMf como uma evidência indireta de recrutamento neural adicional (Poldrack, 2000; ref). Neste contexto, o aumento da ativação das regiões da rede frontoparietal no nosso estudo pode indicar uma reorganização funcional da ativação cerebral, assim como em estudos prévios (Bor and Owen, 2007; Kelly and Garavan, 2005). Entretanto, outros trabalhos demonstraram que a aplicação mais eficiente de estratégias previamente adquiridas, induzida pela prática repetitiva, em especial de estratégias com componentes de memória de trabalho, também foi acompanhada de um aumento da ativação em regiões frontoparietais, mesmo quando as demandas cognitivas da tarefa foram diminuídas (Bor and Owen, 2007; Wendelken et al., 2008).

Quando consideradas em conjunto, estas informações sugerem que os mecanismos cognitivos associados ao aumento do uso da estratégia de

aprendizagem verbal em paralelo com o aumento da ativação em regiões frontoparietais observados no presente estudo podem refletir uma combinação dos efeitos da aplicação mais eficaz da estratégia, particularmente nos idosos cognitivamente saudáveis, e do engajamento de uma nova habilidade, especialmente no CCL.

6.3.3 Diferentes padrões de mudança da atividade cerebral entre o grupo CCL e o grupo controle durante a codificação em resposta ao uso dirigido da estratégia

A hipótese inicialmente levantada de que o grupo CCL apresentaria maior ativação que o grupo controle em regiões do CPFDL e córtex parietal posterior não foi confirmada. Entretanto, o aumento do uso da estratégia e do desempenho da evocação da memória foi representado por diferentes padrões de mudança na ativação entre as sessões de codificação no CPFM e no giro frontal superior direito.

Uma vez que o número de palavras evocadas em cada sessão, por cada sujeito, foi incluído como covariável para verificação de diferenças entre grupos, os resultados parecem não refletir somente a influência de diferenças de desempenho na tarefa entre os grupos. Além disto, o paradigma utilizado no presente estudo considerou uma abordagem previamente proposta para estudos de RMf em pacientes (cf. Price and Friston, 1999). Uma tarefa simples e familiar foi utilizada, já que testes de aprendizagem de listas de palavras são frequentemente utilizados na prática clínica para diferenciar indivíduos normais e CCL. Além de exequível pelos pacientes com CCL, a tarefa foi ao mesmo tempo sensível para examinar o componente cognitivo de interesse do

presente estudo (i.e. mudanças no processamento estratégico da memória episódica), uma vez que os índices de agrupamento estratégico não diferiram entre os grupos.

Enquanto o grupo controle claramente suprimiu a ativação no CPFM e no giro frontal superior durante a codificação dirigida para o uso da estratégia de aprendizagem verbal, o grupo MCI exibiu um padrão de menor deativação destas regiões. Um resultado semelhante a este foi reportado pelo estudo de Belleville et al. (2011) no grupo de idosos controle após o treino de memória, porém a comparação com grupo CCL não foi realizada.

Uma possível interpretação para este diferente padrão de resultados entre os grupos é fornecida por estudos que implicam o cíngulo anterior em tarefas de controle inibitório e o córtex pré-frontal direito com tarefas de monitorização de erros (Garavan et al., 1999; Konishi et al., 1999). Quando o desempenho em uma tarefa se torna mais eficaz após a prática ou o aprendizado, as demandas de controle executivo diminuem (Jonides et al., 2004), e esta diminuição de controle executivo pode estar associada com a diminuição da ativação nestas regiões (Poldrack, 2000).

No presente estudo, uma maior redução da ativação em um cluster localizado no CFO, estendendo-se para o cíngulo anterior e CPFM foi fortemente explicada por maiores ganhos no uso da estratégia no grupo de idosos cognitivamente saudáveis, o que poderia representar um aumento da automaticidade em realizar a tarefa. Nos pacientes com CCL, entretanto, o aumento no uso da estratégia predisse apenas uma pequena parte do aumento da ativação nesta região, o que sugere que outros mecanismos estejam envolvidos nas diferenças de processamento estratégico neste grupo.

O CPFM e porções dorsais do giro frontal superior bilateral, juntamente com o córtex do cíngulo posterior e pré-cuneo, e o lóbulo parietal inferior, são regiões frequentemente reportadas como parte da DMN. Embora a DMN tenha sido inicialmente proposta com base em experimentos de RMF e PET que comparam condições ativas a condições de repouso, (Raichle, 2001), estudos recentes descreveram que a ativação das regiões da DMN, incluindo o CPFM, foi maior durante o desempenho de tarefas relativamente fáceis em comparação à tarefas difíceis (Leech et al., 2011). Outros achados ainda indicam que a supressão da ativação das regiões da DMN durante a realização de tarefas de memória de trabalho foi preditiva de melhor desempenho comportamental (Anticevic et al., 2010). No presente estudo, pressupõe-se que a orientação dirigida para o uso da estratégia tenha imposto maior demanda de memória de trabalho, e supressão das regiões da DMN nos controles, mas não nos sujeitos com CCL. Alterações nos mecanismos de deativação da DMN durante a realização de tarefas de memória de trabalho foram recentemente reportados em um estudo que examinou pacientes com CCL (Papma et al., 2013), e por estudos prévios em pacientes com DA e DA pré-clínica (Bucker et al., 2003; Pihlajamaki and Sperling, 2009).

Os mecanismos envolvidos na supressão da DMN ainda não são conhecidos. A interpretação mais frequentemente utilizada na literatura sugere que o recrutamento da DMN possa refletir a ocorrência de processos cognitivos espontâneos guiados internamente, como a recuperação da memória autobiográfica, durante condições basais de funcionamento do cérebro (Buckner et al., 2008). Recentemente, uma interpretação funcional para a deativação da DMN foi proposta (Binder et al., 2012). De acordo com esta

hipótese, a supressão da DMN durante a realização de tarefas cognitivas externamente guiadas atuaria como um filtro atencional, e seria necessária para inibir a influência de processos cognitivos irrelevantes.

Neste contexto, o padrão de resultado apresentado pelo grupo CCL poderia indicar menor eficiência em processar estímulos distratores. A favor desta hipótese, os resultados da avaliação neuropsicológica mostraram que os pacientes com CCL apresentaram prejuízos em testes de atenção e controle inibitório, o que também foi observado em amostras de CCLa examinadas por outros estudos (Brandt et al. 2009; Nordahl et al. 2005; Belleville et al. 2007; Zheng et al., 2012).

Os achados do presente estudo devem ser interpretados considerando-se algumas importantes limitações. O diagnóstico de CCL foi estabelecido de forma transversal, sem a presença de indicadores importantes para a caracterização de quadros associados à DA, como perda progressiva da memória episódica. Desta forma, não foi possível excluir a possibilidade de que o grupo CCL fosse formado por pacientes com diferentes graus de severidade do déficit cognitivo. Além disto, não foi possível confirmar se os pacientes com CCL progrediram ou progredirão para a DA.

Em relação aos resultados da RMf, uma limitação não só deste, mas de vários estudos prévios que examinaram a ativação cerebral durante a realização de tarefas em indivíduos idosos, é a dificuldade em se afirmar que as diferenças encontradas estão relacionadas à diferenças de processamento cognitivo e não à características clínicas e demográficas que interferem no acoplamento neurovascular, como a idade e o risco de doenças vasculares (Buckner et al., 2000; D'Esposito et al., 2003).

Em resumo, este trabalho investigou um aspecto do funcionamento da memória no CCL não contemplado pelos estudos prévios, que consistiu na avaliação de processos estratégicos durante a realização a codificação da memória episódica. Ao examinar os padrões de ativação durante a codificação com aumento de demanda estratégica, foi observado que os pacientes com CCL não apresentaram diminuição da ativação em duas regiões associadas ao controle cognitivo, o CPFM e o giro frontal superior direito. É possível que este padrão de resultado represente uma falha de supressão das regiões da DMN, e que este mecanismo possa contribuir para o prejuízo no desempenho cognitivo no CCL. Entretanto, futuros estudos são necessários para esclarecer se o funcionamento da DMN tem um papel específico nos distúrbios de memória associados ao envelhecimento.

7 CONCLUSÃO

1. Indivíduos com CCL apresentaram desempenho inferior aos controles saudáveis na evocação das informações codificadas espontaneamente, o que foi minimizado pelo uso dirigido da estratégia de aprendizagem verbal.
2. Um aumento da ativação de regiões cerebrais da rede frontoparietal, como em porções do córtex pré-frontal dorsolateral e do córtex parietal posterior, ao longo das bordas do sulco intraparietal, foi observado em pacientes com CCL e idosos cognitivamente saudáveis, durante a codificação de palavras com a aplicação dirigida da estratégia em relação à codificação espontânea.
3. Foi observada menor deativação nos participantes com CCL em regiões de controle cognitivo, como o córtex do cíngulo anterior e córtex pré-frontal medial, em comparação com os controles, na condição de codificação direcionada para o uso da estratégia em relação à condição espontânea.
4. O aumento do uso da estratégia de aprendizado foi correlacionado a com uma diminuição da ativação nos controles e aumento da ativação no CCL no córtex frontal orbital após o uso da estratégia de aprendizado verbal no regiões.

8 ANEXOS

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 06/05/2009, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0349/09**, intitulado: **"ANÁLISE DO CORRELATO NEURAL ASSOCIADO AOS EFEITOS DO TREINAMENTO COGNITIVO SEMÂNTICO SOBRE A MEMÓRIA EPISÓDICA EM PACIENTES COM COMPROMETIMENTO COGNITIVO LEVE POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL ."** apresentado pelo Departamento de **NEUROLOGIA**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: **Eliane Correa Miotto**

Pesquisador (a) Executante: **Joana Bisol Balardin**

CAPPesq, 07 de Maio de 2009

Prof. Dr. Eduardo Massad
Presidente da Comissão de
Ética para Análise de Projetos
de Pesquisa

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº..... APTO:

BAIRRO..... CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :SEXO: M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:

Análise do correlato neural associado aos efeitos do treinamento cognitivo semântico sobre a memória episódica em pacientes com Comprometimento Cognitivo Leve por ressonância magnética funcional.

PESQUISADOR : Eliane Correa Miotto/Joana Bisol Balardin

CARGO/FUNÇÃO: Pesquisador Responsável/Pesquisador Executante

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº: CRP 29757-6/ CRFa 8732/T7R

UNIDADE DO HCFMUSP: Departamento de Neurologia

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO	X	RISCO MÉDIO	☐
RISCO BAIXO	☐	RISCO MAIOR	☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : maio de 2009 a maio de 2012.

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-
HCFMUSP**

As informações contidas neste termo estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que tem por objetivo investigar os efeitos de uma estratégia de treinamento da memória na atividade cerebral de pacientes com Comprometimento Cognitivo Leve. Os meios que vamos utilizar para a realização deste trabalho envolvem a aplicação de questionários e de testes que avaliam sua capacidade de manter a atenção em determinada tarefa, suas habilidades de raciocínio, seu nível de compreensão e sua capacidade de memorização. Além disso, se participar da pesquisa, você será submetido a exames de ressonância magnética que terão como objetivo verificar o funcionamento do seu cérebro durante a realização de tarefas de memória.

Os exames e testes aos quais você será submetido não deverão ocasionar riscos à sua saúde. A qualquer momento, fica assegurada a sua liberdade para abandonar a pesquisa em qualquer etapa do seu desenvolvimento, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento no HCFMUSP. O exame de ressonância magnética é indolor, e será realizado dentro de um túnel estreito, com pouca luminosidade. Durante o exame você ouvirá um barulho parecido com batidas em intervalos regulares, o que significará que o seu cérebro estará sendo fotografado. O exame terá duração de aproximadamente 1 (uma) hora.

Somente ao final do estudo você terá a oportunidade de conhecer sua condição com relação ao funcionamento da memória. Da mesma forma, por tratar-se de um estudo experimental, apenas após o término da pesquisa poderemos concluir a presença de algum benefício do treinamento cognitivo sobre a memória dos participantes. As informações obtidas serão analisadas em conjunto com as de outros pacientes. É assegurada a privacidade de todas as informações que serão colhidas dos participantes, e os mesmos serão mencionados na pesquisa de forma anônima. Nos comprometemos a utilizar as informações obtidas pelas entrevistas, consultas e exames somente para esta pesquisa.

Em qualquer etapa do trabalho você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. Os principais investigadores são a Dra. Eliane Correa Miotto e o Dr. Milberto Scaff, que podem ser encontrados no endereço Av Dr Enéas de Carvalho Aguiar, 155, Térreo 3, Cerqueira César, Telefone 3069-6188. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br.

Você não terá despesas pessoais em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "Análise do correlato neural associado aos efeitos do treinamento cognitivo semântico sobre a memória episódica em pacientes com Comprometimento Cognitivo Leve por ressonância magnética funcional". Eu discuti com a Dra. Eliane Miotto e com a Fga. Joana Balardin, executante deste projeto, sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal

Data ____/____/____

Assinatura da testemunha

Data ____/____/____

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data ____/____/____

Tabela 1. Descrição das áreas de maior ativação para o contraste SR > fixação no grupo de idosos controles.

Região	Lado	Tamanho	Coordenadas no MNI			Valor Z
Pré-treino			X	Y	Z	
Cluster giro fusiforme		2379				
Giro fusiforme (BA 18)	E		-30	-94	-14	7.84
Giro fusiforme (BA 37)	E		-44	-52	-18	
Cluster occipital		641				
Giro occipital inferior (BA 18)	D		28	-96	-8	6.19
Cerebelo	D		38	-68	-24	3.38
Cluster temporal/ínsula/putâmen		928				
Giro temporal médio (BA 21)	D		56	-28	-2	3.97
Ínsula	D		40	-16	8	3.83
Giro temporal superior (BA 22)	D		55	-22	6	3.82
Putâmen	D		30	-12	10	3.53
Pós-treino						
Cluster frontal posterior esquerdo		4863				
Giro pré-central (BA 6)	E		-50	-6	44	5.55
Giro frontal inferior (BA 45)	E		-42	14	22	4.43
Cerebelo	E	3807	-48	-68	-24	5.01
Cluster occipital/cerebelo		3728				
Cúneo (BA 17)	D		28	-90	-16	5.12
Cerebelo	D		22	-68	30	4.88
Giro fusiforme (BA 37)	D		42	-76	-14	4.7
Cluster parietal esquerdo		1902				
Sulco intraparietal (BA 39)	E		-26	-70	28	4.86
Pré-cúneo	E		-30	-66	44	4.19
Lóbulo parietal superior (BA 7)	E		-24	-60	52	3.76
Cluster frontal medial/cíngulo anterior bilateral		1542				
Giro frontal superior (BA 6)	E		-2	2	58	4.92
Giro frontal superior (BA 6)	D		2	40	50	4.64
Cíngulo anterior (BA 32)	D		4	18	42	4.35
Cíngulo anterior (BA 24)	E		-6	20	36	4.34

Figura 6 Mapas de ativação para o contraste SR>fixação no grupo de idosos controles na aquisição pré-treino. Clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$.

Figure 7 Mapas de ativação para o contraste SR>fixação no grupo de idosos controles na aquisição pós-treino. Clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$.

Tabela 2. Descrição das áreas de maior ativação para o contraste NR > fixação no grupo de idosos controles.

Região	Lado	Tamanho	Coordenadas no MNI			Valor Z
Pré-treino			X	Y	Z	
Cluster frontal posterior		3808				
Giro pré-central (BA 6)	E		-50	2	42	4.96
Giro frontal inferior (BA 44)	E		-44	10	28	4.92
Cluster occipital/cerebelo esquerdo		3091				
Cerebelo	E		-44	-78	-20	4.76
Giro fusiforme (BA 37)	E		-48	-58	-24	4.56
Cluster occipital		2333				
Giro occipital inferior (BA 19)	D		28	-90	-16	4.89
Giro occipital inferior (BA 19)	D		42	-86	-12	4.58
Giro fusiforme (BA 37)	D		42	-78	-12	4.46
Cerebelo	D		26	-70	-30	4.26
Cluster parietal		966				
Sulco intra-parietal	E		-30	-64	42	4.55
Giro angular (BA 39)	E		-34	-58	40	3.95
Lóbulo parietal superior	E		-34	-70	52	3.27
Cluster frontal medial/cíngulo anterior		915				
Giro frontal superior (BA 6)	E		-2	6	50	4.87
Cíngulo anterior (BA 32)	E		-4	24	38	4.26
Giro frontal superior (BA 6)	E		-2	-6	58	3.79
Cíngulo anterior (BA 32)	D		8	20	42	3.09
Pós-treino						
Cluster giro fusiforme/cerebelo		1464				
Giro fusiforme (BA 37)	E		-46	-54	-20	6.43
Giro fusiforme (BA 18)	E		-26	-98	-12	5.99
Cerebelo	E		-38	-78	20	4.12
Cluster fronto-parietal		998				
Giro pós-central (BA 3)	E		-52	-16	42	5.09
Lóbulo parietal inferior (BA 40)	E		-48	-28	56	4.42
Giro pré-central (BA 4)	E		-50	-8	44	4.17

Figure 8 Mapas estatísticos com as áreas que apresentaram modificação do sinal para o contraste NR>fixação no grupo de idosos controles na aquisição pré-treino. Clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$.

Figure 9 Mapas estatísticos com as áreas que apresentaram modificação do sinal para o contraste NR>fixação no grupo de idosos controles na aquisição pós-treino. Clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$.

Tabela 3. Descrição das áreas de maior ativação para o contraste SR > fixação no grupo de pacientes com CCL.

Região	Lado	Tamanho	Coordenadas no MNI			Valor Z
Pré-treino			X	Y	Z	
Cluster occipital esquerdo		2995				
Giro occipital inferior (BA 18)	E		-28	-96	-2	5.11
Giro lingual (BA 17)	E		-18	-102	-4	3.85
Cluster occipital direito		2391				
Giro lingual (BA 18)	D		26	-100	-10	4.42
Giro lingual	D		16	-98	-10	3.89
Giro occipital inferior (BA 18)	D		30	-98	-8	
Cluster frontal lateral inferior		1228				
Giro pré-central (BA 6)	E		-44	-4	32	5.59
Giro frontal inferior (BA 44)	E		-44	12	20	4.01
Cluster subcortical		581				
Amígdala	E		-30	-10	-14	3.56
Cápsula interna	E		-20	-14	14	3.47
Putâmen	E		-28	-10	-8	3.09
Cerebelo	D	484	10	-72	-52	3.83
Pós-treino						
Cerebelo	D	16219	-40	-80	-22	5.47
Cluster frontal ventrolateral		1109				
Giro frontal inferior (BA 45)	E		-44	12	22	5.01
Giro frontal inferior (BA 45)	E		-46	32	4	4.92
Cluster frontal superior		1032				
Giro frontal superior (BA 4)	E		-2	16	44	3.99
Giro frontal superior (BA 4)	E		0	4	50	3.78
Giro frontal superior (BA 6)	D		4	20	46	
Cluster frontal posterior		959				
Giro pré-central (BA 6)	D		58	0	28	3.59
Giro pré-central (BA 6)	D		54	-4	42	3.43
Giro pré-central (BA 6)	D		42	-2	30	3.4

Figure 10 Mapas estatísticos com as áreas que apresentaram modificação do sinal para o contraste SR>fixação no grupo de pacientes com CCL na aquisição pré-treino. Clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$.

Figure 11 Mapas estatísticos com as áreas que apresentaram modificação do sinal para o contraste SR>fixação no grupo de pacientes com CCL na aquisição pós-treino. Clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$.

Tabela 4. Descrição das áreas de maior ativação para o contraste NR > fixação no grupo de pacientes com CCL.

Região	Lado	Tamanho	Coordenadas no MNI			Valor Z
Pré-treino			X	Y	Z	
Cluster temporo-insular		2978				
Tronco temporal	E		-30	-26	-4	4.1
Giro temporal médio (BA 22)	D		56	-36	-4	3.78
Giro temporal médio (BA 21)	E		44	-38	4	3.56
Insula	E		-30	-24	20	3.68
Cluster occipital esquerdo		2350				
Giro lingual (BA 17)	E		-22	-96	-4	4.35
Giro occipital inferior (BA 18)	E		-28	-96	-4	4.33
Cluster occipital direito/cerebelo		1980				
Giro lingual (BA 18)	D		18	-100	12	4.37
Cerebelo	D		42	-82	-32	3.67
Cluster frontal posterior		845				
Giro pré-central (BA 4)	E		-54	-4	28	3.59
Giro pré-central (BA 4)	E		-42	-16	34	2.96
Giro frontal inferior (BA 44)	E		-44	18	20	2.91
Pós-treino						
Cluster parieto-occipital/cerebelo		9023				
Pré-cúneo (BA 19)	E		-30	-74	46	5.18
Giro fusiforme (BA 37)	E		-50	-60	-18	4.93
Giro occipital inferior (BA 18)	D		26	-96	-6	4.72
Cerebelo	E		-40	-66	-18	4.71
Cluster frontal posterior		6143				
Giro frontal inferior (BA 44)	E		-44	12	22	5.21
Giro frontal inferior (BA 45)	E		-44	30	6	4.32
Giro pré-central (BA 6)	E		-54	-4	42	5.05
Giro frontal médio (BA 44)	E		-48	10	40	4.6
Cluster frontal medial bilateral		1144				
Giro frontal superior (BA 6)	E		-2	14	46	4.55
Giro frontal superior (BA 6)	D		4	16	48	3.67
Giro frontal superior (BA 6)	E		-4	-8	68	3.49

Figure 12 Mapas estatísticos com as áreas que apresentaram modificação do sinal para o contraste NR>fixação no grupo de pacientes com CCL na aquisição pré-treino. Clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$.

Figure 13 Mapas estatísticos com as áreas que apresentaram modificação do sinal para o contraste NR>fixação no grupo de pacientes com CCL na aquisição pós-treino. Clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$.

Tabela 5. Mudanças de ativação cerebral na codificação de palavras semanticamente relacionadas (SR) associadas ao treino no grupo de idosos controles.

Região	Lado	Tamanho	Coordenadas no MNI			Valor Z
<i>Pré > Pós</i>			x	y	z	
Cluster parietal medial superior/cíngulo posterior		1894				
Cíngulo posterior (BA 30)	E		-16	-66	12	3.97
Cíngulo posterior (BA 31)	E		-8	-46	46	3.94
Cíngulo posterior (BA 31)	D		14	-40	28	3.57
Pré-cúneo (BA 7)	E		0	-54	46	3.83
Cluster frontal medial inferior/cíngulo anterior		1710				
Giro frontal superior (BA 10)	D		12	54	-4	4.37
Cíngulo anterior (BA 24)	D		0	36	8	3.77
Giro frontal superior (BA 10)	D		12	68	16	3.53
Cluster temporo-parietal		896				
Lóbulo parietal inferior (BA 39)	D		50	-48	24	4.16
Giro supramarginal (BA 40)	D		60	-50	30	3.69
Giro temporal médio (BA 21)	D		52	-56	6	3.34
Giro temporal superior (BA 22)	D		52	-44	10	3.26
Cluster temporal superior		619				
Giro temporal médio (BA 21)	D		64	-6	-16	3.74
Giro temporal superior (BA 22)	D		56	-26	8	3.72
Cluster DLPFC		528				
Giro frontal superior (BA 9)	D		24	40	46	3.77
Giro frontal superior (BA 9)	D		26	46	38	3.67
Giro frontal superior (BA 46)	D		26	46	30	3.35
Cluster órbito-frontal		421				
Giro orbital medial (BA11)	D		18	16	-22	3.5
Giro reto (BA 11)	E		-6	6	-22	3.1
<i>Pós > Pré</i>						
Cluster frontal lateral		2131				
Sulco frontal inferior (BA 44)	E		-42	10	32	4.6
Sulco frontal inferior (BA 45)	E		-46	24	24	4.25
Giro frontal médio (BA 6)	E		-36	0	54	4.04
Giro pré-central (BA 6)	E		-42	0	32	4.17
Cluster parietal		1021				

Sulco intraparietal (BA 7)	E		-24	-70	48	4.27
Giro angular (BA 39)	E		-34	-58	40	3.58
Cluster frontal medial/cíngulo anterior		977				
Giro frontal superior (BA 6)	E		-6	2	58	4.66
Giro frontal superior (BA 8)	E		0	14	46	3.99
Giro do cíngulo (BA 32)	D		6	20	36	3.86
Cerebelo	E	545	-40	-76	-26	4.27

Figure 14 Mapas estatísticos com as áreas de significativa modificação na ativação cerebral na comparação espontanea>dirigida no contraste SR>fixação no grupo CCL. Clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$.

Figure 15 Mapas estatísticos com as áreas de significativa modificação na ativação cerebral na comparação dirigida>espontanea no contraste SR>fixação no grupo CCL. Clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$

Tabela 6. Mudanças de ativação cerebral na codificação de palavras não relacionadas semanticamente (NR) associadas ao treino no grupo de idosos controles.

Região	Lado	Tamanho	Coordenadas MNI			Z
			x	y	z	
Pré > Pós						
Cluster órbito-frontal/cíngulo anterior		2005				
Giro frontal superior (BA 10)	D		14	54	-8	4.1
Giro frontal orbital medial (BA 11)	D		20	54	-8	3.64
Giro frontal superior (BA 10)	D		10	60	8	3.93
Cíngulo anterior (BA 32)	D		4	38	-10	3.79
Cluster occipital/cíngulo posterior		800				
Giro lingual (BA 19)	E		-10	-56	0	
Giro lingual (BA 19)	D		10	-72	0	
Cíngulo posterior (BA 23)	E		-16	-64	14	
Cúneo	E		-14	-84	20	
Cluster parietal superior/cíngulo posterior		682				
Pré-cúneo (BA 7)	E		-2	-48	44	4.1
Pré-cúneo (BA 7)	D		6	-54	44	4.42
Giro do cíngulo (BA 31)	D		8	-40	44	4.09
Pós > Pré						
Cluster frontal lateral		2273				
Giro frontal inferior (BA 44)	E		-46	10	32	3.91
Giro frontal inferior (BA 45)	E		-54	14	16	3.89
Giro pré-central (BA 6)	E		-38	0	30	3.81
Sulco frontal inferior (BA 44)	E		-42	18	24	3.74
Cluster parietal esquerdo		1574				
Giro angular (BA 39)	E		-34	-56	38	4.66
Pré-cúneo (BA 7)	E		-28	-66	42	4.34
Lóbulo parietal inferior	E		-50	-38	32	3.69
Cluster parietal direito		993				
Pré-cúneo (BA 7)	D		30	-58	38	3.87
Lóbulo parietal inferior	D		48	-46	50	3.35
Pré-cúneo (BA 19)	D		32	-70	44	3.21
Cerebelo	D	993	36	-58	18	3.52
Cerebelo	E	691	-42	-78	-26	3.64
Cluster frontal medial		620				
Giro frontal superior (BA 6)	E		-4	4	60	4.08

Giro do cíngulo (BA 32)	D	4	26	38	3.17
Giro frontal superior (BA 8)	D	6	26	46	3.15

Figure 16 Mapas estatísticos com as áreas de significativa modificação no sinal BOLD para o contraste préNR>pósNR nos idosos controles. Clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$.

Mapas estatísticos com as áreas de significativa modificação no sinal BOLD para o contraste pósNR>préNR nos idosos controles. Clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0.05$.

Tabela 7. Mudanças de ativação cerebral na codificação de palavras semanticamente relacionadas (SR) associadas ao treino no grupo de pacientes com CCL.

Região	Lado	Tamanho	Coordenadas no MNI			Z
			x	y	z	
Pré > Pós						
Cluster occipital		710				
Giro lingual (BA 18)	E		-2	-100	-4	3.65
Cúneo (BA 17)	E		-6	-98	8	3.6
Cúneo (BA 17)	D		6	-92	26	3.38
Pós > Pré						
Cluster DLPFC		1416				
Giro frontal médio (BA 9)	E		-42	8	50	3.95
Giro frontal médio (BA 46)	E		-44	44	12	3.82
Giro frontal inferior (BA 47)	E		-46	38	6	3.44
Giro frontal inferior (BA 47)	E		-52	18	0	3.71
Cluster temporo-parietal esquerdo		1003				
Sulco intraparietal superior	E		-28	-62	32	4.56
Giro angular (BA 39)	E		-34	-70	38	4.45
Giro temporal superior (BA 22)	E		-42	-50	22	3.27
Cluster temporo-parietal direito		654				
Giro supramarginal (BA 40)	D		42	-52	32	3.51
Giro temporal médio (BA 39)	D		40	-62	32	3.48
Pré-cúneo (BA 7)	D		32	-62	42	3.44

Figure 17 Mapas estatísticos com as áreas de significativa modificação na ativação cerebral na comparação espontanea>dirigida no contraste SR>fixação no grupo CCL. Clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$.

Figure 18 Mapas estatísticos com as áreas de significativa modificação na ativação cerebral na comparação dirigida>espontanea no contraste SR>fixação no grupo CCL. Clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$.

Tabela 8. Mudanças de ativação cerebral na codificação de palavras não-relacionadas semanticamente (NR) associadas ao treino no grupo de pacientes com CCL.

Região	Lado	Tamanho	Coordenadas MNI			Z
			x	y	z	
Pré > Pós						
Cluster temporo-parietal		383				
Giro temporal superior (BA 22)	D		58	-46	22	3.21
Giro temporal médio (BA 21)	D		60	-60	8	3.13
Lóbulo parietal inferior	D		66	-40	28	3.1
Pós > Pré						
Cluster frontal lateral		1201				
Giro frontal médio (BA 6)	E		-28	-2	54	3.43
Giro frontal inferior (BA 44)	E		-46	12	26	3.4
Giro pré-central (BA 6)	E		-36	-4	56	3.36
Pré-cúneo (BA 19)	E	835	-26	-72	44	3.59
Pré-cúneo (BA 19)	D	423	30	-58	42	
Cluster frontal medial		347				
Giro frontal superior (BA 6)	D		4	20	46	3.69
Giro frontal superior (BA 6)	E		-2	12	46	3.58
Giro frontal superior (BA 8)	E		-6	28	48	3.16

Figure 19 Mapas estatísticos com as áreas de significativa modificação no sinal BOLD para o contraste préNR>pósNR nos pacientes com CCL. Clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$.

Figure 20 Mapas estatísticos com as áreas de significativa modificação no sinal BOLD para o contraste pósNR>préNR nos pacientes com CCL. Clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$.

Figure 21 Mapas estatísticos com as áreas de significativa interação grupo x tempo durante a codificação de palavras semanticamente relacionadas (SR). Clusters constituídos por voxels com valores de $Z > 2.3$, corrigidos para comparações múltiplas $p < 0,05$.

9 REFERÊNCIAS

Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman HH, Fox NC, Gamst A, Holtzman DM, Jagust WJ, Petersen RC, Snyder PJ, Carrillo MC, Thies B, Phelps CH. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2011 May;7(3):270-9. Epub 2011 Apr 21.

Almeida OP, Almeida SA. Short versions of the geriatric depression scale: a study of their validity for the diagnosis of a major depressive episode according to ICD-10 and DSM-IV. *Int J Geriatr Psychiatry*. 1999 Oct;14(10):858-65.

Amieva H, Rouch-Leroyer I, Fabrigoule C, Dartigues J.-F. Deterioration of controlled processes in the preclinical phase of dementia: A confirmatory analysis. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*. 2000;11:46–52.

Apostolova LG, Dutton RA, Dinov ID, et al. Conversion of mild cognitive impairment to Alzheimer disease predicted by hippocampal atrophy maps. *Arch Neurol* 2006;63:693-9. [Erratum, *Arch Neurol* 2007;64:1360-1.]

Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP). 2008. Disponível em <http://www.abep.org>

Baddeley A. Working memory: looking back and looking forward. *Nat Rev Neurosci*. 2003. 4(10):829-39.

Badre D, Wagner AD. 2004. Selection, integration, and conflict monitoring; assessing the nature and generality of prefrontal cognitive control mechanisms. *Neuron* 41:473--487

Ball K, Berch DB, Helmers KF, et al: Effects of cognitive training interventions with older adults: a randomized controlled trial. *JAMA* 2002; 288:2271–2281

Bandettini, P. A., Wong, E. C., Hinks, R. S., Tikofsky, R. S., e Hyde, J. S. Time course EPI of human brain function during task activation. *Magnetic Resonance in Medicine*, 25:390–397, 1992.

Blumenfeld RS, Ranganath C. Dorsolateral prefrontal cortex promotes long-term memory formation through its role in working memory organization. *J Neurosci*. 2006 Jan 18;26(3):916-25.

Botvinick, M. M., Cohen, J. D., & Carter, C. S. (2004). Conflict monitoring and anterior cingulate cortex: An update. *Trends in Cognitive Sciences*, 8,

539-546.

Boynton GM, Engel SA, Glover GH et al. (1996) Linear systems analysis of functional magnetic resonance imaging in human V1. *J Neurosci* 16: 4207–21

Brand M, Markowitsch H. The role of the prefrontal cortex in episodic memory. In: Dere et al. *Handbook of Episodic Memory*. Ed. Elsevier. 2008.

Buckner RL, Logan J, Donaldson DI, Wheeler ME. Cognitive neuroscience of episodic memory encoding. *Acta Psychol (Amst)*. 2000 Dec;105(2-3):127-39.

Buckner, R. L., & Koutstaal, W. (1998). Functional neuroimaging studies of encoding, priming, and explicit memory retrieval. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95, 891–898.

Buckner, R. L., Koutstaal, W., Schacter, D. L., Dale, A. M., Rotte, M., & Rosen, B. R. (1998). Functional-anatomic study of episodic retrieval: II. Selective averaging

Burns A, Iliffe S. Alzheimer's disease. *BMJ*. 2009 Feb 5;338:b158.

Busse A, Hensel A, Guhne U, Angermeyer MC, Riedel-Heller SG. Mild cognitive impairment: Longterm course of four clinical subtypes. *Neurology* 2006;67(12):2176–2185.

Buxton, R.B. and Frank, L.R. (1997). A model for the coupling between cerebral blood flow and oxygen metabolism during neural stimulation. *J Cereb Blood Flow Metab*, 17(1):64–72.

Cabeza R, Dolcos F, Graham R, Nyberg L. Similarities and differences in the neural correlates of episodic memory retrieval and working memory. *Neuroimage*. 2002 Jun;16(2):317-30.

Chételat G, Desgranges B, de la Sayette V, Viader F, Eustache F, Baron JC. Mild cognitive impairment: can FDG-PET predict who is to rapidly convert to Alzheimer's disease? *Neurology* 2003;60:1374-7.

Clare L, Woods RT: Cognitive rehabilitation and cognitive training for early-stage Alzheimer's disease and vascular dementia. *Cochrane Database Syst Rev* 2003:CD003260

Collie A, Maruff P. The neuropsychology of preclinical Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurosci Biobehav Rev*. 2000 May;24(3):365-74.

Crook TH, Feher EP, Larabee GJ. Assessment of memory complaint in age-associated memory impairment: the MAC-Q. *International Psychogeriatric* 1992;4:165-175.

D'Esposito M, Deouell LY, Gazzaley A. Alterations in the BOLD fMRI signal with ageing and disease: a challenge for neuroimaging. *Nat Rev Neurosci.* 2003 Nov;4(11):863-72.

Delis D, Kramer JH, Freeland J, Kaplan E. Integrating Clinical Assessment With Cognitive Neuroscience: Construct Validation of California Verbal Learning Test. *J Consult Clin Psychol* 1988; 56(1):123–130.

Devanand DP, Pelton GH, Zamora D, Liu X, Tabert MH, Goodkind M, et al. Predictive utility of apolipoprotein E genotype for Alzheimer disease in outpatients with mild cognitive impairment. *Archives of Neurology.* 2005; 62: 975–980.

Dickerson BC, Salat DH, Greve DN, Chua EF, Rand-Giovannetti E, Rentz DM, Bertram L, Mullin

K, Tanzi RE, Blacker D, Albert MS, Sperling RA. Increased hippocampal activation in mild cognitive impairment compared to normal aging and AD. *Neurology* 2005;65:404–411.

Dickerson BC, Sperling RA. Functional abnormalities of the medial temporal lobe memory system in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: insights from functional MRI studies. *Neuropsychologia* 2008;46:1624–1635.

Economou A, Papageorgiou SG, Karageorgiou C, Vassilopoulos D. Nonepisodic memory deficits in amnesic MCI. *Cogn Behav Neurol.* 2007 Jun;20(2):99-106.

Eichenbaum, H., Yonelinas, A.R. and Ranganath, C. (2007) The medial temporal lobe and recognition memory. *Annu. Rev. Neurosci.*, 20: 123–152.

Estévez-González A, Kulisevsky J, Boltes A, Otermín P, García-Sánchez C. Rey verbal learning test is a useful tool for differential diagnosis in the preclinical phase of Alzheimer's disease: comparison with mild cognitive impairment and normal aging. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2003 Nov;18(11):1021-8.

Folstein M, Folstein S, McHugh PR: Mini- Mental State: a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975; 12: 189–198.

Froger C, Taconnat L, Landre L, Beigneux K, Isingrini M. Effects of level of

processing at encoding and types of retrieval task in mild cognitive impairment and normal aging. *J Clin Exp Neuropsychol* 2009; 31: 312–21.

Froger C, Taconnat L, Landre L, Beigneux K, Isingrini M. Effects of level of processing at encoding and types of retrieval task in mild cognitive impairment and normal aging. *J Clin Exp Neuropsychol* 2009; 31: 312–21.

Gainotti G, Ferraccioli M, Vita MG, Marra C. Patterns of neuropsychological impairment in MCI patients with small subcortical infarcts or hippocampal atrophy. *J Int Neuropsychol Soc.* 2008 Jul;14(4):611-9.

Gauthier S, Reisberg B, Zaudig M, Petersen RC, Ritchie K, Broich K, et al. Mild cognitive impairment. *Lancet* 2006; 367: 1262–70.

Goodglass H, Kaplan E. The assessment of aphasia and related disorders. 2 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1987.

Hachinski VC, Iliff LD, Zilkha E, et al. Cerebral blood flow in dementia. *Arch Neurol* 1975;32:632-637.

Hamalainen A, Pihlajamaki M, Tanila H, Hanninen T, Niskanen E, Tervo S, Karjalainen PA, Vanninen RL, Soininen H. Increased fMRI responses during encoding in mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging*. 2006

Henson R, Friston K. Convolution Models for fMRI. In: K.J. Friston, J. Ashburner, S.J. Kiebel, T.E. Nichols, and W.D. Penny, editors. *Statistical Parametric Mapping: The Analysis of Functional Brain Images*. Academic Press, 2007.

Henson R. K.J. Analysis of fmri time series. In: Friston, J. Ashburner, S.J. Kiebel, T.E. Nichols, and W.D. Penny, editors. *Statistical Parametric Mapping: The Analysis of Functional Brain Images*. Academic Press, 2007.

Hudon C, Belleville S, Villeneuve S, Gauthier S. The effect of semantic orientation at encoding on free recall performance in amnesic mild cognitive impairment and probable Alzheimer's disease. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology* in press.

Hudon C, Villeneuve S, Belleville S. The effect of semantic orientation at encoding on free-recall performance in amnesic mild cognitive impairment and probable Alzheimer's disease. *J Clin Exp Neuropsychol*. 2011 May 21:1-8.

Huettel, S. A., Song, A. W., e McCarthy, G. *Functional Magnetic Resonance Imaging*. 2ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA, Estados Unidos, 2008.

Ibáñez V, Deiber MP. Functional imaging in mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease: is it pertinent? *Front Neurol Neurosci*. 2009;24:30-8.

Jack CR Jr, Barkhof F, Bernstein M, et al. Steps to standardization and validation of hippocampal volumetry as a biomarker in clinical trials and diagnostic criteria for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* (in press).

Jack CR Jr, Weigand SD, Shiung MM, et al. Atrophy rates accelerate in amnesic mild cognitive impairment. *Neurology* 2008;70:1740-52.

Jak AJ, Bondi MW, Delano-Wood L, Wierenga C, Corey-Bloom J, Salmon DP, Delis DC. Quantification of five neuropsychological approaches to defining mild cognitive impairment. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2009 May;17(5):368-75.

Johnson SC, Schmitz TW, Moritz CH, Meyerand ME, Rowley HA, Alexander AL, Hansen KW, Gleason CE, Carlsson CM, Ries ML, Asthana S, Chen K, Reiman EM, Alexander GE. Activation of brain regions vulnerable to Alzheimer's disease: the effect of mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging* 2006;27:1604–1612.

Jorm AF, Jacomb PA. The informant questionnaire on cognitive decline in the elderly (IQCODE): Socio-demographic correlates, reliability, validity and some norms. *Psychol Med* 1989;19:1015-1022.

Josephs O, Turner R, Friston KJ (1997) Event-related fMRI. *Hum Brain Mapp* 5: 243–48

Kircher T, Weis S, Freymann K, Erb M, Jessen F, Grodd W, Heun R, Leube DT. Hippocampal activation in MCI patients is necessary for successful memory encoding. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2007

Kirchhoff BA, Anderson BA, Barch DM, Jacoby LL. Cognitive and Neural Effects of Semantic Encoding Strategy Training in Older Adults. *Cereb Cortex*. 2011 Jun 27.

Lezak MD, Howieson DB, Loring DW. *Neuropsychological assessment*. 4th ed. New York: Oxford University Press; 2004.

Lonie JA, Tierney KM, Ebmeier KP. Screening for mild cognitive impairment: a systematic review. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2009 Sep;24(9):902-15.

Lopes, M. A., Hototian, S. R., Reis, G. C., Elkis, H. and Bottino, C. M. C. (2007). Systematic review of dementia prevalence 1994 to 2000. *Dementia and Neuropsychologia*, 1, 230–240.

Machulda MM, Ward HA, Borowski B, Gunter JL, Cha RH, O'Brien PC, Petersen RC, Boeve BF, Knopman D, Tang-Wai DF, Ivnik RJ, Smith GE, Tangalos EG, Jack CR Jr. Comparison of memory fMRI response among normal, MCI, and Alzheimer's patients. *Neurology* 2003;61:500–506.

Malloy-Diniz LF, da Cruz MF, Torres V, Cosenza R. O teste de Aprendizagem Auditivo-Verbal de Rey: normas para uma população brasileira. *Rev Bras Neurol.* 2000;36(3):79-83.

Malloy-Diniz, L.F.M., Cruz, M.F., Torres, V.M., & Cosenza, R.M. (2000). O teste de aprendizagem auditivo-verbal de Rey: normas para uma população Brasileira. *Revista Brasileira de Neurologia*, 36, 79-83.

Markowitsch HJ. Which brain regions are critically involved in the retrieval of old episodic memory? *Brain Res Brain Res Rev.* 1995 Sep;21(2):117-27.

Mattis S. Dementia Rating Scale. Professional manual. Florida: Psychological Assessment Resources; 1988.

Mattsson N, Zetterberg H, Hansson O, Andreasen N, Parnetti L, Jonsson M, Herukka SK, van der Flier WM, Blankenstein MA, Ewers M, Rich K, Kaiser E, Verbeek M, Tsolaki M, Mulugeta E, Rosén E, Aarsland D, Visser PJ, Schröder J, Marcusson J, de Leon M, Hampel H, Scheltens P, Pirttilä T, Wallin A, Jönköping ME, Minthon L, Winblad B, Blennow K. CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *JAMA.* 2009 Jul 22;302(4):385-93.

McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR Jr, Kawas CH, Klunk WE, Koroshetz WJ, Manly JJ, Mayeux R, Mohs RC, Morris JC, Rossor MN, Scheltens P, Carrillo MC, Thies B, Weintraub S, Phelps CH. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2011 May;7(3):263-9.

Menke R, Meinzer M, Kugel H, Deppe M, Baumgärtner A, Schiffbauer H, Thomas M, Kramer K, Lohmann H, Flöel A, Knecht S, Breitenstein C. Imaging short- and long-term training success in chronic aphasia. *BMC Neurosci.* 2009 Sep 22;10:118.

Miller, E.K. and Cohen, J.D. (2001) An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annu. Rev. Neurosci.*, 24: 167–202.

Nitrini R, Lefèvre BH, Mathias SC, et al. Testes neuropsicológicos de aplicação simples para o diagnóstico de demência. *Arq Neuropsiquiatr* 1994;52:457-465

Nitrini, R. et al. (2004). Incidence of dementia in a community-dwelling Brazilian population. *Alzheimer Disease and Associated Disorders*, 18, 241–246.

Pereira FS, Yassuda MS, Oliveira AM, Diniz BS, Radanovic M, Talib LL, Gattaz WF, Forlenza OV. Profiles of functional deficits in mild cognitive impairment and dementia: benefits from objective measurement. *J Int Neuropsychol Soc*. 2010 Mar;16(2):297-305.

Pereira, Fernanda Speggorin. Funções executivas e funcionalidade no envelhecimento normal, comprometimento cognitivo leve e doença de Alzheimer. Tese de Doutorado apresentada ao Departamento de Psiquiatria da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. 2010.

Perri R, Carlesimo GA, Serra L, Caltagirone C. Characterization of memory profile in subjects with amnesic mild cognitive impairment. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*. 2005; 27:1033–1055.

Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol*. 1999;56: 303-308.

Petersen RC, Thomas RG, Grundman M, et al. Vitamin E and donepezil for the treatment of mild cognitive impairment. *N Engl J Med* 2005;352:2379-88.

Petersen RC. Mild cognitive impairment: aging to Alzheimer's disease. Oxford, New York, NY: Oxford University Press, 2003.

Petrella JR, Krishnan S, Slavin MJ, Tran TT, Murty L, Doraiswamy PM. Mild cognitive impairment: evaluation with 4-T functional MR imaging. *Radiology* 2006;240:177–186.

Pihlajamäki M, Jauhiainen AM, Soininen H. Structural and functional MRI in mild cognitive impairment. *Curr Alzheimer Res*. 2009 Apr;6(2):179-85.

Portet F, Ousset PJ, Visser PJ, Frisoni GB, Nobili F, Scheltens P, Vellas B, Touchon J; MCI Working Group of the European Consortium on Alzheimer's Disease (EADC). Mild cognitive impairment (MCI) in medical practice: a critical review of the concept and new diagnostic procedure. Report of the MCI Working Group of the European Consortium on Alzheimer's Disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2006 Jun;77(6):714-8.

Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 2010 Jan 28;362(4):329-44.

Radanovic M.; Mansur L.; Scaff M. Normative data for the brazilian population in the Boston diagnostic aphasia examination: influence of schooling. *Braz. J. Med. Biol. Res.* , v. 37, n. 11, p. 1731-1738, 2004.

Raschetti R, Albanese E, Vanacore N, et al: Cholinesterase inhibitors in mild cognitive impairment: a systematic review of randomised trials. *PLoS Med* 2007; 4:e338.

Samanez-Larkin GR, D'Esposito M. Samanez-Larkin GR, D'Esposito M. Group comparisons: imaging the aging brain.

Schneider, W., Eschman, A. & Zuccolotto, A. (2002). *E-Prime User's Guide*. Pittsburgh: Psychology Software Tools.

Schonknecht P, Pantel J, Kaiser E, Thomann P, Schroder J. Increased tau protein differentiates mild cognitive impairment from geriatric depression and predicts conversion to dementia. *Neuroscience Letters*. 2007: 416, 39–42.

Shergill SS, Brammer MJ, Fukuda R, Williams SC, Murray RM, and McGuire PK. Engagement of brain areas implicated in processing inner speech in people with auditory hallucinations. *British Journal of Psychiatry*, 182: 525–531, 2003.

Spreen, O.E., & Strauss, E.A.A. (1998). *A compendium of neuropsychological tests*. New York: Oxford University Press.

Svoboda, E., McKinnon, M.C. and Levine, B. (2006) The functional neuroanatomy of autobiographical memory: a meta-analysis. *Neuropsychologia*, 44: 2189–2208.

Tulving E. Episodic memory and common sense: how far apart? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2001 Sep 29;356(1413):1505-15.

Twamley EW, Ropacki SA, Bondi MW. Neuropsychological and neuroimaging changes in preclinical Alzheimer's disease. *J Int Neuropsychol Soc*. 2006 Sep;12(5):707-35.

van der Zwaag W, Francis S, Head K, Peters A, Gowland P, Morris P, Bowtell R. fMRI at 1.5, 3 and 7 T: characterising BOLD signal changes. *Neuroimage*. 2009 Oct 1;47(4):1425-34.

Verhaeghen P, Marcoen A, Goossens L: Improving memory performance in the aged through mnemonic training: a meta-analytic study. *Psychol Aging* 1992; 7:242–251

Wechsler D. (1987). Wechsler Memory Scale - Revised. Psychological

Corporation. New York.

Wechsler D. *WAIS III: Administration and Scoring Manual*. San Antonio, TX: Harcourt; 1997.

Willis SL, Tennstedt SL, Marsiske M, et al: Long-term effects of cognitive training on everyday functional outcomes in older adults. *JAMA* 2006; 296:2805–2814

Worsley, 2001 K.J. Worsley, Statistical analysis of activation images. In: P. Jezzard, P.M. Matthews and S.M. Smith, Editors, *Functional MRI: An Introduction to Methods*, Oxford University Press, NY (2001), pp. 251–270.

Yassuda MS, Lasca VB, Neri AL. (2005). Meta-memória e auto-eficácia: um estudo de validação de instrumentos de pesquisa sobre memória e envelhecimento. *Psicol. Reflex. Crit.*, 18,1, 78-90.

Yassuda MS, Nunes PV. Innovative psychosocial approaches in old age psychiatry. *Curr Opin Psychiatry*. 2009 Nov;22(6):527-31.

Yesavage JA, Brink TL, Rose TL et al. Development and validation of a geriatric depression screening scale: a preliminary report. *J Psychiat Res* 1983;17:37-49.

Yoshiura T, Hiwatashi A, Yamashita K, Ohyagi Y, Monji A, Takayama Y, Kamano N, Kawashima T, Kira J, Honda H. Deterioration of abstract reasoning ability in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: correlation with regional grey matter volume loss revealed by diffeomorphic anatomical registration through exponentiated lie algebra analysis. *Eur Radiol*. 2011 Feb;21(2):419-25.

Zhou A, Jia J. Different cognitive profiles between mild cognitive impairment due to cerebral small vessel disease and mild cognitive impairment of Alzheimer's disease origin. *J Int Neuropsychol Soc*. 2009 Nov;15(6):898-905.

Zuardi AW and Karniol IG (1981) Transcultural evaluation of a self-evaluation scale of subjective states. *J Bras Psiquiatr* 131:403–406.