JAQUELINE HATSUKO TAMASHIRO-DURAN

**Alterações metabólicas cerebrais associadas aos fatores de
risco cardiovascular: um estudo de tomografia por emissão
de pósitron (PET)**

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

Programa de Psiquiatria

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Busatto Filho

São Paulo

2011

JAQUELINE HATSUKO TAMASHIRO-DURAN

Alterações metabólicas cerebrais associadas aos fatores de risco
cardiovascular: um estudo de tomografia por emissão de pósitron
(PET)

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

Programa de Psiquiatria

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Busatto Filho

São Paulo

2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Tamashiro-Duran, Jaqueline Hatsuko

Alterações metabólicas cerebrais associadas aos fatores de risco cardiovascular:
um estudo de tomografia por emissão de pósitron (PET) / Jaqueline Hatsuko
Tamashiro-Duran. -- São Paulo, 2011.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Psiquiatria.

Orientador: Geraldo Busatto Filho.

Descritores: 1.Envelhecimento 2.Doenças cardiovasculares 3.Fatores de risco
4.Doença de Alzheimer 5.Predisposição genética para doença 6.Tomografia por
emissão de pósitrons 7.Fluordesoxiglucose F18 8.Mapeamento encefálico

USP/FM/DBD-354/11

Dedicatória

Ao meu Amor Fábio, com quem compartilho plenamente a minha vida.
Aos meus pais Paulo e Rosa que foram do outro lado do mundo para que eu
pudesse alcançar os meus sonhos.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Geraldo Busatto Filho pelo estímulo incansável na busca do saber e pelas preciosas orientações, os quais contribuíram para o meu interesse em pesquisa científica.

Ao meu marido Fábio Luís de Souza Duran pelo carinho, apoio e plena dedicação em relação ao nosso amor e aos nossos trabalhos científicos.

Ao meu irmão Fredman pelo seu apoio e suas orientações.

Aos meus tios Eiji e Nair Nozoe, por todo carinho, dedicação e cuidado.

Aos meus sogros Luiz e Djanira, familiares e amigos que sempre me apoiaram desde o início.

A amiga Paula Squarzoni da Silveira, por ter sido a minha incrível dupla dinâmica na coleta dos dados de neuroimagem do Projeto Idoso.

A Luciana Cristina Santos pela companhia animada na rotina do laboratório.

A Dra. Tânia Corrêa de Toledo Ferraz Alves pelo importante incentivo e direcionamento nos meus primeiros passos na pesquisa científica.

Aos amigos do Hospital-Dia do CAISM Água Funda pelo apoio e incentivo aos meus estudos.

A Prof. Dra. Márcia Scazufca, ao Prof. Dr. Paulo Menezes e sua equipe de epidemiologia do Hospital Universitário da Faculdade de Medicina da USP pela captação dos voluntários idosos que participaram deste estudo e colaboração no desenvolvimento de novos conhecimentos.

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Buchpiguel e amigos do Centro de Medicina Nuclear, pelo carinho e acolhida; além da valiosa ajuda na coleta das imagens de PET do presente estudo.

Ao Instituto de Radiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP e a toda a sua equipe de profissionais que trabalharam na coleta dos exames de ressonância magnética, especialmente aos biomédicos e enfermeiros, que com muita paciência e dedicação ficaram vários domingos conosco.

A Carlos Alberto Melo de Moraes, pela ajuda com os programas da plataforma Linux, o que possibilitou o avanço das minhas análises de neuroimagem.

Aos membros da Banca de Qualificação composta pelo Prof. Dr. Maurício Wajngarten, Prof. Dr. Renério Fráguas Júnior e Prof. Dr. Sérgio Luís Blay.

Ao Prof. Dr. Homero P. Vallada e a equipe do PROGENE pela análise dos dados de genotipagem da apoliproteína dos voluntários idosos.

Ao Prof. Dr. Paulo A. Lotufo pela colaboração nos dados de fatores de risco cardiovascular.

A Eliza Fukushima e Isabel Ataíde, pelo carinho, atenção e ajuda com todos os documentos da pós-graduação.

A Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo por ter fornecido toda a infra-estrutura para que o trabalho pudesse ser desenvolvido.

Aos voluntários idosos e aos seus familiares que participaram desta pesquisa, por sua disponibilidade e paciência.

E a todos aqueles que diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, o meu eterno agradecimento.

"A diferença entre o possível e o impossível está na vontade humana."

(Louis Pasteur)

Esta 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. Serviço 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. 2ª ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

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

Sumário

Listas de figuras.....	xi
Listas de tabelas.....	xiii
Lista de abreviaturas e siglas.....	xiv
Resumo	xvii
Summary	xix
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Fatores de risco cardiovascular	2
1.2 Demência de Alzheimer.....	3
1.3 Fatores de risco cardiovascular e demência de Alzheimer.....	8
1.4 Neuroimagem funcional.....	13
1.5 Neuroimagem funcional em demência de Alzheimer.....	16
1.6 Neuroimagem funcional e fatores de risco cardiovascular.....	18
2. OBJETIVOS.....	22
3. HIPÓTESES	23
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
4.1 Aspectos éticos.....	24
4.2 Desenho experimental	25
4.3 Amostra.....	25
4.3.1 Determinação do tamanho da amostra	25
4.3.2 Seleção dos sujeitos da amostra	26
4.3.3 Critérios de inclusão	31
4.3.3.1 Escore <i>Framingham Coronary Heart Disease Risk</i> (FCHDR).....	31
4.3.4 Critérios de exclusão	36
4.4 Avaliações.....	36

4.4.1 Entrevistas e medidas obtidas pela equipe epidemiológica	36
4.4.2 Genotipagem: identificação do alelo $\epsilon 4$ da APOE	39
4.4.3 Aquisição de dados de ressonância magnética estrutural	41
4.4.4 Aquisição de imagens de PET cerebral	42
4.5 Processamento das imagens cerebrais	43
4.5.1 Pré-processamento das imagens de RM	43
4.5.2 Protocolo do processamento das imagens de RM e PET	45
4.6 Análises estatísticas dos dados	48
4.6.1 Análises estatísticas dos dados sociodemográficos, clínicos, cognitivos e genéticos da amostra	48
4.6.2 Análises estatísticas dos dados de metabolismo cerebral de glicose	49
5 Resultados	54
5.1 Dados sociodemográficos da amostra total (n=59)	54
5.2 Dados clínicos da amostra total (n=59)	55
5.3 Dados cognitivos da amostra total (n=59)	57
5.4 Dados da genotipagem da amostra de 57 sujeitos	58
5.5 Achados de neuroimagem em PET-FDG: análises voxel-a-voxel	60
5.5.1 Comparações de TMCG entre três grupos classificados de acordo com risco cardiovascular e correlações lineares entre valores de TMCG e escores FCHDR	60
5.5.1.1 Análises dos dados de imagem de PET-FDG com a covariância para a presença ou ausência do alelo $\epsilon 4$ da APOE	69
5.5.2 Análises exploratórias	80
5.5.2.1 A contribuição de cada FRCV do escore FCHDR no metabolismo cerebral de glicose	80
5.5.2.2 Comparações de TMCG entre dois grupos extremos quanto ao risco cardiovascular de acordo com o escore FCHDR	87
6 DISCUSSÃO	90

6.1 Achados de neuroimagem em PET-FDG	90
6.1.1 Diferenças de metabolismo cerebral de glicose nas comparações entre três grupos classificados de acordo com risco cardiovascular e a correlação linear positiva entre valores de TMCG e escores FCHDR	91
6.1.1.1 Influência do fator confundidor sobre os resultados: análises dos dados de imagem de PET-FDG com a covariância para a presença ou ausência do APOE ϵ 4	93
6.1.2 Análises exploratórias	97
6.1.2.1 A contribuição de cada FRCV do escore FCHDR no metabolismo cerebral de glicose	98
6.1.2.2 Comparações de TMCG entre dois grupos extremos quanto ao risco cardiovascular de acordo com escore FCHDR	99
6.2 Considerações Metodológicas	99
7 CONCLUSÕES	102
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104

Listas de figuras

Figura1 - Fluxograma para a seleção da amostra do estudo.....	30
Figura 2 - Cálculo do risco cardiovascular para os homens	34
Figura 3 - Cálculo do risco cardiovascular para as mulheres	35
Figura 4 - Fluxograma do processamento das imagens de PET	48
Figura 5 - Resultados da pesquisa de todo o cérebro para reduções no metabolismo de glicose no grupo alto-risco (n= 20) quando comparado ao grupo baixo-risco cardiovascular (n= 18), com significância estatística para escores $Z > 2,33$ (correspondendo a $p < 0,01$, não corrigido para comparações múltiplas)	64
Figura 6 - Resultado da pesquisa de todo o cérebro para redução no metabolismo de glicose no grupo baixo-risco (n= 18) quando comparado ao grupo alto-risco cardiovascular (n= 20), com significância estatística para escores $Z > 2,33$ (correspondendo a $p < 0,01$, não corrigido para comparações múltiplas)	66
Figura 7 - Resultados da pesquisa de todo o cérebro para significativa correlação linear voxel-a-voxel entre os valores de TMCG e os escores FCHDR da amostra total de participantes idosos sem demência ou comprometimento cognitivo leve (n=59), com significância estatística para escores $Z > 2,33$ (correspondendo a $p < 0,01$, não corrigido para comparações múltiplas)	68
Figura 8 - Resultados da pesquisa de todo o cérebro para diferenças no metabolismo de glicose nos três grupos de risco cardiovascular (baixo-risco [n=17], médio-risco [n=20] e alto-risco [n=20]), incluindo a presença ou ausência do APOE $\epsilon 4$ como covariada. A significância estatística foi para escores $Z > 2,33$ (correspondendo a $p < 0,01$, não corrigido para comparações múltiplas)	73
Figura 9 - Resultados da pesquisa de todo o cérebro para reduções no metabolismo de glicose no grupo alto-risco (n= 20) quando comparado ao grupo baixo-risco cardiovascular (n= 17), incluindo a presença ou ausência do APOE $\epsilon 4$ como covariada. A significância estatística foi para escores $Z > 2,33$ (correspondendo a $p < 0,01$, não corrigido para comparações múltiplas)	75

- Figura 10 - Resultados da pesquisa de todo o cérebro para reduções no metabolismo de glicose no grupo de baixo-risco (n= 17) quando comparado ao grupo alto-risco cardiovascular (n= 20), incluindo a presença ou ausência do APOE ϵ 4 como covariada. A significância estatística foi para escores $Z > 2,33$ (correspondendo a $p < 0,01$, não corrigido para comparações múltiplas) 77
- Figura 11 - Resultados da pesquisa de todo o cérebro para significativa correlação linear voxel-a-voxel entre os valores de TMCG e os escores FCHDR da amostra total de participantes idosos sem demência ou comprometimento cognitivo leve (n=57), incluindo a presença ou ausência do APOE ϵ 4 como covariada. A significância estatística foi para escores $Z > 2,33$ (correspondendo a $p < 0,01$, não corrigido para comparações múltiplas) 79

Listas de tabelas

Tabela 1– Características sociodemográficas da amostra total classificada de acordo com o risco cardiovascular (pelo escore FCHDR), ao exame de PET-FDG.....	54
Tabela 2 – Características clínicas da amostra total classificada de acordo com o risco cardiovascular (pelo escore FCHDR), ao exame de PET-FDG	55
Tabela 3 – Características cognitivas da amostra total classificada de acordo com o risco cardiovascular (pelo escore FCHDR), ao exame de PET-FDG	57
Tabela 4 – Dados da genotipagem do APOE ε4 da amostra de 57 sujeitos classificados de acordo com o risco cardiovascular (pelo escore FCHDR)	59
Tabela 5 – Achados das alterações significativas do metabolismo cerebral de glicose nas comparações entre os grupos baixo-risco e alto-risco cardiovascular, e nas correlações lineares entre os valores de TMCG e os escores FCHDR da amostra total (n=59), incluindo o gênero e o intervalo entre os exames RM/PET-FDG como variáveis de confusão.	62
Tabela 6 - Achados das alterações significativas do metabolismo cerebral de glicose nas comparações entre os grupos (baixo-risco, médio-risco e alto-risco cardiovascular) e nas correlações lineares entre os valores de TMCG e escores FCHDR da amostra de 57 participantes, incluindo o gênero e o intervalo entre os exames RM/PET-FDG como variáveis de confusão e a presença ou ausência do APOE ε4 como covariada.	71

Lista de abreviaturas e siglas

ANOVA – Análise de variância

APOE ϵ 4 - apolipoproteína ϵ 4

ARCV - Alto Risco Cardiovascular

BA – *Brodmann's Area* (Área de Brodmann)

BRCV – Baixo Risco Cardiovascular

CCL - Comprometimento Cognitivo Leve

DA – Doença de Alzheimer

DCerV - Doença Cerebrovascular

DCV - Doenças Cardiovasculares

DICOM - *Digital Imaging Communications In Medicine*

DM - Diabetes Mellitus

DP – Desvio-padrão

DSM-IV - *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders- 4th edition*

(Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais - 4ª edição)

DV - Demência Vascular

EF - Escore de Framingham

FOV - *Field Of View*

FRCV – Fator de Risco Cardiovascular

FSC – Fluxo Sanguíneo Cerebral

FSCr – Fluxo Sanguíneo Cerebral regional

FWE – *Family-wise error* (correção para comparações múltiplas)

FWHM - *Full Width at Half Maximum* (largura total pela metade do máximo)

H₂O¹⁵ - água com radioisótopo marcado com O¹⁵

HAM-21 - Escala de Hamilton

HAS - Hipertensão Arterial Sistêmica

HC-FMUSP - Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo

HCL – Hipercolesterolemia

HWA - Hybrid Watershed Algorithm (Algoritmo Watershed Híbrido)

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICBM - *International Consortium for Brain Mapping*

ICC – *Intraclass Correlation Coefficient* (coeficiente de correlação intraclass)

IMC – Índice de Massa Corpórea

InRad - Instituto de Radiologia

mm – Milímetro

mm³ - Milímetro cúbico

MNI – *Montreal Neurological Institute*

MRCV – Médio Risco Cardiovascular

ms – Milissegundos

NS – não significativo

PA – Pressão Arterial

PET - *Positron Emission Tomography* (tomografia por emissão de pósitron)

PET-FDG - *Positron Emission Tomography* (tomografia por emissão de
pósitrons) com marcador 2--fluoro-2-deoxi-glicose

PVE – *Partial Volume Effect* (Efeito de Volume Parcial)

RM – Ressonância Magnética.

RMf – Ressonância Magnética funcional

ROI – *Region of Interest* (Região de interesse)

S12 – Filtro de Suavização de 12mm

SCID – *Structured Clinical Interview for DSM-IV – axis I disorders* (Entrevista Clínica Estruturada para o DSM-IV, transtornos do eixo I)

SHEP - *Systolic Hypertension in the Elderly Program*

SNC - Sistema Nervoso Central

SPECT - *Single Photon Emission Computed Tomography* (tomografia por emissão de fóton único)

SPGR - *Spoiled Gradient Recalled Acquisition*

SPM – *Statistical Parametric Mapping*

SPM5- *Statistical Parametric Mapping*, versão 5

SPSS - *Statistical Package for the Social Sciences*

SVC – *Small Volume Correction*

Syst-Eur - *Systolic Hypertension in Europe*

T – Tesla

TC - Tomografia Computadorizada

TE – *Time Echo*

TMCG - Taxa de Metabolismo Cerebral de Glicose

TMCGr – Taxa de Metabolismo cerebral de glicose regional

TR - *Time Relaxation*

VBM – *Voxel-based morphometry* (morfometria baseada no voxel)

Voxel - *Volume Element* ou *Volume cell*

Resumo

Tamashiro-Duran JH. *Alterações metabólicas cerebrais associadas aos fatores de risco cardiovascular: um estudo de tomografia por emissão de pósitron (PET)* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2011. 121p.

INTRODUÇÃO: Os fatores de risco cardiovascular (FRCV) afetam o fluxo sanguíneo cerebral, contribuindo possivelmente para o declínio cognitivo e a emergência da Doença de Alzheimer (DA), a forma mais comum de demência. A tomografia por emissão de pósitrons (*positron emission tomography*, PET) com fluordesoxiglucose F18 (^{18}F -FDG) é largamente usada para demonstrar o padrão específico de metabolismo cerebral de glicose reduzido em sujeitos com DA e em indivíduos não-demenciados portadores do alelo $\epsilon 4$ da apolipoproteína E (APOE $\epsilon 4$), o maior fator de risco genético para DA. Entretanto, estudos de PET investigando o impacto dos FRCV no metabolismo cerebral são escassos. **OBJETIVO:** Examinar se níveis diferentes de FRCV estariam associados com reduções na taxa de metabolismo cerebral de glicose (TMCG), envolvendo as regiões cerebrais afetadas nos estágios iniciais da DA (pré-cúneo e giro do cíngulo posterior, neocórtex parieto-temporal lateral e região hipocampal). **MÉTODOS:** Nós avaliamos 59 indivíduos cognitivamente preservados (66-75 anos) subdivididos em três grupos de acordo com seu escore para *Framingham Coronary Heart Disease Risk* (FCHDR) (alto-risco, médio-risco e baixo-risco) para os exames de ressonância magnética (RM) e de PET-FDG. Dados de PET foram corrigidos para os efeitos de volume parcial a fim de evitar efeitos confundidores devido à atrofia cerebral regional. Nós realizamos uma análise de covariância global (ANCOVA) para investigar as reduções de TMCG em associação com os três grupos, comparações entre dois grupos para as diferenças de TMCG pelo teste-t, e índices de correlação linear voxel-a-voxel entre os valores de TMCG e escores FCHDR. Todas as análises incluíram a presença ou a ausência do APOE $\epsilon 4$ como covariada confundidora de interesse. **RESULTADOS:** A investigação ANCOVA de diferenças de TMCG

entre os três grupos mostraram significantes diferenças de TMCG somente no giro parahipocampal direito ($p=0,032$). Nas comparações entre dois grupos, reduções de TMCG significantes foram detectadas no grupo de alto-risco comparado ao baixo-risco no pré-cúneo esquerdo ($p=0,008$) e o giro do cíngulo posterior esquerdo ($p=0,007$). Focos inesperados de reduções de TMCG no grupo baixo-risco comparado ao grupo alto-risco no giro parahipocampal foram detectados em ambos os hemisférios direito ($p=0,001$) e esquerdo ($p=0,045$). Havia também uma significativa correlação linear positiva entre valores de TMCG e escores FCHDR no giro parahipocampal em ambos os lados direito ($p=0,007$) e esquerdo ($p=0,025$).

CONCLUSÃO: Depois de controlar para a presença do APOE $\epsilon 4$, nossos achados de hipofunção cerebral regional relacionado a FRCV mantiveram a significância estatística no pré-cúneo e no giro do cíngulo posterior, as duas regiões cerebrais onde comprometimentos funcionais são os mais consistentemente detectados nos estágios incipientes da DA. Isso sugere que os achados de hipometabolismo cerebral similares àqueles vistos nos sujeitos com DA podem ser vistos em associação com a gravidade de FRCV em amostras de indivíduos cognitivamente preservados. Uma possível explicação para o hipermetabolismo relativo no giro parahipocampal nos indivíduos com elevados FRCV seria um viés na seleção da amostra. É possível que nós tenhamos excluídos os sujeitos com os níveis mais graves de risco cardiovascular que teriam exibido os padrões de reduções de TMCG no giro parahipocampal, forçando a seleção de indivíduos que estão para o alto risco cardiovascular, mas que são capazes de exibir mecanismos compensatórios para manter o funcionamento metabólico adequado para as regiões temporolímbicas, as quais são vulneráveis às mudanças microvasculares.

Descritores: envelhecimento, doenças cardiovasculares, fatores de risco, doença de Alzheimer, predisposição genética para doença, tomografia por emissão de pósitrons, fluordesoxiglucose F18, mapeamento encefálico.

Summary

Tamashiro-Duran JH. *Abnormalities on brain metabolism associated to cardiovascular risk factors: a positron emission tomography (PET) study* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2011. 121p.

INTRODUCTION: Cardiovascular risk factors (CVRF) are known to affect cerebral blood flow, possibly contributing to cognitive decline and to the emergence of Alzheimer’s disease (AD), the commonest form of dementia. Positron emission tomography (PET) with 18-fluoro-2-deoxyglucose (^{18}F -FDG) has been widely used to demonstrate specific patterns of reduced brain glucose metabolism in AD subjects and in non-demented individuals carriers of the apolipoprotein $\epsilon 4$ allele (APOE $\epsilon 4$), the major genetic risk factor for DA. However, PET studies investigating the impact of CVRF on cerebral metabolism have been scarce to date. **OBJECTIVE:** To examine whether different levels of CVRF would be associated with cerebral metabolic rate of glucose (CMRgl) reductions, involving brain regions affected in early stages of DA (precuneus and posterior cingulate gyrus, lateral temporal-parietal neocortices and hippocampal region). **METHODS:** We assessed 59 cognitively preserved individuals (66-75 years), subdivided into three groups according to their Framingham Coronary Heart Disease Risk (FCHDR) score (high-risk, medium-risk, and low-risk), both with magnetic resonance imaging (MRI) and FDG-PET scans. PET data were corrected for partial volume effects to avoid confounding effects due to regional brain atrophy. We performed an overall analysis of covariance (ANCOVA) to investigate CMRgl reductions in association with the three groups, two-group comparisons of CMRgl differences by t-tests, and voxelwise linear correlation indices between CMRgl values and FCHDR scores. All analysis included the presence or absence of the APOE $\epsilon 4$ allele as a confounding covariate of interest. **RESULTS:** The ANCOVA investigation of CMRgl differences across the three groups showed significant CMRgl differences only in the right

parahippocampal gyrus ($p=0.032$). In the two-group comparisons, significant CMRgl reductions were detected in the high-risk group compared to the low-risk group in the left precuneus ($p=0.008$); and the left posterior cingulate gyrus ($p=0.007$). Unexpected foci of CMRgl reductions in the low-risk compared to the high-risk group in the parahippocampal gyrus were detected, both on the right ($p=0.001$) and left ($p=0.045$) hemispheres. There was also a significant positive linear correlation between CMRgl values and FCHDR scores in the parahippocampal gyrus both for the right ($p=0.007$) and left ($p=0.025$) sides. **CONCLUSION:** After controlling for the presence of the APOE $\epsilon 4$ allele, our findings of CVRF-related regional brain hypofunction retained statistical significance in the precuneus and posterior cingulate gyrus, the two brain regions where functional impairments are most consistently detected in incipient stages of AD. This suggests that findings of brain hypometabolism similar to those seen in AD subjects can be seen in association with the severity of CVRF in samples of cognitively preserved individuals. One possible explanation for the relative hypermetabolism in the parahippocampal gyrus in high CVRF individuals would be a bias in the sample selection. It is possible that we have excluded subjects with severest levels of cardiovascular risk who would have displayed patterns of reduced CMRgl in the parahippocampal gyrus, forcing the selection of individuals who are at high cardiovascular risk but are capable of displaying compensatory mechanisms to maintain adequate metabolic functioning in temporolimbic regions vulnerable to microvascular changes.

Descriptors: aging, cardiovascular diseases, risk factors, Alzheimer disease, genetic predisposition to disease, positron-emission tomography, fluorodeoxyglucose F18, brain mapping.

1. INTRODUÇÃO

O envelhecimento da população é um fenômeno mundial em franca expansão. No Brasil, a participação de idosos aumentou significativamente entre 1999 e 2009. O número de idosos (pessoas com mais de 60 anos de idade) passou de 14,8 milhões, em 1999, para 21,7 milhões, em 2009. As projeções do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) sugerem que, em 2025, no Brasil teremos cerca de 35 milhões de pessoas com idade acima dos 60 anos (1).

Concomitantes a esse crescimento populacional, dados do levantamento do IBGE mostram que à medida que as pessoas envelhecem, maiores são as chances de desenvolverem doenças crônico-degenerativas. Quase a metade dos idosos brasileiros (48,9%) apresenta mais de uma doença crônica, tais como, diabetes mellitus (DM) e doenças cardiovasculares (DCV), tendo a hipertensão arterial sistêmica (HAS) como o fator de risco cardiovascular (FRCV) mais prevalente (50% dos idosos) (1). Além disso, dados de centros internacionais alertam que as demências neurodegenerativas, especialmente a doença de Alzheimer (DA), constituirá a maior crise social e preocupação na saúde pública mundial nesse século XXI (2).

Nesse contexto do impacto das demências neurodegenerativas, as investigações pré-clínicas tornam-se crescentes, preferencialmente em DA; já que encontrar a sua cura é improvável, a identificação e a prevenção dos

seus fatores de risco seriam as estratégias mais operacionáveis para os indivíduos ainda assintomáticos. Estudos epidemiológicos já relatam dezenas de fatores de risco para DA, a maioria dos quais são vasculares (3-6) e modificáveis. Como complemento aos estudos epidemiológicos tradicionais, estudos em neuroimagem funcional, envolvendo medidas de metabolismo cerebral de glicose, possibilitariam demonstrar características mais intimamente relacionada à predisposição de DA. No entanto, pesquisas que tratam sobre as inter-relações entre o envelhecimento, os FRCV e o risco de declínio cognitivo ou DA ainda são escassas.

1.1 Fatores de risco cardiovascular

A DCV é a principal causa de mortes no mundo, estimando-se que 17,3 milhões de pessoas morreram em 2008, sendo que aproximadamente 44% dessas mortes correspondiam a pessoas acima de 60 anos de idade (7). É responsável por uma em cada três mortes (aproximadamente 800.000) relatada anualmente nos Estados Unidos (8). Ao mesmo tempo, os FRCV tradicionais (HAS, DM, hipercolesterolemia [HCL] e tabagismo), avaliados comumente em pesquisas epidemiológicas, destacam-se pelas suas crescentes prevalências.

A HAS, que foi identificada no recente relatório da Organização Mundial de Saúde como uma das causas preveníveis mais importante de morte prematura, afetou 972 milhões de pessoas no mundo em 2000 e está previsto aumentar, em torno de 60%, para 1,56 bilhões de pessoas em 2025 (9).

O DM afeta atualmente cerca de 346 milhões de pessoas no planeta, sendo que mais de 80% estão em países de baixa e média renda (10) e mais 1/3 dos pacientes idosos com DM permanecem não diagnosticados (11).

A prevalência de HCL chega a atingir em torno de 147 milhões de pessoas no mundo (12), comprometendo cerca de 25% dos idosos, porém mais da metade dos sujeitos não são também diagnosticados (13).

O tabagismo é indiscutivelmente a mais importante causa prevenível de DCV (14), porém o tabaco continua matando cerca de 6 milhões de pessoas no mundo a cada ano, incluindo mais de 600.000 fumantes passivos, e espera-se que mais da metade de 1 bilhão de fumantes no mundo eventualmente morram por doenças relacionadas ao tabaco (a maioria por DCV) (15).

1.2 Demência de Alzheimer

Os estudos de prevalência de demência na população idosa descrevem taxas de até 10% aos 65 anos, as quais aumentam com a idade, chegando a 50% acima de 85 anos (16, 17). No Brasil, estudos epidemiológicos de Scazufca et al. (2008) (18) e Bottino et al. (2008) (19) realizados em comunidades de São Paulo estimaram a prevalência de demência de 5,1% a 12,9% da população, respectivamente. A DA é a principal causa de demência na população idosa, respondendo em torno de 60% dos quadros (20, 21).

A DA é o transtorno neurodegenerativo mais comum, caracterizado pelo início insidioso e declínios progressivos na memória, atenção e linguagem (22). Sua etiologia é desconhecida, mas mudanças típicas no cérebro são: a perda neuronal, placas de proteína beta-amilóide e emaranhados neurofibrilares, os quais foram primeiramente descritos por Alois Alzheimer em 1906 (o estudo intitulado *Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde* foi publicado no periódico *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie*, em 1907).

A cronologia do desenvolvimento da DA segue três principais estágios de crescente gravidade, de acordo com *Clinical Dementia Rating* (CDR), consistindo nas formas: leve, moderada e grave (23). Leve ou estágio inicial de DA é caracterizado pela perda de memória recente, mudanças na personalidade, pobre capacidade de julgamentos, distúrbios na linguagem, depressão e apatia. Neuropatologicamente, a forma mais leve do estágio (CDR=0,5) já mostra 60% e 40% de perda neuronal no córtex entorrinal em lâmina II e lâmina IV, respectivamente, quando comparado com sujeitos cognitivamente normais (24). O córtex entorrinal, estrutura cerebral que faz principal interface entre o hipocampo e o neocórtex, é uma região crítica que forma um componente integral do sistema de memória do lobo temporal e torna-se comumente prejudicado nos estágios iniciais da DA.

No estágio intermediário da DA (CDR=2), é necessária a assistência diária por conta da deterioração da maior parte das funções cognitivas. A perda permanente da memória e alterações comportamentais pioram consideravelmente por um período de 8 a 10 anos neste estágio. A perda

neuronal progressiva no córtex entorrinal, hipocampo e em outros territórios superiores do sistema límbico e do córtex cerebral, é característica desse estágio (25, 26).

O estágio final e grave da DA (CDR=3) é marcado pela perda total do reconhecimento de pessoas e lugares, incapacitação geral e inabilidade para o autocuidado, necessitando, assim, de cuidado integral. A morte sobrevém após vários anos, decorrente do estado físico enfraquecido e vulnerável. Patologicamente, o número de neurônios nas camadas II e IV diminui cerca de 90% e 70%, respectivamente (24), e a perda importante dos neurônios piramidais das áreas neocorticais das regiões frontal, temporal e parietal é tipicamente vista, assim como a atrofia cortical na macroscopia anatômica (27).

A neurodegeneração em DA é estimada iniciar 20 a 30 anos antes das manifestações clínicas da doença tornarem-se evidentes (25, 26, 28). De acordo com o modelo teórico em DA, a "hipótese da cascata amilóide" (29), durante a fase pré-clínica, as placas de proteínas beta-amilóide e emaranhados neurofibrilares acumulam-se, causando a perda de sinapses e a morte neuronal. Recentemente, a hipótese amilóide foi reformulada, declarando que os oligômeros de proteínas beta-amilóide conferem a neurotoxicidade para os neurônios por interromper as vias de sinalização nervosa na DA (30, 31).

Os emaranhados neurofibrilares e tópicos de neuropil (presentes no processo neuronal) são estruturas intracelulares compostas predominantemente da forma agregada e hiperfosforilada da proteína ligada

aos microtúbulos (Tau) (32-34). A proteína Tau é sintetizada e produzida em todos os neurônios; além de estar presente nas células gliais. A função normal da Tau é ligar a tubulina e os microtúbulos estabilizados. No entanto, na DA, a Tau torna-se hiperfosforilada e, nessa forma da Tau, dissocia-se dos microtúbulos, tendendo à auto-agregação e formação dos emaranhados neurofibrilares nos corpos celulares e neurônios distróficos. Dados sugerem fortemente que a patologia neurofibrilar contribui para a disfunção neuronal e correlaciona-se com a progressão clínica da DA. Assim, estudos genéticos, bioquímicos e neurobiológicos sugerem que essa agregação, mudança na conformação e acúmulo de diferentes formas de proteína beta-amilóide representam o papel central para o início da patogênese da DA e diretamente danifica o cérebro, por meio de várias mudanças adicionais, algumas das quais devem ser desencadeadas e outras independentes da proteína beta-amilóide. Há forte evidência que a patologia Tau contribui para a progressão clínica da DA; isso se deve, em parte, através do desencadeamento das vias de proteína beta-amilóide, mas é também provavelmente danos cerebrais relacionadas à Tau na DA, independentes da proteína beta-amilóide (35).

Clinicamente, a maioria dos casos de DA sintomático começa depois dos 65 anos de idade, com a incidência crescente com a idade. Esses casos são frequentemente referidos como “esporádico” ou de início tardio de DA (*late-onset Alzheimer's disease*, LOAD). Essa forma de DA representa mais de 99% de todos os casos. Fatores genéticos contribuem fortemente para o risco de desenvolvimento de LOAD. No entanto, para LOAD, uma pequena

porcentagem (<1%) de DA ocorre dentro da família (*familial Alzheimer's disease*, FAD), sendo de herança autossômica dominante, com início da demência geralmente entre 30 e 60 anos de idade (36, 37). Além da genética de FAD, na qual as mutações em genes “causam” a DA, há genes que conferem o risco para o desenvolvimento de LOAD. Por exemplo, o gene que codifica a apolipoproteína E (APOE) representa o maior risco para o desenvolvimento de DA e a presença de alelos específicos da APOE tem sido correlacionada com o risco de desenvolvimento de LOAD (38, 39).

A APOE é o principal transportador do colesterol no SNC, coordenando a mobilização e redistribuição do colesterol no reparo e na manutenção da mielina e das membranas neuronais, durante o desenvolvimento ou depois de uma injúria (40, 41). Há três isoformas comuns: APOE2, APOE3 e APOE4 que são todos produtos do mesmo gene, o qual há três alelos (ϵ 2, ϵ 3 e ϵ 4) em um único *locus* genético (42). O alelo ϵ 4 da APOE (APOE ϵ 4) está associado tanto à DCV pelo aumento de níveis de colesterol e da aterosclerose (43), quanto para LOAD (38, 39). Uma cópia do alelo ϵ 4 aumenta o risco para DA em três vezes e duas cópias em 12 vezes (<http://www.alzgene.org>). Há várias hipóteses acerca de como a APOE deve influenciar a patogênese da DA. O acúmulo de evidências *in vitro* e *in vivo* sugerem que a APOE atua como molécula ligadora da proteína beta-amilóide, influenciando a remoção da proteína beta-amilóide solúvel assim como propiciando a agregação da proteína beta-amilóide vista na semeadura e na polimerização da proteína beta-amilóide (44). Além disso, APOE ϵ 4 está associado à formação dos emaranhados neurofibrilares no

cérebro e ao comprometimento da remodelação sináptica, características da patogênese da DA (45).

Atualmente, o diagnóstico provisório da DA permanece baseado na história clínica, na avaliação neurológica, nos testes cognitivos e na neuroimagem estrutural; ao passo que o diagnóstico definitivo da DA é feito a partir da detecção *pos-mortem* de lesões patológicas específicas: placas de proteína beta-amilóide no meio extracelular e vasos sanguíneos, emaranhados neurofibrilares intracelulares e perdas neuronais e sinápticas em regiões específicas do cérebro (46). Não há exames para o diagnóstico definitivo *in vivo* para DA. Ironicamente essa doença é definida com critérios patológicos, tendo-se dificilmente qualquer informação a este respeito durante a vida. Como resultado, os pacientes devem ser erroneamente diagnosticados com DA, quando de fato eles têm outra demência, ou estar sendo subdiagnosticados para DA (47). A falta de testes diagnósticos padronizados para DA limita grandemente o potencial para uma acurácia no diagnóstico e, mais ainda, para a detecção precoce.

1.3 Fatores de risco cardiovascular e demência de Alzheimer

A DA representa grande ônus para a saúde pública e, assim, identificar precocemente os indivíduos que possam evoluir para a demência é o principal desafio das pesquisas em demências neurodegenerativas. Estudos epidemiológicos já investigaram vários fatores de risco para DA e observaram o envolvimento dos FRCV tradicionais (tais como, HAS, DM, obesidade, HCL e tabagismo) tanto no desenvolvimento dos prejuízos

cognitivos quanto de sua patofisiologia (48-56), com uma correlação direta entre o risco de desenvolvimento de DA e o número de FRCV presentes no indivíduo (57, 58).

A HAS é um fator de risco para DCV (59), doença cerebrovascular (DCerV) (60), acidentes vasculares encefálicos silenciosos, demência vascular (DV) (61-64) e DA (61, 63, 65-72). A relação da pressão arterial (PA) e da função cognitiva/demência parece ser idade-dependente (73-75). O *Framingham Heart Study* reportou uma relação inversa entre PA e cognição (76-80), particularmente a memória, atenção, orientação e funções executivas (81, 82). Além disso, o *Rotterdam Study* verificou que o controle da HAS, principalmente durante a vida adulta tem efeito protetor sobre a cognição (83), dados confirmados pelos estudos *Systolic Hypertension in the Elderly Program* (SHEP) e *Systolic Hypertension in Europe* (Syst-Eur) (84-87). Assim sendo, é possível que os anti-hipertensivos que atravessam a barreira hemato-encefálica, atuem no sistema renina-angiotensina-aldosterona ou no metabolismo de cálcio possam, além de controlar os níveis pressóricos, reduzir o risco de perda cognitiva (88). Os mecanismos subjacentes ao papel HAS na patofisiologia da DA possivelmente incluem a redução do fluxo sanguíneo cerebral (FSC) secundária às elevações da PA, aumento da resistência vascular sistêmica e/ou lesões direta nas células endoteliais cerebrais produtoras de óxido nítrico (89). Estudos que utilizam os modelos de animais para investigar a patologia de DA relacionada com a hipertensão arterial demonstraram que os camundongos submetidos a pressões arteriais elevadas apresentaram o acúmulo de agregados de

proteína beta-amilóide no cérebro, o principal achado histológico da DA, assim como outras características relacionadas à DA, tais como, o desencadeamento do sistema imune e a disfunção da barreira hemato-encefálica (90, 91).

O DM também se mostrou associada ao desenvolvimento do prejuízo cognitivo (92-96) e da demência (97-103). No DM tipo 1, os déficits cognitivos caracterizam-se por diminuição da velocidade e flexibilidade mental (104), enquanto que no DM tipo 2, além dos anteriores, incluem aspectos da memória e aprendizagem (105). Alguns estudos sugerem que a presença de DM durante a fase adulta aumentaria o risco de demência na terceira idade (106-108). No princípio, o *Rotterdam Study* (1999) mostrou que indivíduos com DM tipo 2 teriam o dobro de risco para o desenvolvimento de demência e o risco aumentaria quatro vezes se fossem insulino-dependentes (109). Recentemente, o *Rotterdam Study* (2010) sugeriu que a resistência à insulina aumenta o risco de desenvolver DA em três anos (110). Os múltiplos fatores que contribuem para a patogênese do DM relacionada à DA não foram completamente elucidados, porém certamente compartilham da patogênese, o envelhecimento cerebral e a neuropatia diabética, envolvendo não somente as mudanças metabólicas associadas à hiperglicemia crônica, mas provavelmente também pelos defeitos na ação da sinalização intracelular da insulina no cérebro (111). Recentes pesquisas sugerem que a sinalização intracelular da insulina deve estar envolvida no processo da DA; a inibição da transdução de sinal da insulina neuronal pode levar ao acúmulo intracelular de agregados de

proteína beta-amilóide e hiperfosforilação da proteína Tau, os quais são as características patológicas importantes para a DA (112). Agregados anormais de moléculas Tau, assim como oligômeros de proteína beta-amilóide, são citotóxicos e podem prejudicar a cognição (113). Os estudos *post-mortem* em sujeitos com DM já mostraram as mesmas alterações patológicas (agregados de proteína beta-amilóide) encontradas em necrópsias de portadores de DA (114).

A obesidade também já foi associada com a DA (115-117), porém estudos epidemiológicos que exploram essa associação ainda são controversos (118-120). Uma recente metanálise (2011) de 15 estudos prospectivos (3,2 a 36,0 anos) avaliou o índice de massa corpórea (IMC) em adultos e idosos como fator de risco para demência. O risco relativo para DA em adultos com sobrepeso, quando comparados a adultos com IMC normal, foi de 1,35 (Intervalo de confiança [IC] 95%: 1,19-1,54). Já em adultos obesos quando comparados a adultos com IMC normal, o risco relativo para DA subiu para 2,04 (IC 95%: 1,59-2,62). O IMC contínuo em idosos não foi associado com demência (121). Ao contrário da população idosa estudada nessa metanálise, o recente estudo prospectivo de Luchsinger et al. (2011) (122) avaliou medidas antropométricas de uma amostra de idosos acima de 65 anos de idade (n=1459) com o objetivo de identificar associação da obesidade com o risco de demência. Mesmo depois de corrigir as análises para outros FRCV, os resultados mostraram que a obesidade central está relacionada a maior risco de DA de início tardio.

Vários estudos epidemiológicos sustentam a função do colesterol na patogênese da DA (44, 123). O colesterol é o componente vital do sistema nervoso central (SNC) e é essencial para o crescimento axonal, formação sináptica e sua remodelação, processos cruciais para a aprendizagem, formação de memórias e reparação neuronal (124). A ligação íntima entre o metabolismo lipídico e DA ficou bem estabelecida quando o APOE ϵ 4 foi identificado como o principal fator de risco genético para DA (39, 125). Nessa mesma direção de pesquisas, são crescentes os estudos que investigam as mudanças lipídicas em cérebros de sujeitos com DA (126-128), cérebros *post-mortem* de indivíduos com dislipidemia (129), modelos de animais para DA (126, 130-132) e células nervosas expostas a oligômeros de proteína beta-amilóide (128). Evidências de estudos epidemiológicos prospectivos sugerem que o uso de estatinas em adultos pré-sintomáticos confere proteção contra a DA de início tardio (133-135); além disso, outro estudo populacional que examinou o efeito de estatinas em idosos cognitivamente preservados, revelou que os usuários de estatinas acumulavam significativamente menos emaranhados neurofibrilares (mas não agregados de proteína beta-amilóide) ao longo do tempo quando comparados com os sujeitos sem o tratamento (136).

A relação entre o tabagismo e o risco para DA é ainda controversa, tendo até alguns estudos sugerindo que o hábito de fumar reduz o risco de comprometimento cognitivo (137). Há poucos estudos de coorte populacional que avaliaram o tabagismo na vida adulta e o desenvolvimento da demência durante o envelhecimento, sendo que os períodos de

seguimento foram relativamente breves (2 a 7 anos) (138-140). Destes, alguns estudos longitudinais mostraram uma associação positiva entre o tabagismo e demência (140, 141). No entanto, recentemente, o único estudo que avaliou essa associação a longo prazo foi realizado por Rusanen et al. (2011) (142) que investigaram as consequências do tabagismo pesado na vida adulta sobre a demência (principalmente DA e DV) numa coorte populacional etnicamente diversificada de 21.123 sujeitos adultos que foram acompanhados de 1978 a 1985 (média de seguimento foi de 23 anos). Após a correção para os fatores sociodemográficos e clínicos, Rusanen et al. observaram que comparados aos não fumantes, aqueles que fumaram mais de dois maços de cigarros por dia tinham mais de 157% maior risco de DA e 172% maior risco de DV.

1.4 Neuroimagem funcional

A neuroimagem funcional é a modalidade de imagem cerebral que permite medir um aspecto da função cerebral e entender as relações entre a atividade de certas regiões cerebrais e funções mentais específicas. Sua aplicação tem possibilitado investigar a presença de alterações cerebrais *in vivo* em amostras de portadores de transtornos neuropsiquiátricos (principalmente nos quadros de demência) comparados a um grupo-controle de voluntários saudáveis pareados para variáveis demográficas, com qualidade crescente de sensibilidade e resolução anatômica (143). Técnicas como a tomografia computadorizada (TC) e a ressonância magnética (RM) fornecem dados sobre a anatomia estrutural do cérebro, permitindo a

detecção de lesões circunscritas ou difusas, ou a avaliação quantitativa do volume de diferentes estruturas cerebrais. Já os métodos de neuroimagem funcional, tais como, a tomografia computadorizada por emissão de fóton único (single photon emission computed tomography, SPECT) e a tomografia por emissão de pósitron (*positron emission tomography*, PET), utilizam radiofármacos, possibilitando estudos da química cerebral, neurotransmissão (neurônios pré e pós-sinápticos) e neurorreceptores, assim como outras funções cerebrais, como, por exemplo, a utilização de glicose (144).

PET é técnica de imagem da Medicina Nuclear que produz imagens da fisiologia humana (por exemplo: metabolismo da glicose e fluxo sanguíneo), usando radionuclídeos emissores de pósitrons (traçadores) como carbono, oxigênio, nitrogênio, flúor e rubídio para determinar funções biológicas normais e anormais de órgãos e células. A molécula mais usada é o FDG, uma vez que toda célula usa a glicose como combustível, apresentando meia-vida curta de 110 minutos. Como a glicose, o análogo FDG é transportado para dentro da célula por transportadores de glicose específicos e fosforilado pela enzima hexoquinase tipo II. Uma vez dentro da célula, o traçador fosforilado não é metabolizado, permanecendo aprisionado e o seu acúmulo tem o potencial de rastrear a captação de glicose, embora não se possa rastrear o destino metabólico da glicose dentro da célula (145). As concentrações do traçador na imagem fornecem a atividade metabólica do tecido, em termos de captação de glicose regional.

O princípio do exame PET consiste basicamente do fato de que a matéria aniquila-se com a antimatéria. No caso, o corpo do paciente é constituído por matéria, ou seja, por elétrons, que se aniquilam com a antimatéria emitida por um radionuclídeo emissor de pósitrons, sendo a antimatéria o pósitron. Para que a emissão do pósitron seja detectada e transformada em imagem, os dois fótons (raios gama) resultantes da aniquilação do pósitron com o elétron (reação antimatéria-matéria) devem ser detectados simultaneamente. Os dados são transformados em coordenadas geométricas para cada evento de aniquilação e são armazenados na memória do computador. São necessários diversos pares de detectores adjacentes envolvendo todo o corpo do paciente. Isto permite a aquisição simultânea de dados, que são usados para reconstruir imagens em planos diversos (146).

PET com marcador 2-[F18]-fluoro-2-deoxi-glicose (FDG) é considerado atualmente o método de neuroimagem *in vivo* com maior acurácia para investigar as mudanças no metabolismo cerebral regional, as quais estão associadas ao processo de envelhecimento saudável e patológico em seres humanos (147-149).

Os estudos em neuroimagem funcional devem ser cuidadosamente desenhados e interpretados. Assim, o desenho clássico dos estudos de PET consiste na seleção de um grupo de interesse em comparação a um grupo controle, através da comparação das médias de captação regional e correlação com a intensidade de sintomas específicos ou variáveis clínicas. A quantificação de imagens de PET cerebral era realizada com delimitação

de regiões de interesse (*region of interest*, ROI) manualmente e ajustadas sobre as bordas cerebrais. Esse método, além de trabalhoso, apresenta limitações como arbitrariedade na definição das bordas anatômicas e participação do observador na definição das ROI (150). Mais recentemente, métodos automatizados vêm sendo desenvolvidos, nos quais a análise estatística é realizada através das unidades tridimensionais das imagens cerebrais (voxels), sem a necessidade de definição *a priori* de ROI. Um dos métodos automatizados de análise “voxel-a-voxel” é o “*Statistical Parametric Mapping*” (SPM) (150).

1.5 Neuroimagem funcional em demência de Alzheimer

Ao longo dos anos, uma lista crescente de observações destacou a importância do PET-FDG como ferramenta para distinguir a DA de outras demências, prever e acompanhar o declínio da cognição normal para DA; além de identificar indivíduos com risco de DA antes do início dos sintomas cognitivos. Dessa forma, a técnica de PET-FDG é muito utilizada para medir a taxa de metabolismo cerebral de glicose (TMCG) como forma de avaliar a atividade neuronal (149). O que se aprendeu com os 30 anos de pesquisa de PET-FDG em DA é que, em primeiro lugar, a DA é caracterizada por um padrão regional específico de reduções da TMCG. Nos estágios iniciais de DA, há consistentes déficits de TMCG envolvendo inicialmente as regiões cerebrais do pré-cúneo e o giro do cíngulo posterior (151-155), acometendo também o hipocampo, amígdala, giro parahipocampal, neocórtex parietal lateral e neocórtex temporal lateral (156-159). Com o avanço da doença,

ocorre o envolvimento do córtex frontal, enquanto cerebelo, gânglios da base, córtex sensório-motor e córtex visual primário permanecem preservados (153, 160). Esse padrão *in vivo* de hipometabolismo é encontrado em vasta maioria dos casos diagnosticada clinicamente como DA e em mais de 85% dos casos confirmados patologicamente como DA (160). Em segundo lugar, nos estudos de PET-FDG, as reduções de TMCG precedendo o início dos sintomas de DA em indivíduos predispostos geneticamente também são bem documentadas; por exemplo, os portadores do APOE ϵ 4. Assim, portadores assintomáticos quando comparados com os não portadores da APOE ϵ 4, apresentam significantes reduções TMCG nas mesmas regiões cerebrais afetadas pela DA (principalmente neocórtex parietal lateral, neocórtex temporal lateral, pré-cúneo e o giro do cíngulo posterior) (161-163).

Alguns estudos de PET-FDG conseguiram monitorar a progressão de sujeitos cognitivamente normais para o comprometimento cognitivo leve (CCL) e a DA, demonstrando que as reduções da TMCG precedem o início da demência por muitos anos (148, 164-166) e predizem o declínio cognitivo para CCL/DA com mais de 80% de acurácia (164, 165). Os indivíduos que converteram para CCL e DA apresentaram maiores reduções da TMCG quando comparados aos não conversores (148, 164-166). Essa progressiva redução da TMCG foi acompanhada anos antes dos sintomas clínicos desses indivíduos, os quais realizaram exames de PET-FDG longitudinais, a partir da cognição normal, para o diagnóstico clínico e, por fim, a confirmação *post-mortem* de DA (148).

1.6 Neuroimagem funcional e fatores de risco cardiovascular

Os FRCV, tais como HAS, DM, HCL e obesidade são altamente prevalentes na população idosa e representam importante impacto no desempenho cognitivo (56, 120, 167); além de serem reconhecidos como fator de risco não somente para DV, mas também para DA (63, 168-172). Outras evidências a partir de estudos *post-mortem* e ressonância magnética (RM) já indicaram que as lesões cerebrais de origem vascular, tais como hiperintensidades da substância branca, acidente vascular cerebral e infartos lacunares, estão significativamente associadas com a DA (173-175). Além disso, a presença do APOE $\epsilon 4$ é importante fator de risco não somente para DA, mas também para a DCV (170, 176). Esse conjunto de evidências reforça que os mecanismos vasculares possivelmente desempenham um papel crítico na patofisiologia da DA (177-179).

Estudos com indivíduos sem demência, avaliando as alterações da TMCG relacionadas aos altos níveis de FRCV devem proporcionar suporte à “hipótese vascular” para DA, principalmente se as mudanças funcionais estiverem localizadas nas mesmas áreas acometidas primariamente na DA. Para essas proposições, o único grande estudo de PET-FDG foi realizado recentemente por Reiman et al. (2010), os quais pesquisaram significantes associações entre os níveis de colesterol total e a TMCG em 117 indivíduos cognitivamente normais (47 a 68 anos de idade). A amostra foi subdividida em homozigotos (n=24), heterozigotos (n=38) e não portadores (n=55) para o APOE $\epsilon 4$. Maiores níveis de colesterol total foram associados com

menores TMCG bilateralmente em pré-cúneo, neocórtex parietal lateral (abrangendo o lóbulo parietal superior, o giro angular e o giro supramarginal), neocórtex temporal lateral (envolvendo o giro temporal superior) e o córtex pré-frontal lateral (incluindo o giro frontal superior), com o perfil de alterações funcionais cerebrais geralmente encontrado em sujeitos com DA leve (180). Esses autores ainda postularam que os maiores níveis de colesterol, particularmente associados com a presença do APOE $\epsilon 4$, aumentam o risco de DA por acelerar as mudanças cerebrais ocorridas no envelhecimento normal.

Estudos adicionais com amostras modestas descreveram achados de hipometabolismo cerebral regional com PET-FDG em associação com outros FRCV, incluindo: resistência à insulina (181), obesidade (182) e HAS (183). Esses estudos demonstraram significantes associações entre aqueles fatores de risco e a redução do metabolismo cerebral de glicose, acometendo pré-cúneo, giro do cíngulo posterior, neocórtex parietal lateral e neocórtex temporal lateral (181, 183), assim como o córtex pré-frontal lateral (182, 183).

Os FRCV raramente ocorrem de forma isolada na população idosa (184, 185) e, portanto, a metodologia que investiga somente um fator de risco no metabolismo cerebral de glicose torna-se limitada. *The Framingham Coronary Heart Disease Risk* (FCHDR), conhecido como o escore de risco de Framingham para DCV, é uma combinação de medidas que leva em conta os múltiplos fatores de risco (tais como a idade, gênero, pressão sanguínea, níveis de colesterol total e lipoproteína de alta densidade [high-

density lipoprotein, HDL]-colesterol, assim como a presença de tabagismo e DM) para avaliar o risco global que o indivíduo apresenta para DCV no futuro (186). O escore de risco é largamente utilizado em estudos epidemiológicos de populações idosas (187, 188). Até o presente momento, somente um estudo de PET-FDG usou esta estratégia, Kuczynski et al. (2009) determinaram as medidas de metabolismo de glicose regional e o risco cardiovascular calculado pelo escore FCHDR numa amostra relativamente grande de sujeitos idosos (n=58, idade acima de 55 anos), focando especialmente o lobo frontal. Esses autores observaram a associação inversa significativa entre os escores FCHDR e os valores da TMCG em diferentes porções no lobo frontal, incluindo o córtex pré-frontal lateral (giro frontal superior e córtex pré-frontal ventrolateral) e o córtex pré-frontal medial (giro frontal medial superior e giro frontal orbital superior) (189). No entanto, é necessária a cautela para a interpretação desses achados como relacionados especificamente a déficits funcionais causados diretamente pelos efeitos dos FRCV no cérebro, tendo em vista que a amostra desse estudo incluiu uma proporção de indivíduos com demência; além de não ter sido avaliada para o impacto da presença de APOE ϵ 4.

Assim, se estudos subsequentes, usando os mais recentes avanços dos métodos automatizados de processamento e análise das imagens do metabolismo cerebral adquiridas pelo PET-FDG, confirmassem o mesmo padrão regional de déficits cerebrais funcionais entre sujeitos com maior risco cardiovascular e pacientes em estágios iniciais da DA, levando-se em conta o efeito da presença do gene APOE ϵ 4, isso proporcionaria a

evidência anatômica-funcional direta que os FRCV são fatores de risco importante para o desenvolvimento de mudanças cerebrais *DA-like* (190-193). Dessa forma, tais achados sustentariam a idéia de que as mudanças patológicas vasculares deveriam agir como desencadeadores de processo neurodegenerativo que caracteriza a DA (50, 107, 194-199).

2. OBJETIVOS

Este estudo teve como meta caracterizar as alterações do metabolismo cerebral de glicose associadas aos FRCV, utilizando a técnica de neuroimagem funcional (PET-FDG) e métodos de análise voxel-a-voxel, em indivíduos acima dos 65 anos de idade, sem sintomas de demência ou comprometimento cognitivo leve, recrutados da comunidade de baixa renda, situada na região oeste da cidade de São Paulo.

Os objetivos foram os seguintes:

Gerais

- 1- Comparar o metabolismo cerebral de glicose em repouso de acordo com o grau de risco cardiovascular;
- 2- Comparar o metabolismo cerebral de glicose em repouso de acordo com o grau de risco cardiovascular com a análise adicional do efeito da presença do APOE ϵ 4;

Específico

Investigar o padrão regional de hipometabolismo cerebral de glicose associado aos FRCV, comparando-se os três grupos (baixo-risco, médio-risco e alto-risco) de acordo com o grau de risco cardiovascular determinado pelo escore FCHDR.

3. HIPÓTESES

As hipóteses do presente estudo foram:

- 1- Nas comparações entre os grupos, o hipometabolismo cerebral de glicose estaria presente naqueles de maior risco cardiovascular;
- 2- O padrão regional de hipometabolismo cerebral de glicose associado ao elevado risco cardiovascular seria o mesmo identificado nos estágios iniciais de DA, envolvendo regiões cerebrais do pré-cúneo, giro do cíngulo posterior, complexo amígdala-hipocampo, giro parahipocampal, neocórtex parietal lateral e neocórtex temporal lateral, mesmo considerando o efeito da presença do APOE ϵ 4.
- 3- O padrão regional de hipometabolismo cerebral de glicose associado ao elevado risco cardiovascular também envolveria as regiões cerebrais do córtex pré-frontal medial e do córtex pré-frontal lateral, conforme a literatura de neuroimagem funcional em FRCV.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos

O presente estudo constituiu de um subprojeto da pesquisa intitulada “Alterações cerebrais associadas a fatores de risco cardiovascular: um estudo de base populacional usando morfometria voxel-a-voxel por ressonância magnética e medidas de metabolismo de glicose por tomografia por emissão de pósitrons”, coordenado pelo Prof. Dr. Geraldo Busatto Filho e pela Profa. Tânia Correa de Toledo Ferraz Alves (Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, CAPPesq, protocolo 450/05).

A aprovação do projeto pelo CAPPesq foi obtida por pesquisadores da equipe do projeto citado acima para as avaliações clínicas, entrevistas estruturadas, ressonância magnética, tomografia por emissão de pósitrons e teste de genotipagem. Os participantes foram recrutados da amostra de base epidemiológica que teve origem no estudo “A epidemiologia da demência e Doença de Alzheimer em populações miscigenadas no Brasil e em Cuba” (*the São Paulo Ageing & Health [SPAH] Study*) dos Profs. Márcia Scazufca e Paulo Rossi Menezes (CAPPesq protocolo 257/02 CONEP 25000.079110/2002-03). Os sujeitos receberam, por escrito, informações detalhadas sobre a natureza, os métodos e os objetivos do estudo. Após o esclarecimento de todas as dúvidas, foi solicitada a assinatura do termo de consentimento informado. Para as pessoas analfabetas foi lida a folha de

informação e o consentimento, e elas foram então convidadas a expressar o seu consentimento verbalmente, que foi testemunhado, mas não foi solicitada assinatura a um termo que não pudessem ler. As informações foram confidenciais, e foram protegidas as identidades dos sujeitos nas publicações que decorreram do estudo. Foi garantido o acesso às informações individuais e os participantes foram assegurados da possibilidade de interrupção de participação a qualquer momento, se assim a desejassem.

4.2 Desenho experimental

Este foi um estudo controlado de corte transversal, que usou o método de análise automatizado voxel-a-voxel para comparar o padrão regional do metabolismo cerebral de glicose, investigado pelo PET-FDG cerebral em repouso, de acordo com o grau de risco cardiovascular, numa amostra de idosos acima de 65 anos de idade sem demência ou comprometimento cognitivo leve.

4.3 Amostra

4.3.1 Determinação do tamanho da amostra

Inicialmente determinou-se o número suficiente de participantes para compor a amostra a fim de se detectar o efeito de interesse. A partir de estudos prévios que determinaram a TMCG com PET-FDG em idosos sem prejuízo cognitivo (180, 200), consideramos o tamanho do efeito de 0,40. Com a probabilidade de erro $\alpha = 0,05$ e o poder estatístico de 0,80, o

tamanho da amostra foi calculado com o programa *G*Power3* (201, 202), chegando-se na estimativa de 60 sujeitos, tendo-se como objetivo alcançarem no mínimo 15 sujeitos de cada grupo de risco cardiovascular definido pelo escore FCHDR.

4.3.2 Seleção dos sujeitos da amostra

Este estudo foi realizado numa subamostra desenhada a partir do conjunto de 248 voluntários idosos sem demência (faixa etária de 66 a 75 anos) recrutados para o recém-publicado estudo de ressonância magnética (RM) para análise de morfometria (203), o qual tinha como objetivo investigar as mudanças do volume da substância cinzenta (SC) de acordo com diferentes níveis de FRCV definidos pelo escore FCHDR, durante a segunda fase do *SPAH Study*.

O conjunto de potenciais candidatos para o estudo de RM foi criado inicialmente depois da inspeção do banco de dados epidemiológico da primeira fase do *SPAH Study* com dois propósitos: avaliação de critérios de inclusão e exclusão, sendo prontamente excluídos os sujeitos que faltavam os dados para calcular o escore FCHDR (gênero, idade, medidas de PA, dosagem de níveis de colesterol total, HDL-colesterol e glicemia, e identificação do tabagismo).

Brevemente, *SPAH Study* foi uma investigação epidemiológica que identificou uma população de 2072 indivíduos acima de 65 anos, de baixa renda, moradores da região de Butantã, na cidade de São Paulo, com objetivo principal de determinar a prevalência e os fatores de risco para a

demência, usando o protocolo transcultural desenvolvido por 10/66 *Dementia Research Group* (18, 204, 205). Essa população foi cadastrada, entrevistada e avaliada em dois momentos (primeira fase: *baseline* e segunda fase: *follow-up* de dois anos) por uma bateria de exames (protocolos clínicos e neuropsicológicos), através da abordagem porta a porta em todos os domicílios da região.

Para a composição da amostra o estudo de PET-FDG, houve várias etapas no processo seletivo dos participantes, a saber:

1. O *SPAH Study* apresentava inicialmente (período: 2003 a 2005) a participação de 2072 sujeitos, dos quais 1155 já foram prontamente excluídos: todos os participantes com idade acima de 75 anos no momento do recrutamento para o estudo de RM (n= 996); assim como aqueles que não completaram a segunda fase do *SPAH Study* e estavam sem a classificação do escore FCHDR (n= 107); e indivíduos com relato de transtornos neuropsiquiátricos (n=52). Assim, 917 indivíduos potencialmente elegíveis para o estudo de RM estavam classificados de acordo com o risco cardiovascular avaliado pelo escore FCHDR em três grupos: baixo-risco (24%), médio-risco (36,4%) e alto-risco (39,1%).

2. Dos 917 sujeitos, 103 não tinham contato e os 814 indivíduos foram contactuados para triagem, via telefone, com a finalidade de convidá-los a participar do estudo de RM e checar a presença de contra-indicações clínicas ou propriamente para o exame de RM (presença de próteses de metal, marcapasso ou clipe vascular e claustrofobia; doenças no SNC: sequela de DCerV, tumor, hidrocefalia, traumatismo crânio encefálico ou

epilepsia; e presença de outras condições médicas gerais, tais como doenças da tireóide, Doença de Cushing, neoplasias, insuficiência renal, insuficiência hepática e insuficiência cardíaca grave). Nesta etapa, 309 sujeitos foram excluídos e, assim, 608 eram potencialmente elegíveis para o estudo.

3. O exame de RM foi realizado num total de 248 participantes idosos sem demência com idade entre 66-75 anos (mulher: 134/ homem: 114) divididos de acordo com risco cardiovascular em 58 sujeitos com baixo-risco, 88 sujeitos com médio-risco e 102 sujeitos com alto-risco. Esse conjunto de 248 sujeitos foi representativo, em termos do perfil sociodemográfico, a população de indivíduos acima de 65 anos (n=2072) dos setores censitários pré-definidos na área economicamente menos privilegiada da cidade de São Paulo. O total de 73 sujeitos foi excluído devido a vários motivos: lesões cerebrais silenciosas (48 casos de infartos lacunares, 3 casos de meningioma e 2 casos de malformação cerebrovascular); artefatos de movimento durante a aquisição da imagem (n=4) e presença de transtornos cognitivos ou psiquiátricos (n=16).

4. A partir de 175 participantes que realizaram o exame de RM, 57 indivíduos foram excluídos do exame de PET (critérios de exclusão descritos no texto adiante).

5. Um conjunto de 118 indivíduos foram elegíveis para o exame de PET, sendo 39 sujeitos (31 mulheres e 8 homens) com baixo-risco, 46 sujeitos (27 mulheres e 19 homens) com médio-risco e 33 (3 mulheres e 30 homens) sujeitos com alto-risco cardiovascular. Assim, os contatos por

telefone foram feitos consecutivamente até se obter uma amostra de 60 indivíduos divididos proporcionalmente nos três grupos de risco cardiovascular: baixo-risco, médio-risco e alto-risco.

6. Por fim, o total de 60 indivíduos realizou o exame de PET-FDG; porém um sujeito foi excluído do estudo devido ao artefato de imagem, resultando em 59 participantes distribuídos em 18 sujeitos (11 mulheres e 7 homens) com baixo-risco, 21 sujeitos (10 mulheres e 11 homens) com médio-risco e 20 (2 mulheres e 18 homens) sujeitos com alto-risco cardiovascular.

O fluxograma da **Figura 1** sintetiza as informações sobre a seleção da amostra do estudo.

Figura1 - Fluxograma para a seleção da amostra do estudo

Legenda: SPAHA: *São Paulo Ageing & Healthy study*; RM: ressonância magnética; PET: tomografia por emissão de pósitrons.

4.3.3 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão são todos os participantes das duas avaliações do *SPAH Study* (*baseline* e *follow-up* de dois anos) que tiverem lateralidade direita, divididos de acordo com o risco cardiovascular definido pelo escore de FCHDR.

4.3.3.1 Escore *Framingham Coronary Heart Disease Risk* (FCHDR)

O escore FCHDR é o modelo de predição de risco para DCV amplamente aplicado em diversas modalidades de pesquisa:

- estudos de coorte longitudinais (206, 207) e transversais (208) que investigam o declínio cognitivo no processo de envelhecimento associado ao risco cardiovascular;
- estudos em culturas de células angiogênicas para o entendimento do envolvimento dos fatores vasculares na patogênese da DA (209, 210);
- estudos em neuroimagem estrutural com RM, avaliando associação entre as alterações cerebrais de origem vascular (hiperintensidades de substância branca) e DCV (108, 211);
- estudo de neuroimagem funcional investigando associação entre fluxo sanguíneo cerebral (212) ou metabolismo cerebral de glicose (189) e os FRCV.

O resultado do algoritmo FCHDR permite prever a probabilidade de DVC na população geral, a partir dos achados do *Framingham Heart Study*. Esse estudo prospectivo foi realizado em uma grande coorte baseada na

comunidade com 2489 homens e 2856 mulheres de 30 a 74 anos de idade que foram acompanhados por 12 anos (avaliação inicial: 1971-1974). Ao longo desse período, um total de 383 homens e 227 mulheres desenvolveu a DCV, a qual foi significativamente associada com categorias de pressão arterial, colesterol total, lipoproteína de baixa intensidade (LDL)-colesterol e HDL-colesterol (todos $p < 0,001$). As equações de predição específica para o gênero foram formuladas para prever o risco de DCV de acordo com a idade, diabetes, tabagismo, categorias de pressão arterial do *Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure V* (213) e categorias de colesterol do *National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults II* (214).

O critério pelo FCHDR proporciona uma medida combinada única indicativa do risco cardiovascular (em porcentagem) de um dado indivíduo para os próximos 10 anos (215). Assim, os FRCV que compõem este critério são: 1) idade (anos), 2) gênero, 3) HAS (mmHg), 4) colesterol (frações de lipoproteínas de baixa densidade - LDL e de alta densidade - HDL), 5) Tabagismo e 6) DM.

O DM foi determinado quando o nível de glicose sérica fosse ≥ 126 mg/dl e/ou uso de insulina ou hipoglicemiantes orais. Os valores de colesterol foram obtidos pelo método enzimático colesterol oxidase. Para avaliação da pressão arterial, com participante sentado, foram realizadas três aferições com o esfigmomanômetro digital Omron modelo HEM-712-C, pelo menos 1h sem ingestão de café ou ter fumado. Foram considerados os

valores de pressão arterial das duas últimas aferições e calculados com uma média aritmética. Por fim, o hábito de tabagismo foi questionado. A partir do cálculo do FCHDR, os participantes foram divididos em três grupos de risco cardiovascular: baixo-risco ($<9\%$), médio-risco ($10-19\%$) e alto-risco ($>20\%$). As **Figuras 2 e 3** mostram o cálculo do risco cardiovascular, conforme o gênero.

Figura 2 - Cálculo do risco cardiovascular para os homens

Figura 2. O escore de doença coronariana para homens usando categorias de idade, colesterol total (CT) ou LDL-colesterol, HDL-colesterol, pressão arterial, diabetes e tabagismo. Estima-se o risco de doença coronariana no período de 10 anos baseado na experiência de Framingham em homens de 30 a 74 anos de idade. O risco idealizado baseando-se com ótima pressão arterial, CT 160 a 199 mg/dl (LDL 100 a 129 mg/dl), HDL de 45 mg/dl em homens, não-diabéticos e não-tabagistas. Pts indica os pontos. Fonte: Wilson PW et al. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. Circulation, 1998.

Figura 3 - Cálculo do risco cardiovascular para as mulheres

Figura 3. O escore de doença coronariana para mulheres usando categorias de idade, colesterol total (CT) ou LDL-colesterol, HDL-colesterol, pressão arterial, diabetes e tabagismo. Estima-se o risco de doença coronariana no período de 10 anos baseado na experiência de Framingham em mulheres de 30 a 74 anos de idade. O risco idealizado baseando-se com ótima pressão arterial, CT 160 a 199 mg/dl (LDL 100 a 129 mg/dl), HDL de 55 mg/dl em mulheres, não-diabéticos e não-tabagistas. Pts indica os pontos. Fonte: Wilson PW et al. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. Circulation, 1998.

4.3.4 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão desse estudo incluem: a presença de quadro demencial primário de acordo com os critérios diagnósticos do *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders - 4th edition* (DSM-IV), identificação do DM, analfabetismo, contra-indicações para o exame de RM (citadas anteriormente), doenças no SNC (citadas anteriormente), histórico de transtornos psiquiátricos maiores, incluindo transtornos psicóticos, transtornos depressivos recorrentes, transtorno bipolar de humor, dependência de álcool e/ou outras substâncias que não nicotina e transtorno obsessivo compulsivo; antecedente familiar de demência e presença de outras condições médicas (citadas anteriormente).

4.4 Avaliações

4.4.1 Entrevistas e medidas obtidas pela equipe epidemiológica

Foram aproveitados, para o presente estudo, os dados obtidos pela equipe epidemiológica no seguimento de dois anos da amostra do *SPAH Study*, a partir das entrevistas realizadas nas casas dos participantes e avaliações no Hospital Universitário, incluindo os seguintes procedimentos:

a) A identificação dos casos de demência e outros transtornos psiquiátricos seguiram o protocolo desenvolvido pelo 10/66 *Dementia Research Group* (18, 205). Avaliação clínica estruturada do participante foi realizada com o instrumento 'Estado Mental Geriátrico' (*Geriatric Mental State*; GMS - uma avaliação clínica do estado mental), o 'Instrumento para Rastreamento de Demência na Comunidade' (*Community Screening*

Instrument for Dementia; CSI-D) (216) instrumento com duas partes: um componente para um rastreamento cognitivo breve, e uma história breve com informante sobre o possível declínio funcional e cognitivo), tarefa de aprendizado com a lista de dez palavras, com lembrança tardia, e avaliação neurológica estruturada breve com medidas objetivas e quantificáveis de sinais de lateralidade, parkinsonismo, ataxia, apraxia e liberação de reflexos primitivos.

O critério utilizado para identificar o CCL, após exclusão dos sujeitos com demência, foi de presença de desempenho cognitivo no escore cognitivo total de 1,5 desvios padrão abaixo da média da população do estudo epidemiológico com a mesma faixa etária.

A partir dos dados da avaliação cognitiva com o participante, foi extraído um escore cognitivo total (cogscore) utilizando todos os testes da bateria cognitiva envolvendo memória, linguagem, praxia, orientação e pensamento abstrato. O escore total ponderado possui 33 itens e a pontuação varia de 0 a 34 pontos, sendo que quanto menor escore pior desempenho cognitivo. A entrevista realizada com o informante é feita para saber o estado funcional do idoso nas atividades diárias avalia a memória, cognição, desempenho nas atividades diárias e depressão. No escore total não ponderado do informante (relscore) a pontuação final é de 0 a 16 pontos, sendo que quanto maior o escore pior o desempenho funcional (217).

No momento da validação do CSI-D pelo “Grupo de Pesquisa em Demência 10/66”, foi excluído um item da avaliação cognitiva utilizando

assim 32 itens. Para obter o escore cognitivo (cogscore) foi utilizado a soma total dos 32 itens e multiplicado por um fator de correção (igual a 1,03125), para compensar assim o item excluído (217). Para o rastreio de caso de demência, um escore final ponderado (dfscore) é resultante da combinação entre os dois escores, cogscore e relscore. Um teste que faz parte também dos testes do *Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease* (CERAD) (218) é a habilidade do participante relatar nomes de animais em um minuto, foi usado para avaliar a fluência verbal.

b) Avaliação física dos participantes, incluindo questionário médico geral, exame físico, medidas de pulso, nível da pressão arterial, eletrocardiograma e índice de massa corpórea.

c) Exames sanguíneos: hemograma, glicemia, albumina, triglicérides, colesterol e frações.

d) Entrevista com o informante, a fim de documentar histórico de declínio cognitivo no participante, e excluir a presença de demência, usando o instrumento *History and Aetiology Schedule Dementia Diagnosis and Subtype* (HAS-DDS - avaliação mais detalhada do início e curso da síndrome demencial). RUDAS (The Rowland Universal Dementia Assessment Scale) – avaliação cognitiva com validação transcultural (219).

Por fim, no dia da aquisição da imagem de RM foram repetidas as seguintes avaliações: questionário médico geral, exame físico, medidas de pulso, nível da pressão arterial, eletrocardiograma e índice de massa corpórea pela equipe da Cardiologia; ao passo que a equipe diretamente responsável pelas avaliações de neuroimagem do presente estudo realizou

entrevistas com sujeitos e pelo menos um informante, com os seguintes instrumentos: (a) Entrevista semi-estruturada (“Entrevista Clínica Estruturada para o DSM-IV – Transtorno do Eixo I”) (220) a fim de excluir a presença de co-morbidades psiquiátricas de acordo com os critérios diagnósticos do DSM-IV; (b) Escala de Depressão de Hamilton 21 itens (HAM-21) (221) para avaliação e quantificação de sintomas depressivos.

4.4.2 Genotipagem: identificação do alelo $\epsilon 4$ da APOE

Dados de genotipagem para APOE não estavam disponíveis para dois dos 59 indivíduos (um no grupo baixo-risco e outro no grupo médio-risco cardiovascular), resultando em uma amostra de 57 sujeitos para as análises que levaram em conta esta variável.

Para a genotipagem da APOE, o ácido desoxirribonucléico (DNA) genômico foi extraído do sangue venoso anticoagulado com EDTA pelo método *salting out* (222, 223). A concentração de DNA extraído foi determinada por medidas de espectrofotometria. Cinco microlitros de DNA extraído foi diluído 1:50 em *TE* 0,2X (Tris-ETDA) e quantificado por leitura da densidade óptica em espectrofotômetro no comprimento de onda $\lambda=260\text{nm}$. A absorção foi medida tanto na solução denominado branco (somente *TE* 0,2X), quanto em soluções de DNA diluídas a 260nm usando Gene Quant (Amersham Pharmacia). Uma unidade de absorbância (A_{260}) corresponde a 50ug de DNA de dupla fita por ml. Depois da quantificação, o DNA foi diluído para a concentração de trabalho de 10ng/uL. Os polimorfismos polinucleotídeos simples (PPS) (rs429358 e RS7412) que determinam as

isoformas do APOE (APOE2, APOE3 e APOE4) foram genotipadas pelo *Prevention Genetics* (<http://www.preventiongenetics.com>) usando o sistema de genotipagem PPS Amplifluor (*Chemicon International*, Temecula, Califórnia). Os testes para o desvio de *Hardy-Weinberg equilibrium* (HWE) foram realizados para toda amostra do *SPAH Study* e os dois *loci* que foram testados, não desviaram do HWE. A lei de *Hardy-Weinberg* constitui o sistemático ponto de referência em Genética de Populações e prevê as frequências genotípicas iguais aos produtos probabilísticos entre as frequências genéticas respectivas; ou seja, a probabilidade de encontrar um genótipo, por exemplo, AA na população é igual à probabilidade de dois cromossomos tomados ao acaso numa amostragem de gametas (um masculino e outro feminino) serem ambos A. O HWE é baseado em premissas de cruzamentos aleatórios, ausência de mutação, migração, deriva genética, seleção e tamanho infinito das populações. Se houver algum desvio das frequências observadas em relação às frequências esperadas no equilíbrio, este é devido a alguma violação dessas premissas (224).

Em relação aos procedimentos para o controle de qualidade, a genotipagem de todos os indivíduos foi realizada no laboratório do Programa de Genética e Farmacogenética (PROGENE, Departamento de Psiquiatria da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, coordenado pelo Prof. Homero Pinto Vallada Filho) antes do envio das amostras para *Prevention Genetics*. O grau de discrepância entre a genotipagem da PROGENE e a da *Prevention Genetics* foi abaixo de 2% e neste estudo, os

resultados obtidos nas análises foram feitas pela *Prevention Genetics*. Foi considerado o *status* positivo para APOE4 como a presença de no mínimo um alelo $\epsilon 4$ no genótipo, incluindo tanto os portadores heterozigotos como homozigotos.

4.4.3 Aquisição de dados de ressonância magnética estrutural

As imagens de RM foram adquiridas no Instituto de Radiologia (InRad) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), usando o aparelho da marca *General Electric*, modelo Signa LX, com campo magnético de 1,5T (Milwaukee, Wisconsin, USA).

O protocolo de aquisição consistiu em:

- 1)** uma sequência de imagens em eco gradiente 3D (*Spoiled Gradient Recalled Acquisition* – SPGR) volume, com tempo de eco (*Time Echo* – TE) de 5,2 ms, tempo de repetição (*Time Repetition* – TR) de 21,7 ms, ângulo 20 graus, campo de visão (*Field of View* – FOV) 22 cm, espessura de corte 1,5 mm, número de medidas (NEX) de 1; tamanho da matriz 256 x 192 para obter 124 imagens englobando todo o cérebro;
- 2)** uma sequência axial T2 *fast spin echo* com 88 imagens, TE de 12,5 ms. TR de 4200 ms, *echo-train length* de 16, e espessura de corte de 5 mm;
- 3)** e uma sequência de eco em duplo spin para obtenção de imagens no plano axial em T2 e em densidade de prótons com 120 imagens, TE de 25

ms, TR de 2800 ms, e espessura de corte de 5 mm , com o intuito de detectar lesões neuro-radiológicas grosseiras (axial PD/T2).

4.4.4 Aquisição de imagens de PET cerebral

Em média, os exames de PET-FDG foram realizados $11,7 \pm 7,15$ meses depois da aquisição das imagens de RM. No momento da avaliação de PET-FDG, todos os participantes foram reexaminados, permanecendo cognitivamente preservados. Não houve diferença significativa na média de intervalos de tempo entre os exames de RM e PET-FDG nos três grupos ($p=0,596$).

Neste estudo, as imagens do metabolismo de glicose em repouso foram adquiridas usando equipamento de PET-CT dedicado com detectores LSO para o PET e conjunto de 16 detectores para a tomografia computadorizada (Biograph-16, Siemens) do setor de Medicina Nuclear do Hospital do Coração, Associação Sanatório Sírio.

O paciente foi posicionado em decúbito dorsal, com mínimo de estímulo visual e/ou auditivo. Um acesso venoso periférico é obtido com 15 minutos de antecedência à administração da glicose marcada.

Os exames foram realizados com administração intravenosa de FDG fornecido pelo Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares (IPEN). A dose administrada é de 370 MBq (10 mCi), em condição de jejum de 12 horas. Antes da administração do FDG, dosagem sanguínea de glicose em jejum é obtida para confirmar níveis normais de glicemia.

Após administração da FDG aguarda-se período de 60 minutos que corresponde ao pico de acúmulo da glicose marcada no cérebro.

Inicialmente, foram adquiridas as imagens de CT, para correção de atenuação e para co-registro anatômico-funcional com as imagens de PET. Após aquisição das imagens de tomografia computadorizada (CT), iniciou-se a aquisição das imagens de PET, com matriz de 256 x 256, zoom de 2,5, filtro FWHM de 2,5 mm, e 15 minutos de tempo de aquisição.

As imagens foram reconstruídas por método de reconstrução iterativa, com 6 iterações e com 16 *subsets*, re-alinhadas conforme a orientação da linha virtual que interliga a comissura anterior e posterior, nos planos transversal, coronal e sagital.

4.5 Processamento das imagens cerebrais

Nesse estudo, inicialmente, todas as imagens de PET e RM adquiridas, foram convertidas do padrão DICOM para o padrão ANALYZE, que é o padrão mais utilizado nos processamentos de imagens. Esta conversão foi realizada utilizando o programa MRlcro desenvolvido por Chris Rorden (<http://www.cabiatl.com/mricro>).

Após a conversão das imagens de PET e RM para o padrão ANALYZE, foi realizado o pré-processamento das imagens de RM a fim de melhorar o registro com as imagens de PET, descrito em detalhes a seguir.

4.5.1 Pré-processamento das imagens de RM

Estudos reforçam a importância do pré-processamento das imagens de RM a fim de melhorar o registro e segmentação das imagens (225-227).

No registro da imagem funcional de um indivíduo com a sua imagem estrutural, é possível observar que as regiões extracerebrais (pele, osso, gordura, olhos, etc.) têm pouca captação de marcador radioativo. Desse modo, a qualidade do registro da imagem funcional pode ser melhorada removendo as regiões extracerebrais da imagem estrutural antes de se fazer o registro com a imagem funcional (225).

Recentemente, Pereira et al. (2010) ressaltaram a importância do pré-processamento das imagens de RM, principalmente em estudos baseados em morfometria voxel-a-voxel (*Voxel Based Morphometry* - VBM) ao investigar o processo de envelhecimento e atrofia focal/generalizada das demências. Notaram que há perda da sensibilidade dos resultados devido ao mau registro das imagens pela ausência do pré-processamento (226). A partir dessa evidência, todas as imagens de RM foram pré-processadas, envolvendo etapas de remoção do tecido extracerebral e normalização da intensidade da imagem, conforme o protocolo de Pereira et al.

Primeiramente, todas as imagens de RM tiveram o seu tecido extracerebral removido usando a técnica de *Hybrid Watershed Algorithm* (HWA) (227), implementada no programa *FreeSurfer* v.3.04 (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu>) e desenvolvida pelo *Athinoula A. Martinos Center for Biomedical Imaging, Massachusetts, USA*.

Após a extração do tecido extracerebral das imagens de RM pelo HWA, todas as imagens foram checadas a fim de se fazer o controle de

qualidade desta etapa. Segundo Pereira et al., esta etapa é importante, pois dependendo da qualidade do sinal da imagem RM, o HWA pode ser invasivo em demasia, ou mesmo, deixar muito tecido extracerebral. Neste estudo, em alguns casos, houve esta necessidade de se fazer a edição da imagem de RM usando as ferramentas do próprio *FreeSurfer*. Em seguida, foi realizada a normalização da intensidade das imagens, usando o algoritmo N3 (228), também implementado no programa *FreeSurfer*. Por fim, com o objetivo de remover qualquer outro tecido que tenha persistido após o HWA, como por exemplo, seio venoso, uma extração fina nas imagens foi feita com a ferramenta *Brain Extraction Tool* (BET) (225), implementada no programa *FSL*, desenvolvido pelo *Analysis Group, FMRI, Oxford, UK* (<http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl>).

4.5.2 Protocolo do processamento das imagens de RM e PET

Para o processamento das imagens de RM e PET seguiu-se a sequência do protocolo abaixo:

1- as imagens de RM e PET foram reorientadas da convenção radiológica para a convenção neurológica e tiveram a sua coordenada de origem x,y,z (0,0,0) definida como sendo a comissura anterior, conforme o Atlas Estereotático do Cérebro Humano de *Talairach e Tournoux* (1988) (229);

2- para realizar a correção do efeito de volume parcial pelo programa PVE-lab, as imagens de PET e RM precisam ter o mesmo tamanho de

matriz e mesma dimensão de voxels, assim, todas as imagens foram interpoladas para voxel isotrópico de 2x2x2 mm;

3- as imagens de PET foram corrigidas para o efeito de volume parcial (*Partial Volume Effect* - PVE) utilizando a técnica para correção proposta por Meltzer (230), e implementada no programa PVE-lab (<http://nru.dk/downloads/software>). Para realizar esta correção, o PVE-lab realiza inicialmente o coregistro da imagem de PET do indivíduo com a sua imagem de RM (sem o compartimento extracerebral) correspondente, e em seguida, ele realiza a segmentação da imagem de RM coregistrada em SC, substância branca (SB) e líquido céfalo-raquidiano (LCR). Após estas etapas, o programa realiza convoluções entre as imagens de RM segmentadas e a imagem de PET.

O PVE é uma aparente redução do metabolismo da SC atrofiada e preservação metabólica artificial em regiões com reduções de SC menos pronunciada (231). Isso ocorre por causa do espalhamento do radionuclídeo entre as estruturas adjacentes, ocorrendo a contaminação de voxels da SC com SB e LCR (230). Assim, a correção do PVE é de fundamental relevância para diferenciar alterações cerebrais do envelhecimento e dos quadros patológicos; porém só recentemente tem se dado atenção para esse aspecto metodológico.

4- as imagens de PET corrigidas para PVE foram normalizadas espacialmente para um molde anatômico customizado de RM da própria amostra. Este molde customizado foi obtido através do processamento das imagens de RM sem o tecido extracerebral, utilizando o protocolo de VBM

mais recente da literatura (232). Primeiramente, as imagens de RM foram processadas usando o modelo de segmentação unificada do SPM5 (233), que utilizando o modelo probabilístico do *International Consortium for Brain Mapping* (http://www.loni.ucla.edu/ICBM/ICBM_TissueProb.html), integra em uma única função, normalização espacial, segmentação dos compartimentos cerebrais (SC, SB, LCR), correção de viés e modulação Jacobiana. A partir destas imagens segmentadas, o molde customizado foi obtido utilizando a caixa de ferramentas *Diffeomorphic Anatomical Registration using Exponentiated Lie algebra* (DARTEL) (232), implementada no SPM5. O registro de imagens difeomórfico implementado no DARTEL prevê uma melhor precisão anatômica comparada aos métodos anteriores para VBM (234, 235). Utilizando as imagens segmentadas (SC, SB, LCR), inicialmente é criada uma imagem média, em seguida as imagens são deformadas para esta média. Após de três iterações de deformação, uma nova imagem média é criada. Todo este procedimento é repetido seis vezes. A cada repetição deste procedimento, ocorre uma redução da regularização, daí a quantidade da função objetiva, além da diferença média convencional quadrada, a probabilidade multinomial, fornece uma deformação mais nítida. Este molde obtido é então adequado ao padrão de coordenadas_{xyz} do MNI (*Montreal Neurologic Institute*), que é o padrão de coordenadas usado pelo SPM.

Por fim, este molde customizado foi utilizado para normalizar as imagens de PET corrigidas pelo PVE, e estas imagens foram suavizadas com filtro Gaussiano de 12 mm.

A escolha de usar um filtro Gaussiano de 12 mm foi baseada no fato de que tal grau de suavização fornece uma ótima relação sinal-ruído de dados de imagens de RM para uma distribuição normal, bem como para compensar parte da perda de dados suportados pela normalização espacial (236, 237). Todo processamento está exemplificado na **Figura 4** abaixo.

Figura 4 - Fluxograma do processamento das imagens de PET

Legenda: rRM: imagem de RM interpolada; prm: parâmetro; rPET: imagem de PET interpolada.

4.6 Análises estatísticas dos dados

4.6.1 Análises estatísticas dos dados sociodemográficos, clínicos, cognitivos e genéticos da amostra

As comparações estatísticas entre os três grupos (baixo-risco, médio-risco e alto-risco), classificados para o grau de risco cardiovascular de

acordo com o escore FCHDR, em termos dos dados sociodemográficos, clínicos, cognitivos e genéticos foram realizadas com o programa *Statistical Package for the Social Sciences for Windows* (SPSS, versão 17), utilizando o teste de qui-quadrado (χ^2) para as variáveis categóricas e o teste de análise de variância (ANOVA) para as variáveis contínuas. Limiar para as diferenças estatisticamente significativas com $p < 0,05$.

4.6.2 Análises estatísticas dos dados de metabolismo cerebral de glicose

A princípio, com o interesse de investigar as diferenças significativas do metabolismo cerebral de glicose entre os três grupos de risco cardiovascular (baixo-risco, médio-risco e alto-risco) classificados de acordo com o escore FCHDR, conduziu-se a análise de covariância (ANCOVA) usando o programa SPM5. Essa investigação voxel-a-voxel foi realizada usando como variáveis de confusão: gênero e intervalo de tempo entre as aquisições das imagens de RM e PET-FDG. Com o propósito de considerar as diferenças de metabolismo cerebral de glicose entre os indivíduos, a captação regional de FDG foi padronizada para a média da captação global usando o escalonamento proporcional. A fim de reduzir o número de comparações estatísticas, somente voxels com intensidade de sinal acima de 50% da média global entraram na análise estatística. Os mapas estatísticos paramétricos foram visualizados em um nível de significância estatística de $Z > 2,33$ (correspondente a $p < 0,01$, não corrigido para comparações múltiplas). Os achados foram considerados significativos a

partir de um limiar estatístico de escores $Z \geq 3,09$ (correspondente a $p \leq 0,001$, não corrigido para comparações múltiplas).

Os mapas estatísticos paramétricos da ANCOVA foram inspecionados para a presença de agrupamentos de voxels com as reduções significativas de TMCG associados ao elevado risco cardiovascular nas regiões cerebrais previstas *a priori* com déficits funcionais tanto nos estágios iniciais de DA (pré-cúneo, giro do cíngulo posterior, complexo amígdala-hipocampo, giro parahipocampal, neocórtex parietal lateral e neocórtex temporal lateral), quanto nos relatos da literatura sobre neuroimagem funcional em FRCV (córtex pré-frontal medial e do córtex pré-frontal lateral).

A análise das hipóteses das regiões *a priori* foram conduzidas com o auxílio da caixa de ferramenta *Small Volume Correction* (SVC), implementada dentro do programa SPM, a fim de restringir o número total de voxels a serem inspecionados. Dessa forma, cada região prevista *a priori* foi delimitada usando-se máscaras de regiões cerebrais espacialmente normalizadas, extraídas a partir da caixa de ferramentas *Anatomical Automatic Labeling*, também implementada para o SPM. A ferramenta do SVC permite que sejam testadas hipóteses *a priori*, com correção para as regiões de interesse pré-determinadas, em vez do uso de uma correção para a quantidade total de voxels do encéfalo todo. Esta nova análise faz com que o valor estatístico da região selecionada, seja corrigido para um número menor de voxels, aumentando o seu valor estatístico e diminuindo o risco de falso-negativos (238).

Foram utilizadas as seguintes máscaras anatômicas: amígdala direita (248 voxels) e amígdala esquerda (219 voxels); hipocampo direito (849 voxels) e hipocampo esquerdo (811 voxels); giro parahipocampal direito (818 voxels) e giro parahipocampal esquerdo (681 voxels); pré-cúneo direito (2184 voxels) e pré-cúneo esquerdo (2200 voxels); giro do cíngulo posterior direito (222 voxels) e giro do cíngulo posterior esquerdo (393 voxels); neocórtex temporal lateral direito (2427 voxels) e neocórtex temporal lateral esquerdo (2788 voxels), envolvendo os giros temporal superior, médio e inferior; neocórtex parietal lateral direito (1787 voxels) e neocórtex parietal lateral esquerdo (1692 voxels), abrangendo o lóbulo parietal superior e giros angular e supramarginal; pré-frontal lateral direito (4989 voxels) e pré-frontal lateral esquerdo (4493 voxels); e pré-frontal medial direito (1693 voxels) e pré-frontal medial esquerdo (1942 voxels), estendendo-se para o giro do cíngulo anterior).

Todos os achados foram considerados significativos nessas regiões cerebrais previstas *a priori* somente se sobrevivessem a correção para comparações múltiplas *Family-Wise Error* (FWE) com $p_{FWE} < 0,05$, após a aplicação da ferramenta SVC (239).

Considerando que o teste estatístico F é um teste não-direcional, comparações estatísticas voxel-a-voxel do metabolismo cerebral de glicose entre dois grupos foram realizadas nessas mesmas regiões cerebrais previstas *a priori* com a ferramenta SVC, utilizando o teste t. Além disso, foi realizada uma investigação por todo o cérebro para achados significantes em outras áreas não previstas *a priori* ter alteração. Tais achados foram

relatados como significantes somente se sobrevivessem a correção para comparações múltiplas com $p_{FWE} < 0,05$.

Subsequentemente, correlações lineares voxel-a-voxel entre os valores de TMCG e os escores FCHDR foram calculadas para toda a amostra. As análises de correlação baseadas no SVC foram conduzidas com as mesmas máscaras anatômicas descritas acima. Achados significativos nas análises de correlação somente foram reportados se sobrevivessem à correção para comparações múltiplas ($p_{FWE} \leq 0,05$).

Com o propósito de realizar análises exploratórias e também dar suporte à principal hipótese da contribuição dos FRCV no metabolismo cerebral, foram realizadas as seguintes investigações:

a) cada componente do escore FCHDR foi avaliado independentemente a fim de se determinar o efeito metabólico individual de cada FRCV; assim, as variáveis contínuas (idade, níveis de colesterol total, HDL-colesterol, PA sistólica, PA diastólica e glicemia) foram analisadas através das correlações lineares voxel-a-voxel, enquanto que as variáveis categóricas (tabagismo e gênero) foram analisadas através de comparações dois a dois para amostras independentes (grupo de tabagistas comparado ao grupo de não-tabagistas e grupo de homens comparado ao grupo de mulheres), utilizando o teste t;

b) comparações estatísticas voxel-a-voxel do metabolismo cerebral de glicose entre dois grupos de risco cardiovascular (grupo baixo+médio-risco e grupo alto-risco) foram conduzidas utilizando o teste t a fim de se obter o efeito metabólico em condições extremas de risco cardiovascular.

Nessas análises exploratórias, foram investigadas as mesmas regiões cerebrais previstas *a priori* com a ferramenta SVC e o limiar para significância estatística foi de $p_{FWE} \leq 0,05$, corrigido para comparações múltiplas.

Finalmente, a fim de investigar o impacto das variações do genótipo APOE nos achados de metabolismo cerebral de glicose, todas as análises acima foram repetidas, incluindo a presença ou ausência do alelo $\epsilon 4$ da APOE como covariável de interesse.

As coordenadas do padrão MNI dos voxels com maior significância estatística foram convertidas para o sistema do Atlas de *Talairach & Tournoux* (229, 240).

5 Resultados

5.1 Dados sociodemográficos da amostra total (n=59)

A amostra total de 59 participantes que realizaram o exame de PET-FDG foi dividida em três grupos de acordo com o risco cardiovascular pelo escore FCHDR (baixo-risco, médio-risco e alto-risco) e suas características sociodemográficas estão apresentadas na **Tabela 1**.

Os grupos baixo-risco, médio-risco e alto-risco cardiovascular não apresentaram diferenças estatisticamente significantes quanto à idade, escolaridade e classificação sócio-econômica (critério ABIPEME) (241). Foram observadas diferenças significativas entre os grupos somente em relação ao gênero, com predominância de mulheres no grupo baixo-risco e maior prevalência de homens no grupo de alto-risco cardiovascular. Vale ressaltar que os dados sociodemográficos encontrados nesse estudo de PET-FDG mostraram similar distribuição em termos de média de idade, gênero e anos de educação em relação ao conjunto maior de indivíduos selecionado para o estudo de RM.

Tabela 1– Características sociodemográficas da amostra total classificada de acordo com o risco cardiovascular (pelo escore FCHDR), ao exame de PET-FDG

	Baixo-risco (n=18)	Médio-risco (n=21)	Alto-risco (n=20)	Testes estatísticos	p
Média de Idade ($\pm$ DP) em anos	72,01 ($\pm$ 2,68)	71,62 ($\pm$ 2,39)	72,78 ($\pm$ 2,75)	1,05 ^a	0,358 ^c

Feminino (%) / Masculino (%)	11 (61,1) / 7 (38,9)	10 (47,6) / 11 (52,4)	2 (10,0) / 18 (90,0)	11,43 ^b	0,003 ^c
Média de escolaridade ($\pm$ DP) em anos	5,44 ($\pm$ 3,94)	5,57 ($\pm$ 3,56)	4,10 ($\pm$ 3,42)	1,01 ^a	0,372 ^c
Classificação sócio- econômica (A/B/C/D/E) ¹	0/2/8/5/3	0/2/8/11/0	0/1/14/4/1	10,29 ^b	0,113 ^c

Legenda: DP: desvio-padrão.

¹ Classificação sócio-econômica pelo critério da ABIPME

^a valor de F para análise de variância (ANOVA)

^b qui-quadrado

^c significância estatística

5.2 Dados clínicos da amostra total (n=59)

Para toda a amostra foi determinado o escore do risco para desenvolver a DCV a partir de cada FRCV que compõe o escore FCHDR e, assim, os participantes foram divididos em três grupos: baixo-risco, médio-risco e alto-risco. Como esperado, houve diferenças estatisticamente significantes em termos de: níveis de LDL-colesterol e HDL-colesterol ($p=0,004$ e $p=0,046$, respectivamente); PA sistólica e PA diastólica ($p<0,001$ e $p=0,002$, respectivamente); e glicemia ($p=0,048$) nos três grupos, exceto para o tabagismo.

As características clínicas dos grupos estão dispostas na **Tabela 2**.

Tabela 2 – Características clínicas da amostra total classificada de acordo com o risco cardiovascular (pelo escore FCHDR), ao exame de PET-FDG

	Baixo-risco (n=18)	Médio-risco (n=21)	Alto-risco (n=20)	Testes estatísticos	P
Escore FCHDR ($\pm$ DP)	6,28 ($\pm$ 1,81)	9,43 ($\pm$ 2,86)	11,75 ($\pm$ 1,68)	29,25 ^a	<0,001 ^c
LDL-Colesterol ($\pm$ DP)	106,72 ($\pm$ 23,29)	117,48 ($\pm$ 36,92)	131,55 ($\pm$ 26,79)	3,30 ^a	0,044 ^c

HDL-Colesterol ($\pm$ DP)	64,22 ($\pm$ 13,29)	54,38 ($\pm$ 14,88)	54,45 ($\pm$ 12,32)	3,27 ^a	0,046 ^c
Pressão arterial sistólica ($\pm$ DP)	127,33 ($\pm$ 18,03)	148,14 ($\pm$ 31,18)	163,70 ($\pm$ 21,68)	10,38 ^a	<0,001 ^c
Pressão arterial diastólica ($\pm$ DP)	78,83 ($\pm$ 9,08)	83,14 ($\pm$ 12,02)	92,08 ($\pm$ 11,88)	7,06 ^a	0,002 ^c
Glicemia ($\pm$ DP)	95,00 ($\pm$ 9,85)	101,00 ($\pm$ 9,43)	103,60 ($\pm$ 12,42)	3,21 ^a	0,048 ^c
Tabagista (%)	1 (5,6)	5 (23,8)	4 (20,0)	2,49 ^b	0,287 ^c

Legenda: FCHDR: *Framingham Coronary Heart Disease Risk*; LDL: *low density lipoprotein*; HDL: *high density lipoprotein* e DP: desvio-padrão.

^a valor de F para análise de variância (ANOVA)

^b qui-quadrado

^c significância estatística

5.3 Dados cognitivos da amostra total (n=59)

A amostra de participantes identificada como sem demência ou comprometimento cognitivo leve foi examinada a partir de vários instrumentos citados anteriormente, inclusive a avaliação cognitiva do indivíduo (cogscore), dados do informante (relscore) e fluência verbal, na ausência de transtorno depressivo (pela Escala de Depressão de HAM-21). Não houve diferenças significativas para as características cognitivas entre os três grupos (teste ANOVA, $F < 1,86$ e $p > 0,165$).

As características cognitivas estão apresentadas na **Tabela 3**.

Tabela 3 – Características cognitivas da amostra total classificada de acordo com o risco cardiovascular (pelo escore FCHDR), ao exame de PET-FDG

	Baixo-risco (n=18)	Médio-risco (n=21)	Alto-risco (n=20)	Testes estatísticos	p
Cogscore ($\pm$ DP)	30,19 ($\pm$ 2,21)	30,23 ($\pm$ 1,30)	30,07 ($\pm$ 2,74)	0,03 ^a	0,973 ^b
Fluência verbal ($\pm$ DP)	15,44 ($\pm$ 4,79)	16,24 ($\pm$ 4,66)	14,05 ($\pm$ 3,94)	1,25 ^a	0,294 ^b
Relscore ($\pm$ DP)	0,64 ($\pm$ 0,89)	0,60 ($\pm$ 0,94)	0,65 ($\pm$ 0,56)	0,03 ^a	0,975 ^b
Cogscore+ Relscore ($\pm$ DP)	-0,03 ($\pm$ 0,04)	-0,03 ($\pm$ 0,04)	-0,03 ($\pm$ 0,05)	0,04 ^a	0,959 ^b
Escala de HAM-21 ($\pm$ DP)	1,67 ($\pm$ 3,24)	1,14 ($\pm$ 1,82)	0,35 ($\pm$ 0,67)	1,86 ^a	0,165 ^b

Legenda: DP: desvio-padrão e HAM-21: Hamilton 21 itens (Escala de depressão)

Cogscore (cognição do participante)

Relscore (cognição a partir do informante)

^a valor de F para análise de variância (ANOVA)

^b significância estatística

5.4 Dados da genotipagem da amostra de 57 sujeitos

Na amostra total de 59 participantes que realizaram o exame de PET-FDG, a genotipagem não estava disponível para dois indivíduos (um do grupo baixo-risco e o outro do grupo médio-risco cardiovascular), resultando, assim, num conjunto de 57 sujeitos com a investigação do APOE ϵ 4.

Nota-se, na **Tabela 4**, que o alelo ϵ 4 da APOE foi identificado em 11 participantes, todos heterozigotos. Não houve diferença quanto à presença do APOE ϵ 4 entre os três grupos ($p=0,271$).

Vale ressaltar que um padrão similar de diferenças sociodemográficas e clínicas foi encontrado quando feita a inspeção nos três grupos após a exclusão dos dois sujeitos sem o dado da genotipagem do APOE ϵ 4. Desse modo, a distribuição do gênero entre os três grupos permaneceu desbalanceada: baixo-risco (feminino/masculino)= 11/6; médio-risco=10/10 e alto-risco= 2/18 ($\chi^2=12,62$, $p=0,002$). Os níveis de LDL-colesterol e pressões arteriais sistólicas e diástólicas continuaram com diferenças estatisticamente significativas entre os três grupos ($F=3,23$, $p=0,047$; $F=9,49$, $p<0,001$ e $F=6,06$, $p=0,004$, respectivamente). Ocorreram também tendências nas comparações entre grupos em relação aos níveis de HDL-colesterol e glicemia ($F=3,04$, $p=0,056$ e $F=3,07$, $p=0,055$, respectivamente).

Tabela 4 – Dados da genotipagem do APOE ϵ 4 da amostra de 57 sujeitos classificados de acordo com o risco cardiovascular (pelo escore FCHDR)

	Baixo-risco (n=17)	Médio-risco (n=20)	Alto-risco (n=20)	Testes estatísticos	P
Presença do alelo ϵ 4 (%)	3 (17,6)	6 (30,0)	2 (10,0)	2,61 ^a	0,271 ^b

Legenda: DP: desvio-padrão.

^a qui-quadrado

^b significância estatística

5.5 Achados de neuroimagem em PET-FDG: análises voxel-a-voxel

5.5.1 Comparações de TMCG entre três grupos classificados de acordo com risco cardiovascular e correlações lineares entre valores de TMCG e escores FCHDR

A investigação das diferenças de TMCG entre os três grupos de risco cardiovascular (baixo-risco [n=18]; médio-risco [n=21] e alto-risco [n=20]), usando a ANCOVA (com variáveis de confusão: gênero e intervalo de tempo entre as aquisições das imagens de RM e PET-FDG), mostrou uma tendência à significância estatística em uma das regiões onde a diferença de captação de FDG foi prevista *a priori*: neocórtex parietal lateral direito (número de voxels=129; valor de $Z=3,49$; área de Brodmann [BA]= 39/40; coordenadas_{xyz}=46, -57, 30; valor do teste $F=9,76$ e $p_{FWE}=0,075$, corrigido para as comparações múltiplas).

Quando os grupos foram comparados dois a dois, pelo teste t para amostras independentes, diferenças significativas ($p<0,05$, corrigido para comparações múltiplas) ocorreram em vários agrupamentos de voxels em regiões previstas *a priori*. Em comparação ao grupo baixo-risco, o grupo alto-risco cardiovascular apresentou reduções de TMCG significativas nas seguintes regiões cerebrais: neocórtex parietal lateral direito ($p_{FWE}=0,027$); pré-cúneo esquerdo ($p_{FWE}=0,012$); giro do cíngulo posterior direito ($p_{FWE}=0,018$) e esquerdo ($p_{FWE}=0,004$); e neocórtex temporal lateral direito ($p_{FWE}=0,022$). Ao passo que, nessa mesma comparação, houve tendências

à significância estatística de redução de TMCG no grupo alto-risco cardiovascular para as regiões do pré-cúneo direito (número de voxels=103; valor de $Z=3,25$; área de Brodmann [BA]=7/23/31; coordenadas_{xyz}=2,-47,36; valor do teste $t=3,54$ e $p_{FWE}=0,074$, corrigido para as comparações múltiplas) e do pré-frontal lateral esquerdo (número de voxels=196; valor de $Z=3,68$; área de Brodmann [BA]=10/46; coordenadas_{xyz}=-40,30,15; valor do teste $t=4,11$ e $p_{FWE}=0,064$, corrigido para as comparações múltiplas). Os achados significativos de neuroimagem foram detalhados na **Tabela 5** e ilustrados na **Figura 5**.

Ao contrário do esperado, houve também um foco de redução de TMCG significativo no grupo baixo-risco em relação ao grupo alto-risco cardiovascular no giro parahipocampal direito ($p_{FWE}=0,031$) (**Tabela 5** e **Figura 6**).

Não houve diferença significativa nas comparações pelo teste t do grupo médio-risco tanto com a amostra de alto-risco quanto à amostra de baixo-risco cardiovascular nas áreas com hipóteses *a priori*. Vale ressaltar que nenhum achado estatisticamente significativo foi observado na inspeção exploratória de outras regiões cerebrais não preditas nas hipóteses.

Por fim, a análise de correlação linear voxel-a-voxel entre os valores de TMCG e os escores FCHDR da amostra total revelou a presença de focos de significante correlação positiva envolvendo o giro parahipocampal bilateralmente (direito: $p_{FWE}=0,022$ e esquerdo: $p_{FWE}=0,034$) (**Tabela 5** e **Figura 7**).

Tabela 5 – Achados das alterações significativas do metabolismo cerebral de glicose nas comparações entre os grupos baixo-risco e alto-risco cardiovascular, e nas correlações lineares entre os valores de TMCG e os escores FCHDR da amostra total (n=59), incluindo o gênero e o intervalo entre os exames RM/PET-FDG como variáveis de confusão.

Regiões cerebrais (SVC) ¹	Hemisfério	Áreas de Brodmann	K ²	P _{FWE-} corrigido ³	T ⁴	Z ⁵	P ⁶ _{não-} corrigido	Coordenadas x,y,z ⁷
<i>Focos de redução significativa de TMCG no grupo alto-risco quando comparado ao grupo baixo-risco cardiovascular</i>								
Neocórtex parietal lateral	Direito	7/39/40	240	0,027	4,25	3,78	<0,001	44 -59 31
Pré-cúneo	Esquerdo	7/23/31	458	0,012	4,37	3,86	<0,001	-6 -43 37
Giro do cíngulo posterior	Direito	23/31	22	0,018	3,41	3,14	0,001	2 -49 30
	Esquerdo	23/31	91	0,004	4,09	3,66	<0,001	-4 -47 32
Neocórtex temporal lateral	Direito	39	12	0,022	4,44	3,92	<0,001	50 -55 23
<i>Foco de redução significativa de TMCG no grupo baixo-risco quando comparado ao grupo alto-risco cardiovascular</i>								
Giro parahipocampal	Direito	36	50	0,031	3,59	3,28	0,001	30 -30 -14
<i>Focos de correlação positiva significativa entre valores de TMCG e escores FCHDR</i>								
Giro parahipocampal	Direito	36	67	0,022	3,57	3,37	<0,001	30 -30 -14

Esquerdo	36	73	0,034	3,33	3,17	0,001	-26 -32 -14

Legenda: TMCG: taxa de metabolismo cerebral de glicose; FCHDR: *Framingham Coronary Heart Disease Risk*.

¹ Cada região cerebral prevista *a priori* foi circunscrita usando a ferramenta *small volume correction* (SVC) com máscaras de volume de interesse anatomicamente definidas.

² Número de voxels contíguos que ultrapassam o limite inicial de $p < 0,01$ (não corrigido) nos mapas estatísticos.

³ Significância estatística depois de correção para comparações múltiplas; inferências foram realizadas ao nível dos voxels individualmente (*family-wise error correction*, FWE) (Friston et al., 1996).

⁴ Valor do Escore T para o voxel de maior significância estatística dentro do agrupamento de voxels.

⁵ Valor do Escore Z para o voxel de maior significância estatística dentro do agrupamento de voxels.

⁶ Significância estatística sem correção para comparações múltiplas.

⁷ Coordenadas xyz do Atlas de *Talairach & Tournoux* (1998) do voxel de máxima significância estatística dentro de cada agrupamento de voxels.

Figura 5 - Resultados da pesquisa de todo o cérebro para reduções no metabolismo de glicose no grupo alto-risco (n= 20) quando comparado ao grupo baixo-risco cardiovascular (n= 18), com significância estatística para escores $Z > 2,33$ (correspondendo a $p < 0,01$, não corrigido para comparações múltiplas)

Focos de significância estatística visualizados sobre cortes cerebrais sagitais normalizados espacialmente para o Atlas Estereotático do Cérebro Humano

(Talairach & Tournoux, 1988). Os números associados a cada corte do cérebro correspondem à coordenada do eixo X do referido Atlas. A escala corresponde ao valor do escore Z de pico de maior significância estatística. Os focos de redução significativa de metabolismo cerebral de glicose incluem o gênero e o intervalo entre os exames RM/PET-FDG como variáveis de confusão. Foram encontradas as seguintes regiões cerebrais *a priori* com SVC: neocórtex parietal lateral (Pa) direito, pré-cúneo (PCu) esquerdo, giro do cíngulo posterior (CP) direito e esquerdo e neocórtex temporal lateral (TL) direito; após a correção para múltiplas comparações ($p_{FWE} < 0,05$).

Legenda: A: anterior; P: posterior; S: superior; I: inferior; Pa: neocórtex parietal lateral; PCu: pré-cúneo; CP: giro do cíngulo posterior; TL: neocórtex temporal lateral.

Figura 6 - Resultado da pesquisa de todo o cérebro para redução no metabolismo de glicose no grupo baixo-risco (n= 18) quando comparado ao grupo alto-risco cardiovascular (n= 20), com significância estatística para escores $Z > 2,33$ (correspondendo a $p < 0,01$, não corrigido para comparações múltiplas)

Foco de significância estatística visualizados sobre cortes cerebrais sagitais normalizados espacialmente para o Atlas Estereotático do Cérebro Humano (Talairach & Tournoux, 1988). Os números associados a cada corte do cérebro

correspondem à coordenada do eixo X do referido Atlas. A escala corresponde ao valor do escore Z de pico de maior significância estatística. O foco de redução significativa de metabolismo cerebral de glicose inclui o gênero e o intervalo entre os exames RM/PET-FDG como variáveis de confusão. Foi encontrada a região cerebral *a priori* com SVC: giro parahipocampal (GPh) direito; após a correção para múltiplas comparações ($p_{FWE} < 0,05$).

Legenda: A: anterior; P: posterior; S: superior; I: inferior; GPh: giro parahipocampal.

Figura 7 - Resultados da pesquisa de todo o cérebro para significativa correlação linear voxel-a-voxel entre os valores de TMCG e os escores FCHDR da amostra total de participantes idosos sem demência ou comprometimento cognitivo leve ($n=59$), com significância estatística para escores $Z > 2,33$ (correspondendo a $p < 0,01$, não corrigido para comparações múltiplas)

Focos de significância estatística visualizados sobre cortes cerebrais sagitais normalizados espacialmente para o Atlas Estereotático do Cérebro Humano (Talairach & Tournoux, 1988). Os números associados a cada corte do cérebro correspondem à coordenada do eixo X do referido Atlas. A escala corresponde ao valor do escore Z de pico de maior significância estatística. Os focos de significativa correlação positiva glicose incluem o gênero e o intervalo entre os exames RM/PET-FDG como variáveis de confusão. Foram encontradas as seguintes regiões cerebrais *a priori* com SVC: giro parahipocampal (GPh) direito e esquerdo; após a correção para múltiplas comparações ($p_{FWE} < 0,05$).

Legenda: A: anterior; P: posterior; S: superior; I: inferior; GPh: giro parahipocampal.

5.5.1.1 Análises dos dados de imagem de PET-FDG com a covariância para a presença ou ausência do alelo $\epsilon 4$ da APOE

Quando as análises SPM foram repetidas, incluindo a presença ou a ausência do alelo $\epsilon 4$ da APOE como covariada, a investigação da ANCOVA para as diferenças de TMCG entre os três grupos mostrou achado significativo inesperado no giro parahipocampal direito ($p_{FWE} = 0,032$), disposto na **Tabela 6** e na **Figura 8**. Já nas comparações entre dois grupos, reduções de TMCG significativas foram detectadas no grupo alto-risco quando comparado ao grupo baixo-risco cardiovascular no pré-cúneo esquerdo ($p_{FWE} = 0,008$) e giro do cíngulo posterior esquerdo ($p_{FWE} = 0,007$). Ao passo que, nessa mesma comparação, houve tendências à significância estatística de redução de TMCG no grupo alto-risco cardiovascular para regiões do neocórtex parietal lateral direito (número de voxels=256; valor de $Z = 3,55$; área de Brodmann [BA]=7/39/40; coordenadas_{xyz}=44,-59,32; valor do teste $t = 3,97$ e $p_{FWE} = 0,056$, corrigido para as comparações múltiplas) e do neocórtex temporal lateral direito (número de voxels=10; valor de $Z = 3,66$; área de Brodmann [BA]=39; coordenadas_{xyz}=50,-55,23; valor do teste $t = 4,11$ e $p_{FWE} = 0,052$, corrigido para as comparações múltiplas). Os achados

significativos de neuroimagem foram detalhados na **Tabela 6** e ilustrados na **Figura 9**.

Novamente, ao contrário do esperado, focos de reduções de TMCG no grupo baixo-risco em relação ao grupo alto-risco cardiovascular foram detectados no giro parahipocampal em ambos os hemisférios direito ($p_{FWE}=0,001$) e esquerdo ($p_{FWE}=0,045$) (**Tabela 6 e Figura 10**).

A correlação linear positiva significativa entre os valores de TMCG e os escores FCHDR também permaneceram com significância estatística no giro parahipocampal em ambos os hemisférios direito ($p_{FWE}=0,007$) e esquerdo ($p_{FWE}=0,025$) (**Tabela 6 e Figura 11**).

Tabela 6 - Achados das alterações significativas do metabolismo cerebral de glicose nas comparações entre os grupos (baixo-risco, médio-risco e alto-risco cardiovascular) e nas correlações lineares entre os valores de TMCG e escores FCHDR da amostra de 57 participantes, incluindo o gênero e o intervalo entre os exames RM/PET-FDG como variáveis de confusão e a presença ou ausência do APOE ε4 como covariada.

Regiões cerebrais (SVC) ¹	Hemisfério	Áreas de Brodmann	K ²	P _{FWE-} corrigido ³	F/T ⁴	Z ⁵	P ⁶ _{não-} corrigido	Coordenadas x,y,z ⁷
<i>Foco de redução significativa de TMCG na comparação entre os três grupos: baixo-risco, médio-risco e alto-risco cardiovascular</i>								
Giro parahipocampal	Direito	35/36	34	0,032	9,00	3,32	<0,001	32 -26 -17
<i>Focos de redução significativa de TMCG no grupo alto-risco quando comparado ao grupo baixo-risco cardiovascular</i>								
Pré-cúneo	Esquerdo	7/23/31	401	0,008	4,60	4,00	<0,001	-6 -43 37
Giro do cíngulo posterior	Esquerdo	23/31	71	0,007	3,89	3,50	<0,001	-4 -47 32
<i>Focos de redução significativa de TMCG no grupo baixo-risco quando comparado ao grupo alto-risco cardiovascular</i>								
Giro parahipocampal	Direito	35/36	133	0,001	5,08	4,32	<0,001	32 -26 -17
	Esquerdo	35/36	66	0,045	3,38	3,10	0,001	-26 -30 -15
<i>Focos de correlação positiva significativa entre valores de TMCG e escores FCHDR</i>								
Giro parahipocampal	Direito	35/36	114	0,007	4,00	3,72	<0,001	30 -30 -14

Esquerdo	35/36	95	0,025	3,47	3,27	0,001	-26 -32 -14

Legenda: TMCG: taxa de metabolismo cerebral de glicose; FCHDR: *Framingham Coronary Heart Disease Risk*

¹ Cada região cerebral prevista *a priori* foi circunscrita usando a ferramenta *small volume correction* (SVC) com máscaras de volume de interesse anatomicamente definidas.

² Número de voxels contíguos que ultrapassam o limite inicial de $p < 0,01$ (não corrigido) nos mapas estatísticos.

³ Significância estatística depois de correção para comparações múltiplas; inferências foram realizadas ao nível dos voxels individualmente (*family-wise error correction*, FWE) (Friston et al., 1996).

⁴ Valor do Escore T ou F para o voxel de maior significância estatística dentro do agrupamento de voxels.

⁵ Valor do Escore Z para o voxel de maior significância estatística dentro do agrupamento de voxels.

⁶ Significância estatística sem correção para comparações múltiplas.

⁷ Coordenadas xyz do Atlas de *Talairach & Tournoux* (1998) do voxel de máxima significância estatística dentro de cada agrupamento de voxels.

Figura 8 - Resultados da pesquisa de todo o cérebro para diferenças no metabolismo de glicose nos três grupos de risco cardiovascular (baixo-risco [n=17], médio-risco [n=20] e alto-risco [n=20]), incluindo a presença ou ausência do APOE ϵ 4 como covariada. A significância estatística foi para escores $Z > 2,33$ (correspondendo a $p < 0,01$, não corrigido para comparações múltiplas)

Foco de significância estatística visualizados sobre cortes cerebrais sagitais normalizados espacialmente para o Atlas Estereotático do Cérebro Humano (Talairach & Tournoux, 1988). Os números associados a cada corte do cérebro correspondem à coordenada do eixo X do referido Atlas. A escala corresponde ao valor do escore Z de pico de maior significância estatística. O foco de redução significativa de metabolismo cerebral de glicose inclui o gênero e o intervalo entre os exames RM/PET-FDG como variáveis de confusão. Foi encontrada a região cerebral *a priori* com SVC: giro parahipocampal (GPh) direito; após a correção para múltiplas comparações ($p_{FWE} < 0,05$).

Legenda: A: anterior; P: posterior; S: superior; I: inferior; GPh: giro parahipocampal.

Figura 9 - Resultados da pesquisa de todo o cérebro para reduções no metabolismo de glicose no grupo alto-risco (n= 20) quando comparado ao grupo baixo-risco cardiovascular (n= 17), incluindo a presença ou ausência do APOE ϵ 4 como covariada. A significância estatística foi para escores $Z > 2,33$ (correspondendo a $p < 0,01$, não corrigido para comparações múltiplas)

Focos de significância estatística visualizados sobre cortes cerebrais sagitais normalizados espacialmente para o Atlas Estereotático do Cérebro Humano (Talairach & Tournoux, 1988). Os números associados a cada corte do cérebro correspondem à coordenada do eixo X do referido Atlas. A escala corresponde ao valor do escore Z de pico de maior significância estatística. Os focos de redução significativa de metabolismo cerebral de glicose incluem o gênero e o intervalo entre os exames RM/PET-FDG como variáveis de confusão. Foram encontradas as seguintes regiões cerebrais *a priori* com SVC: pré-cúneo (PCu) esquerdo e giro do cíngulo posterior (CP) esquerdo; após a correção para múltiplas comparações ($p_{FWE} < 0,05$).

Legenda: A: anterior; P: posterior; S: superior; I: inferior; PCu: pré-cúneo; CP: giro do cíngulo posterior.

Figura 10 - Resultados da pesquisa de todo o cérebro para reduções no metabolismo de glicose no grupo de baixo-risco ($n= 17$) quando comparado ao grupo alto-risco cardiovascular ($n= 20$), incluindo a presença ou ausência do APOE $\epsilon 4$ como covariada. A significância estatística foi para escores $Z > 2,33$ (correspondendo a $p < 0,01$, não corrigido para comparações múltiplas)

Focos de significância estatística visualizados sobre cortes cerebrais sagitais normalizados espacialmente para o Atlas Estereotático do Cérebro Humano (Talairach & Tournoux, 1988). Os números associados a cada corte do cérebro correspondem à coordenada do eixo X do referido Atlas. A escala corresponde ao valor do escore Z de pico de maior significância estatística. Os focos de redução significativa de metabolismo cerebral de glicose incluem o gênero e o intervalo entre os exames RM/PET-FDG como variáveis de confusão. Foram encontradas as seguintes regiões cerebrais *a priori* com SVC: giro parahipocampal (GPh) direito e esquerdo; após a correção para múltiplas comparações ($p_{FWE} < 0,05$).

Legenda: A: anterior; P: posterior; S: superior; I: inferior; GPh: giro parahipocampal.

Figura 11 - Resultados da pesquisa de todo o cérebro para significativa correlação linear voxel-a-voxel entre os valores de TMCG e os escores FCHDR da amostra total de participantes idosos sem demência ou comprometimento cognitivo leve ($n=57$), incluindo a presença ou ausência do APOE $\epsilon 4$ como covariada. A significância estatística foi para escores $Z > 2,33$ (correspondendo a $p < 0,01$, não corrigido para comparações múltiplas)

Focos de significância estatística visualizados sobre cortes cerebrais sagitais normalizados espacialmente para o Atlas Estereotático do Cérebro Humano (Talairach & Tournoux, 1988). Os números associados a cada corte do cérebro correspondem à coordenada do eixo X do referido Atlas. A escala corresponde ao valor do escore Z de pico de maior significância estatística. Os focos de significativa correlação positiva glicose incluem o gênero e o intervalo entre os exames RM/PET-FDG como variáveis de confusão. Foram encontradas as seguintes regiões cerebrais *a priori* com SVC: giro parahipocampal (GPh) direito e esquerdo; após a correção para múltiplas comparações ($p_{FWE} < 0,05$).

Legenda: A: anterior; P: posterior; S: superior; I: inferior; GPh: giro parahipocampal.

5.5.2 Análises exploratórias

5.5.2.1 A contribuição de cada FRCV do escore FCHDR no metabolismo cerebral de glicose

A investigação do efeito metabólico de cada componente do escore FCHDR foi realizada na amostra total ($n=59$) através das correlações lineares voxel-a-voxel (idade, níveis de colesterol total, HDL-colesterol, PA sistólica, PA diastólica e glicemia) e comparações dois a dois para amostras independentes (grupo de tabagistas comparado ao grupo de não-tabagistas e grupo de homens comparado ao grupo de mulheres), considerando as mesmas regiões cerebrais previstas *a priori* com a ferramenta SVC e o limiar para significância estatística de $p_{FWE} \leq 0,05$, corrigido para comparações múltiplas.

Após as análises SPM para cada FRCV, considerando as variáveis de confusão o gênero (exceto para as comparações entre os grupos homens e mulheres) e o intervalo de tempo entre as aquisições das imagens de RM e PET-FDG, vários agrupamentos de voxels em regiões previstas *a priori* revelaram diferenças significativas ($p < 0,05$, corrigido para comparações múltiplas).

Para as análises de correlação linear voxel-a-voxel, vários focos de significantes correlações negativas estavam relacionados aos seguintes FRCV: PA sistólica, PA diastólica e glicemia. O efeito metabólico da PA sistólica envolveu as regiões cerebrais da amígdala esquerda (número de voxels=21; valor de $Z=3,19$; coordenadas_{xyz}=-16,-7,-15; valor do teste $t=3,36$ e $p_{FWE}= 0,009$, corrigido para as comparações múltiplas); do hipocampo esquerdo (número de voxels=44; valor de $Z=3,21$; coordenadas_{xyz}=-14,-7,-15; valor do teste $t=3,38$ e $p_{FWE}= 0,030$, corrigido para as comparações múltiplas) e do giro parahipocampal esquerdo (número de voxels=14; valor de $Z=3,27$; área de Brodmann [BA]= 34; coordenadas_{xyz}=-14,-7,-16; valor do teste $t=3,45$ e $p_{FWE}= 0,025$, corrigido para as comparações múltiplas). Já o efeito metabólico da PA diastólica acometeu as regiões cerebrais da amígdala esquerda (número de voxels=38; valor de $Z=3,58$; coordenadas_{xyz}=-16,-5,-15; valor do teste $t=3,82$ e $p_{FWE}= 0,003$, corrigido para as comparações múltiplas); do hipocampo esquerdo (número de voxels=37; valor de $Z=4,04$; coordenadas_{xyz}=-14,-5,-18; valor do teste $t=4,38$ e $p_{FWE}= 0,002$, corrigido para as comparações múltiplas); do giro parahipocampal direito (número de voxels=45; valor de $Z=3,22$; área de Brodmann [BA]= 34; coordenadas_{xyz}=18,1,-17; valor do teste $t=3,40$ e $p_{FWE}= 0,033$, corrigido para as comparações múltiplas) e esquerdo (número de voxels=48; valor de $Z=4,04$; área de Brodmann [BA]= 34; coordenadas_{xyz}=-14,-5,-17; valor do teste $t=4,38$ e $p_{FWE}= 0,002$, corrigido para as comparações múltiplas) e do giro do cíngulo posterior esquerdo (número de voxels=106; valor de $Z=3,21$; área de Brodmann [BA]= 23,30,31;

coordenadas_{xyz}=-2,-51,25; valor do teste $t=3,38$ e $p_{FWE}=0,016$, corrigido para as comparações múltiplas). Enquanto o efeito metabólico da glicemia atingiu as regiões cerebrais do pré-cúneo esquerdo (número de voxels=236; valor de $Z=3,40$; área de Brodmann [BA]= 7,31; coordenadas_{xyz}=-8,-63,31; valor do teste $t=3,60$ e $p_{FWE}=0,046$, corrigido para as comparações múltiplas) e do neocórtex temporal lateral esquerdo (número de voxels=543; valor de $Z=4,04$; área de Brodmann [BA]= 13,21,22,41,42; coordenadas_{xyz}=-40,-17,1; valor do teste $t=4,38$ e $p_{FWE}=0,011$, corrigido para as comparações múltiplas). Nenhum achado estatisticamente significativo foi observado tanto nas análises de correlações negativas com idade, colesterol total e HDL-colesterol, quanto nas análises de correlações positivas com idade, níveis de colesterol total, HDL-colesterol, PA sistólica, PA diastólica e glicemia. Também não houve achado significativo na inspeção exploratória de outras regiões cerebrais não preditas nas hipóteses.

Para as análises de comparações dois a dois para amostras independentes (grupo de tabagistas comparado ao grupo de não-tabagistas e grupo de homens comparado ao grupo de mulheres), as diferenças de TMCG significativas foram relacionadas somente para as comparações entre os gêneros. Assim, quando comparado ao grupo de mulheres, o grupo de homens apresentou reduções de TMCG significativas nas seguintes regiões definidas *a priori*: hipocampo direito (número de voxels=42; valor de $Z=3,19$; coordenadas_{xyz}=38,-22,-6; valor do teste $t=3,36$ e $p_{FWE}=0,032$, corrigido para as comparações múltiplas); neocórtex temporal lateral direito (número de voxels=206; valor de $Z=4,96$; área de Brodmann [BA]= 19,37,39;

coordenadas_{xyz}=42,-57,-4; valor do teste $t=5,58$ e $p_{FWE}<0,001$, corrigido para as comparações múltiplas) e esquerdo (número de voxels=409; valor de $Z=5,03$; área de Brodmann [BA]= 13,19,20,21,22,37,39,41; coordenadas_{xyz}=-44,-51,-6; valor do teste $t=5,68$ e $p_{FWE}<0,001$, corrigido para as comparações múltiplas). Ao passo que, quando comparado ao grupo de homens, o grupo de mulheres mostrou reduções de TMCG significativas nas seguintes regiões definidas *a priori*: pré-frontal lateral direito (número de voxels=730; valor de $Z=4,33$; área de Brodmann [BA]= 6,8,9,10,44,45,46; coordenadas_{xyz}=48,26,23; valor do teste $t=4,74$ e $p_{FWE}=0,006$, corrigido para as comparações múltiplas); neocórtex temporal lateral direito (número de voxels=12; valor de $Z=3,93$; área de Brodmann [BA]= 39; coordenadas_{xyz}=51,-55,23; valor do teste $t=4,24$ e $p_{FWE}=0,018$, corrigido para as comparações múltiplas); neocórtex temporal lateral esquerdo (número de voxels=69; valor de $Z=4,90$; área de Brodmann [BA]= 20,21,22,37,39; coordenadas_{xyz}=-55,-55,-4; valor do teste $t=5,51$ e $p_{FWE}<0,001$, corrigido para as comparações múltiplas); neocórtex parietal lateral direito (número de voxels=402; valor de $Z=4,24$; área de Brodmann [BA]= 7,39,40; coordenadas_{xyz}=50,-59,25; valor do teste $t=4,63$ e $p_{FWE}=0,005$, corrigido para as comparações múltiplas) e neocórtex parietal lateral esquerdo (número de voxels=425; valor de $Z=4,77$; área de Brodmann [BA]= 7,39,40; coordenadas_{xyz}=-51,-57,25; valor do teste $t=5,33$ e $p_{FWE}<0,001$, corrigido para as comparações múltiplas). Nenhum achado estatisticamente significativo foi observado na inspeção exploratória de outras regiões cerebrais não preditas nas hipóteses.

Quando todas as análises SPM acima foram repetidas, incluindo a presença ou a ausência do APOE $\epsilon 4$ como covariada, vários agrupamentos de voxels revelaram diferenças significativas ($p < 0,05$, corrigido para comparações múltiplas) nas regiões cerebrais previstas *a priori* com a ferramenta SVC.

Nas análises de correlação linear voxel-a-voxel com a covariada APOE $\epsilon 4$, vários focos de significantes correlações negativas estavam relacionados aos seguintes FRCV: idade, HDL-colesterol, PA sistólica, PA diastólica e glicemia. Assim, o efeito metabólico da idade envolveu as regiões cerebrais do pré-cúneo esquerdo (número de voxels=344; valor de $Z=3,44$; área de Brodmann [BA]= 7; coordenadas_{xyz}=-4,-64,44; valor do teste $t=3,66$ e $p_{FWE}= 0,042$, corrigido para as comparações múltiplas). Já a inesperada relação inversa de TCMG com os valores de HDL-colesterol resultou no achado significativo na região do pré-frontal medial direito (número de voxels=648; valor de $Z=3,43$; área de Brodmann [BA]= 9,10,24,32; coordenadas_{xyz}=10,43,13; valor do teste $t=3,66$ e $p_{FWE}= 0,042$, corrigido para as comparações múltiplas). A contribuição da PA sistólica no metabolismo cerebral de glicose, com análise adicional do APOE $\epsilon 4$, acabou abrangendo mais regiões cerebrais: amígdala esquerda (número de voxels=19; valor de $Z=3,30$; coordenadas_{xyz}=-16,-7,-15; valor do teste $t=3,49$ e $p_{FWE}= 0,007$, corrigido para as comparações múltiplas); hipocampo esquerdo (número de voxels=46; valor de $Z=3,41$; coordenadas_{xyz}=-14,-7,-15; valor do teste $t=3,63$ e $p_{FWE}= 0,016$, corrigido para as comparações múltiplas); giro parahipocampal direito (número de voxels=42; valor de

$Z=3,14$; área de Brodmann [BA]= 34; coordenadas_{xyz}=18,1,-17; valor do teste $t=3,31$ e $p_{FWE}= 0,043$, corrigido para as comparações múltiplas) e esquerdo (número de voxels=9; valor de $Z=3,36$; área de Brodmann [BA]= 34; coordenadas_{xyz}=-14,-5,-15; valor do teste $t=3,57$ e $p_{FWE}= 0,020$, corrigido para as comparações múltiplas); e neocórtex temporal lateral esquerdo (número de voxels=197; valor de $Z=3,69$; área de Brodmann [BA]= 20,21,22; coordenadas_{xyz}=-46,-14,-3; valor do teste $t=3,97$ e $p_{FWE}= 0,035$, corrigido para as comparações múltiplas). Enquanto que o efeito metabólico da PA diastólica manteve o envolvimento das mesmas regiões cerebrais: da amígdala esquerda (número de voxels=29; valor de $Z=3,53$; coordenadas_{xyz}=-16,-5,-15; valor do teste $t=3,77$ e $p_{FWE}= 0,003$, corrigido para as comparações múltiplas); do hipocampo esquerdo (número de voxels=39; valor de $Z=3,74$; coordenadas_{xyz}=-14,-7,-16; valor do teste $t=4,03$ e $p_{FWE}= 0,006$, corrigido para as comparações múltiplas); do giro parahipocampal direito (número de voxels=33; valor de $Z=3,09$; área de Brodmann [BA]= 34; coordenadas_{xyz}=18,1,-17; valor do teste $t=3,26$ e $p_{FWE}= 0,048$, corrigido para as comparações múltiplas) e esquerdo (número de voxels=30; valor de $Z=3,90$; área de Brodmann [BA]= 34; coordenadas_{xyz}=-14,-5,-15; valor do teste $t=4,22$ e $p_{FWE}= 0,003$, corrigido para as comparações múltiplas) e do giro do cíngulo posterior esquerdo (número de voxels=86; valor de $Z=3,11$; área de Brodmann [BA]= 23,30,31; coordenadas_{xyz}=-2,-51,27; valor do teste $t=3,27$ e $p_{FWE}= 0,021$, corrigido para as comparações múltiplas). Em relação ao efeito metabólico da glicemia, houve achado significativo somente no neocórtex temporal lateral esquerdo

(número de voxels=494; valor de $Z=3,91$; área de Brodmann [BA]= 13,21,22,41; coordenadas_{xyz}=-42,-17,3; valor do teste $t=4,24$ e $p_{FWE}=0,017$, corrigido para as comparações múltiplas). Nenhum achado estatisticamente significativo foi observado tanto nas análises de correlações negativas com colesterol total, quanto nas análises de correlações positivas com idade, níveis de colesterol total, HDL-colesterol, PA sistólica, PA diastólica e glicemia. Também não houve achado significativo na inspeção exploratória de outras regiões cerebrais não previstas nas hipóteses.

Para as análises de comparações dois a dois para amostras independentes (grupo de tabagistas comparado ao grupo de não-tabagistas e grupo de homens comparado ao grupo de mulheres) com a covariada APOEε4, as diferenças de TMCG significativas foram relacionadas somente para as comparações entre os gêneros. Assim, quando comparado ao grupo de mulheres, o grupo de homens apresentou as reduções de TMCG significativas nas mesmas regiões definidas *a priori*: hipocampo direito (número de voxels=48; valor de $Z=3,17$; coordenadas_{xyz}=38,-22,-6; valor do teste $t=3,35$ e $p_{FWE}=0,034$, corrigido para as comparações múltiplas); neocórtex temporal lateral direito (número de voxels=210; valor de $Z=4,78$; área de Brodmann [BA]= 19,37,39; coordenadas_{xyz}=42,-57,-4; valor do teste $t=5,37$ e $p_{FWE}=0,001$, corrigido para as comparações múltiplas) e esquerdo (número de voxels=424; valor de $Z=4,81$; área de Brodmann [BA]= 19,20,21,22,37,39; coordenadas_{xyz}=-44,-51,-6; valor do teste $t=5,42$ e $p_{FWE}<0,001$, corrigido para as comparações múltiplas). Ao passo que, quando comparado ao grupo de homens, o grupo de mulheres mostrou

reduções de TMCG significativas nas seguintes regiões definidas *a priori*: pré-frontal lateral direito (número de voxels=699; valor de $Z=4,28$; área de Brodmann [BA]= 8,9,10,44,45,46; coordenadas_{xyz}=48,26,23; valor do teste $t=4,70$ e $p_{FWE}=0,008$, corrigido para as comparações múltiplas); neocórtex temporal lateral direito (número de voxels=66; valor de $Z=4,71$; área de Brodmann [BA]= 19,20,21,22,37,39; coordenadas_{xyz}=-55,-55,-4; valor do teste $t=5,27$ e $p_{FWE}=0,001$, corrigido para as comparações múltiplas); neocórtex parietal lateral direito (número de voxels=372; valor de $Z=4,00$; área de Brodmann [BA]= 7,30,40; coordenadas_{xyz}=57,-12,26; valor do teste $t=4,34$ e $p_{FWE}=0,011$, corrigido para as comparações múltiplas) e esquerdo (número de voxels=389; valor de $Z=4,51$; área de Brodmann [BA]= 7,39,40; coordenadas_{xyz}=-51,-57,25; valor do teste $t=5,00$ e $p_{FWE}=0,001$, corrigido para as comparações múltiplas). Por fim, nenhum achado estatisticamente significativo foi observado na inspeção exploratória de outras regiões cerebrais não previstas nas hipóteses.

5.5.2.2 Comparações de TMCG entre dois grupos extremos quanto ao risco cardiovascular de acordo com o escore FCHDR

A amostra total de 59 participantes foi classificada para o risco cardiovascular de acordo com o escore FCHDR em três grupos: baixo-risco ($n=18$), médio-risco ($n=21$) e alto-risco ($n=20$). Assim, para análises exploratórias das diferenças de TMCG entre as condições de baixa e alta magnitude de risco cardiovascular, essa amostra total foi reorganizada em dois grupos, a saber: baixo+médio-risco ($n=39$) e alto-risco ($n=20$). Vale

ressaltar que um padrão similar de diferenças sociodemográficas e clínicas foi encontrado quando feita a inspeção nos dois grupos (baixo+médio-risco e alto-risco). Desse modo, a distribuição do gênero permaneceu desbalanceada no grupo alto-risco (feminino/masculino)=2/18, enquanto que no grupo baixo+médio-risco a proporção feminino/masculino foi de 21/18, ($\chi^2=10,69$, $p=0,001$). Os níveis de LDL-colesterol e pressões arteriais sistólicas e diastólicas continuaram com as diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos ($t=-2,31$, $p=0,025$; $t=-3,54$, $p=0,001$ e $t=-3,55$, $p=0,001$, respectivamente).

As análises SPM exploratórias foram investigadas nas mesmas regiões cerebrais previstas *a priori* com a ferramenta SVC e o limiar para significância estatística foi de $p_{FWE} \leq 0,05$, corrigido para comparações múltiplas.

Quando os grupos foram comparados dois a dois, pelo teste t para amostras independentes, revelaram redução de TMCG significativa no grupo alto-risco em relação ao grupo baixo+médio-risco somente em uma região prevista *a priori*: hipocampo esquerdo (número de voxels=12; valor de $Z=3,09$; área de Brodmann [BA]=28; coordenadas_{xyz}=-16,-4,-12; valor do teste $t=3,25$ e $p_{FWE}=0,041$, corrigido para as comparações múltiplas).

Quando as análises de comparações dois a dois foram repetidas com a covariada APOE ϵ 4, a redução significativa de TMCG foi detectada no grupo baixo+médio-risco quando comparado ao grupo alto-risco cardiovascular no giro parahipocampal direito (número de voxels=23; valor de $Z=3,16$; área de Brodmann [BA]=36; coordenadas_{xyz}=36,-36,-12; valor do

teste $t=3,33$ e $p_{\text{FWE}}= 0,041$, corrigido para as comparações múltiplas). É importante lembrar que este achado foi detectado a partir da amostra de 57 sujeitos, os quais foram distribuídos no grupo de baixo+médio-risco ($n=37$) e no grupo alto-risco cardiovascular ($n=20$). A presença do alelo $\epsilon 4$ da APOE estava em nove participantes do grupo baixo+médio-risco e em dois no grupo alto-risco cardiovascular ($\chi^2=1,71$, $p=0,170$). Finalmente, nenhum achado estatisticamente significativo foi observado na inspeção exploratória de outras regiões cerebrais não preditas nas hipóteses.

6 DISCUSSÃO

O presente estudo descreve as alterações do metabolismo cerebral de glicose associadas aos FRCV, os quais foram analisados conjuntamente pelos critérios FCHDR, utilizando a técnica de neuroimagem funcional (PET-FDG) e métodos de análise voxel-a-voxel numa amostra de participantes idosos acima de 65 anos de idade, sem demência ou CCL, recrutados da comunidade de baixa renda, situada na região oeste da cidade de São Paulo. A relevância deste estudo de neuroimagem funcional foi esclarecer o real impacto do efeito conjunto dos FRCV no metabolismo cerebral durante o processo de envelhecimento e suas implicações patofisiológicas com a DA, tendo-se a cautela de considerar também o efeito metabólico da presença do APOE ϵ 4, principal risco genético para DA. Por conta da grande sensibilidade do exame PET-FDG, outro diferencial dessa pesquisa foram as considerações metodológicas quanto ao processamento das imagens com a implementação do pré-processamento das imagens de RM, o que melhorou a resolução espacial com o co-registro da imagem de PET com RM, e a correção do PVE das imagens de PET a fim evitar os efeitos confundidores decorrentes da atrofia cerebral regional.

6.1 Achados de neuroimagem em PET-FDG

6.1.1 Diferenças de metabolismo cerebral de glicose nas comparações entre três grupos classificados de acordo com risco cardiovascular e a correlação linear positiva entre valores de TMCG e escores FCHDR

A partir da amostra de idosos cognitivamente preservados, residentes na comunidade, o presente estudo de PET-FDG demonstrou a presença de reduções no metabolismo cerebral de glicose nas regiões do pré-cúneo, giro do cíngulo posterior, neocórtex temporal lateral e neocórtex parietal lateral em proporção ao grau de risco cardiovascular, o qual foi mensurado através do índice composto mais extensivamente validado e concebido para tal propósito, chamado de escore FCHDR.

Nossa hipótese de que as reduções do metabolismo cerebral de glicose associadas aos FRCV seriam detectadas especificamente naquelas regiões cerebrais foi construída tomando-se como base o grande número de estudos de PET-FDG em DA, os quais demonstraram atividades funcionais significativamente prejudicadas em determinadas regiões do cérebro (151-153, 155-159). Assim, os resultados de PET-FDG acrescentam evidências, indicando que existe um elevado grau de sobreposição em relação à localização cerebral dos focos de hipofunção através dos estudos de imagem de DA e FRCV (180-183, 189, 242, 243). Considerando que a amostra do presente estudo foi cuidadosamente selecionada para a exclusão de participantes com o declínio cognitivo, os resultados sugerem que os déficits metabólicos cerebrais que lembram DA, encontrados nos indivíduos que estão com o alto risco cardiovascular, não devem ser

acompanhados necessariamente pelos déficits cognitivos. Além disso, nossos achados de imagem de PET-FDG somam-se às evidências já encontradas nos estudos epidemiológicos e morfométricos de RM, os quais avaliando também indivíduos não demenciados com os índices FCHDR (203, 244, 245) reforçam a idéia de que diferentes FRCV, atuando em combinação, podem desempenhar um papel relevante no desenvolvimento da DA (173, 179, 245).

Na amostra maior proveniente do estudo de RM com idosos cognitivamente preservados, a partir da qual os grupos PET foram selecionados, os resultados de diminuição dos volumes cerebrais regionais também foram detectados em proporção direta com o grau de risco cardiovascular. Tais mudanças de volume cerebral foram localizadas no neocórtex temporal, envolvendo locais semelhantes onde os déficits funcionais do lobo temporal foram detectados no nosso estudo de metabolismo cerebral de glicose (203).

No presente estudo de PET, nós empregamos os métodos de processamento de imagens para levar em conta os efeitos de volume parcial secundários à atrofia cerebral local. Portanto, nossos achados de PET no neocórtex temporal podem ser seguramente assumidos para representar os verdadeiros déficits metabólicos, os quais são encontrados excessivamente em qualquer redução de tecido cerebral para a mesma localização. Também é interessante relatar que os achados de PET com redução de captação de FDG em proporção ao grau de risco cardiovascular foram mais extensivamente distribuídos que os descritos em nosso estudo de RM (203),

apesar do fato de que o tamanho da presente amostra foi mais modesta. Isto sugere que a PET-FDG pode desvendar os déficits de metabolismo cerebral relacionados a FRCV e localizados em regiões cerebrais acometidas na DA antes de quaisquer mudanças discretas da atrofia cerebral que podem ser detectadas em indivíduos cognitivamente preservados.

6.1.1.1 Influência do fator confundidor sobre os resultados: análises dos dados de imagem de PET-FDG com a covariância para a presença ou ausência do APOE ϵ 4

Depois de controlar para a presença do APOE ϵ 4, o fator de risco genético crítico tanto para a DA quanto para DCV, os nossos achados de padrões de hipofunção cerebral regional relacionados a FRCV mantiveram a significância estatística no pré-cúneo e no giro do cíngulo posterior, as duas regiões do cérebro onde comprometimentos funcionais são mais consistentemente detectados em estágios iniciais da doença de Alzheimer (151-153, 155). Isto fortemente sugere que os achados de hipometabolismo cerebral, semelhantes aos observados em indivíduos com DA, podem ser vistos em associação com a gravidade de FRCV em amostras de indivíduos cognitivamente preservados que não apresentam o risco genético aumentado para a DA (na medida que o genótipo APOE seja considerado). Outros achados de captação de FDG reduzida no grupo de alto-risco, envolvendo o neocórtex parieto-temporal lateral, perdeu a sua significância quando a análise foi repetida após controlar os efeitos da presença do APOE ϵ 4. Esse fato deve indicar que os resultados da captação de FDG, a qual é

reduzida mais tardiamente nessas regiões, são influenciados principalmente pela presença do APOE ϵ 4, como sugerido por estudos anteriores de PET com sujeitos não-idosos, saudáveis e cognitivamente preservados (163, 246). Uma interpretação alternativa é que essa ausência de significância estava relacionada ao poder estatístico reduzido devido à perda de um grau de liberdade e / ou o decréscimo do tamanho da amostra (como havia falta de dados de genótipo APOE em 2 indivíduos).

Várias descrições patofisiológicas têm sido propostas para explicar como os mecanismos microvasculares podem contribuir criticamente para o desenvolvimento e / ou progressão das alterações patológicas relacionadas à DA no cérebro. Resultados prévios de estudos de imagens clínicas e moleculares têm sugerido uma ligação entre FRCV, deformidades estruturais dos microvasos do cérebro (decorrentes da rigidez arterial e dos danos microvasculares) e o risco de demência (247, 248). Os déficits crônicos do fluxo sanguíneo cerebral (FSC) secundários a condições clínicas, tais como diabetes, hipertensão e aterosclerose, bem como o microembolismo cerebral associado à insuficiência cardíaca, podem levar à diminuição de oxigênio e ao suprimento de glicose para o cérebro; além de promover os distúrbios tóxicos ou metabólicos locais (249-251). Estudos moleculares têm sugerido que as mudanças microvasculares secundárias à redução crônica FSC podem desencadear as alterações neuropatológicas características da DA, tais como agregados do peptídeo beta-amilóide (252, 253). Recentemente, mais modelos moleculares têm sido propostos para explicar como a existência de defeitos circulatórios (ou seja, alterações em células do

músculo liso vascular das arteríolas meníngeas decorrentes de FRCV) poderiam levar a uma falha no essencial processo de desintoxicação cerebral, ou seja, a remoção de proteínas beta-amilóide do cérebro através da barreira hemato-encefálica (247). Finalmente, o endotélio é também um alvo potencialmente relevante para os efeitos nocivos dos FRCV e foi demonstrado que a incapacidade funcional do endotélio vascular na resposta a lesão ocorre muito antes do desenvolvimento evidente da DCV (254-256). Processos inflamatórios crônicos, intimamente ligados a doenças associadas à disfunção endotelial, têm sido cada vez mais implicados como relevantes para o desenvolvimento das mudanças neurodegenerativas subjacentes aos sintomas da DA (257, 258).

Nota-se que não encontramos a associação entre o elevado risco cardiovascular e os déficits funcionais do cérebro, especialmente no córtex frontal. Isto está ao contrário tanto com os resultados recentemente relatados de hipofuncionamento na região pré-frontal associados com o risco cardiovascular em indivíduos idosos classificados pelo índice FCHDR (189) e os resultados dos outros estudos de imagens de PET que investigaram a influência de único FRCV no funcionamento do cérebro (180-183). Uma importante diferença entre o nosso estudo e o de Kuczynski et al. (2009) é que esses últimos autores não excluíram indivíduos com infartos lacunares. Na verdade, eles sugeriram até que as conclusões sobre o hipometabolismo do lobo frontal em indivíduos com altos escores de FCHDR poderiam ser determinadas pela maior incidência de infartos lacunares nesses indivíduos, levando a alterações metabólicas localizadas no córtex frontal. Este

raciocínio deve explicar a ausência de alterações metabólicas no córtex frontal em nosso estudo, uma vez que foram excluídos indivíduos com as lesões cerebrais vasculares assim avaliadas pela RM, incluindo os infartos lacunares. Portanto, é plausível argumentar que, na ausência de infartos lacunares, o lobo frontal não é especialmente vulnerável aos efeitos nocivos de FRCV em indivíduos cognitivamente preservados. Novamente, isto ressalta a semelhança topográfica entre os nossos achados e os reportados em estudos de PET-FDG em DA, os quais geralmente indicam que as regiões do lobo frontal são poupadas nas fases iniciais da DA.

Nós também predizemos que o metabolismo diminuído na região hipocampal seria encontrado em proporção ao grau de risco cardiovascular devido à relevância desta região do cérebro como um local crítico de alterações neuropatológicas da DA e a sua particular vulnerabilidade aos déficits de FSC crônicos em modelos de hipoperfusão cerebral em animais (259, 260). Em vez disso, de forma inesperada, quando nós detectamos diferenças significativas de TMCG entre os três grupos (baixo-risco, médio-risco e alto-risco) no giro parahipocampal, ao realizar as comparações entre os dois grupos, nós encontramos o metabolismo cerebral relativamente aumentado em um agrupamento de voxel localizado no giro parahipocampal no grupo alto-risco quando comparado com o grupo baixo-risco. Além disso, houve uma significativa correlação positiva entre os valores de TMCG e escores de FCHDR no giro parahipocampal. Uma possível explicação para o hipermetabolismo relativo no giro parahipocampal em indivíduos de elevados FRCV seria um viés na seleção da amostra. Como mencionado acima, nós

excluímos os participantes com lesões cerebrais vasculares silenciosas (infartos lacunares e acidentes vasculares cerebrais silenciosos) detectadas com a RM. Essas lesões estavam presentes mais frequentemente em indivíduos do conjunto de sujeitos de alto risco potencialmente elegíveis para o presente estudo (203). Portanto, é possível que houve a exclusão dos indivíduos com mais graves níveis de risco cardiovascular, os quais apresentariam padrões de TMCG reduzidos no giro parahipocampal, assim forçando a seleção dos indivíduos que, apesar de serem alto risco cardiovascular, são capazes de exibir mecanismos compensatórios para manter o funcionamento metabólico adequado em regiões temporolímbicas vulneráveis às mudanças microvasculares. Como sugerido anteriormente, os neurônios discretamente danificados podem apresentar níveis mais altos de atividade funcional para manter a sua eficácia, e isso poderia estar refletido no incremento local de taxa metabólica de glicose (261). Assim, o hipermetabolismo relativo observado no giro parahipocampal em nosso estudo poderia refletir uma resposta local precoce para a neurodisfunção, antes de manifestar os danos estruturais das células. É relevante destacar que em nosso estudo de RM, nós também encontramos um aumento relativo no volume de SC envolvendo o giro parahipocampal no grupo alto-risco em comparação com o grupo de baixo-risco cardiovascular após a exclusão de indivíduos com lesões cerebrais silenciosas (203).

6.1.2 Análises exploratórias

6.1.2.1 A contribuição de cada FRCV do escore FCHDR no metabolismo cerebral de glicose

Quando as análises exploratórias foram realizadas para a investigação do efeito metabólico de cada componente do escore de FCHDR, somente alguns FRCV (incluindo a PA sistólica, PA diastólica e glicemia) foram correlacionados negativamente com a TMCG, envolvendo vários focos significativos em regiões temporolímbicas, giro do cíngulo posterior e pré-cúneo. Já em relação ao gênero, outro FRCV que foi pesquisado nas comparações entre os grupos de homens e mulheres, as reduções significativas de TMCG envolveram as regiões do neocórtex temporal e hipocampo nos homens e as regiões do neocórtex parietotemporal e pré-frontal lateral nas mulheres. Mesmo repetindo essas análises com a covariada APOE $\epsilon 4$, observou-se um padrão de significância estatística similar aos achados acima e, além disso, outros FRCV: a idade e o inesperado HDL mostraram uma relação inversa com a TMCG.

Assim, essas análises exploratórias mostraram a pluralidade dos achados quando se investiga individualmente o FRCV, reforçando que ainda é mais vantajoso a estratégia de se agrupar os FRCV em um escore composto de risco cardiovascular global como o escore FCHDR. A presença simultânea de vários fatores de risco tem um efeito sinérgico e multiplicativo. Desse modo, eles interagem e potencializam-se, confirmando que o risco cardiovascular global é muito mais do que a soma do risco dado por cada um dos fatores isolados.

6.1.2.2 Comparações de TMCG entre dois grupos extremos quanto ao risco cardiovascular de acordo com escore FCHDR

As análises exploratórias das comparações estatísticas voxel-a-voxel do metabolismo cerebral de glicose entre dois grupos (grupo baixo+médio-risco e grupo alto-risco) foram conduzidas com o objetivo de se obter o efeito metabólico em condições extremas de risco cardiovascular. Resultados estatísticos encontraram redução significativa da TMCG envolvendo somente a área do complexo hipocampo-giro parahipocampal. Quando repetidas essas análises com a covariada APOE $\epsilon 4$, encontrou-se um inesperado foco de redução significativo da TMCG no grupo baixo+médio-risco quando comparado ao grupo alto-risco, envolvendo o giro parahipocampal. Portanto, a reorganização em dois grupos baixo+médio-risco e alto-risco cardiovascular acabou restringindo os achados, na medida em que não foram identificados os agrupamentos de voxels significativos nas regiões do pré-cúneo e do giro do cíngulo posterior, reportadas anteriormente. Uma explicação alternativa é que alguns estudos apontam limitações na classificação do grupo médio-risco cardiovascular pelo escore FCHDR e observaram que o risco pode ser subestimado em populações de alto risco e superestimado nas populações de baixo-risco (262, 263).

6.2 Considerações Metodológicas

A interpretação de todos os resultados demonstrados aqui deve ser vista com cautela devido a uma série de limitações do nosso estudo. Tivemos um excesso de indivíduos do gênero masculino no grupo alto-risco

e uma proporção maior do gênero feminino no grupo baixo-risco. Isto está em coerência com as investigações epidemiológicas prévias de risco vascular em populações idosas (264, 265). Essa desigualdade demográfica precisa ser destacada já que há evidências de que as diferenças de gênero podem claramente influenciar a distribuição de TMCG em idosos saudáveis (200, 266). No entanto, é pouco provável que os nossos resultados reflitam simplesmente a desigualdade entre os gêneros nas comparações entre os grupos, pois todas as nossas análises foram covariadas para as diferenças de gênero entre grupos. Além disso, achados prévios da literatura indicam que as diferenças de gênero influenciaram os padrões do metabolismo de glicose principalmente em regiões do lobo frontal, com menor taxa metabólica encontrada no grupo masculino quando comparado ao grupo feminino (200, 267-269). Desse modo, essa desigualdade em nosso estudo potencialmente levaria à redução do metabolismo de glicose na região pré-frontal no grupo alto-risco em comparação com o grupo de baixo-risco, ao invés de poupar o córtex frontal nos indivíduos de alto risco como nós encontramos no presente estudo. Uma outra limitação diz respeito ao fato de que foram excluídos os indivíduos com diagnóstico de diabetes mellitus. Em indivíduos com diabetes, há dificuldades na aderência às diretrizes do procedimento PET que exigem jejum antes do exame de PET-FDG; além da glicemia controlada (270, 271). Quando o jejum ou o controle da glicemia não são realizados, ocorre um decréscimo relativo na captação de FDG no interior do cérebro, muitas vezes prejudicando a qualidade da imagem estatística devido à diminuição da relação sinal-ruído (270, 271). Dada a

nossa utilização do critério de exclusão, o atual déficit funcional do cérebro relacionado com FRCV só pode ser afirmado a ser representativo de amostras de idosos com alto risco cardiovascular, sem história de diabetes mellitus. Finalmente, o desenho do nosso estudo nos impediu de evitar o atraso, na ordem de meses, entre a aquisição das atuais imagens de PET-FDG em todos os grupos de estudo e a aquisição prévia de imagens de RM estrutural. Esses dados de imagens RM foram utilizados para a correção do efeito de volume parcial dos dados de imagens PET; assim, as diferenças entre os grupos no metabolismo regional de glicose podem ter sido confundidas pelo viés sistemático se as diferenças entre os grupos no grau de alterações atróficas do cérebro tiverem ocorrido durante a modesta janela de tempo.

7 CONCLUSÕES

Conclui-se que a identificação de déficits metabólicos cerebrais em associação com FRCV em idosos cognitivamente preservados, envolvendo as regiões cerebrais anteriormente demonstrado que são especialmente vulneráveis às mudanças relacionadas à DA no cérebro, reforçam a visão de que a combinação de diferentes FRCV podem contribuir criticamente para o desenvolvimento da neuropatologia da DA.

Os resultados também reforçam a necessidade de uma avaliação sistemática dos fatores de risco vascular em qualquer estudo PET-FDG realizado em populações idosas, sugerindo que as diferenças inter-individuais em termos de acúmulo de risco cardiovascular podem ser responsáveis muitas vezes pelo grau elevado de variabilidade inter-individual dos índices metabólicos cerebrais nessas amostras. Replicação dos resultados deve ser garantida em estudos realizados com amostras maiores de idosos, incluindo seguimento nos exames de PET-FDG, visando dissecar os padrões de progressão das discretas mudanças cerebrais funcionais relatadas no presente estudo. Exceto o envelhecimento, todos os FRCV são evitáveis e modificáveis. Assim, o maior conhecimento sobre como tais fatores influenciam o funcionamento do cérebro em indivíduos saudáveis ao longo do tempo pode fornecer importantes subsídios para o futuro desenvolvimento de estratégias destinadas a retardar ou prevenir o

desencadeamento de mudanças cerebrais patológicas da DA associadas a FRCV.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Síntese de Indicadores Sociais 2010. www.ibge.gov.br.
2. Sloane PD, Zimmerman S, Suchindran C, Reed P, Wang L, Boustani M, et al. The public health impact of Alzheimer's disease, 2000-2050: potential implication of treatment advances. *Annu Rev Public Health*. 2002;23:213-31.
3. Qiu C, Kivipelto M, von Strauss E. Epidemiology of Alzheimer's disease: occurrence, determinants, and strategies toward intervention. *Dialogues Clin Neurosci*. 2009;11(2):111-28.
4. Breteler MM. Vascular risk factors for Alzheimer's disease: an epidemiologic perspective. *Neurobiol Aging*. 2000 Mar-Apr;21(2):153-60.
5. Kivipelto M, Helkala EL, Laakso MP, Hanninen T, Hallikainen M, Alhainen K, et al. Midlife vascular risk factors and Alzheimer's disease in later life: longitudinal, population based study. *Bmj*. 2001 Jun 16;322(7300):1447-51.
6. Piguet O, Grayson DA, Creasey H, Bennett HP, Brooks WS, Waite LM, et al. Vascular risk factors, cognition and dementia incidence over 6 years in the Sydney Older Persons Study. *Neuroepidemiology*. 2003 May-Jun;22(3):165-71.
7. World Health Organisation. World Heart Day 2011. World Health Organisation, Geneva 2011.
8. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Adams RJ, Berry JD, Brown TM, et al. Heart disease and stroke statistics--2011 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. Feb 1;123(4):e18-e209.
9. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet*. 2005 Jan 15-21;365(9455):217-23.
10. World Health Organisation. Use of glycated haemoglobin (HbA1c) in the diagnosis of diabetes mellitus. World Health Organisation, Geneva. 2011.
11. Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*. 2001 Dec 13;414(6865):782-7.
12. World Health Organisation. Media centre: Low control for high cholesterol. World Health Organisation, Geneva. 2011.
13. Thomas GN, Ho SY, Janus ED, Lam KS, Hedley AJ, Lam TH. The US National Cholesterol Education Programme Adult Treatment Panel III (NCEP ATP III) prevalence of the metabolic syndrome in a Chinese population. *Diabetes Res Clin Pract*. 2005 Mar;67(3):251-7.
14. Ezzati M, Lopez AD. Regional, disease specific patterns of smoking-attributable mortality in 2000. *Tob Control*. 2004 Dec;13(4):388-95.

15. World Health Organisation. MPOWER. WHO Report on the Global Tobacco Epidemic. World Health Organisation, Geneva 2011.
16. Petersen RC. Aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer's disease. *Neurol Clin.* 2000 Nov;18(4):789-806.
17. Petersen RC. Mild cognitive impairment clinical trials. *Nat Rev Drug Discov.* 2003 Aug;2(8):646-53.
18. Scazufca M, Menezes PR, Vallada HP, Crepaldi AL, Pastor-Valero M, Coutinho LM, et al. High prevalence of dementia among older adults from poor socioeconomic backgrounds in Sao Paulo, Brazil. *Int Psychogeriatr.* 2008 Apr;20(2):394-405.
19. Bottino CM, Azevedo D, Jr., Tatsch M, Hototian SR, Moscoso MA, Folquitto J, et al. Estimate of dementia prevalence in a community sample from Sao Paulo, Brazil. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2008;26(4):291-9.
20. Cooper B. Thinking preventively about dementia: a review. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2002 Oct;17(10):895-906.
21. Garre-Olmo J, Flaque M, Gich J, Pulido TO, Turbau J, Vallmajo N, et al. A clinical registry of dementia based on the principle of epidemiological surveillance. *BMC Neurol.* 2009;9:5.
22. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology.* 1984 Jul;34(7):939-44.
23. Morris JC. The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. *Neurology.* 1993 Nov;43(11):2412-4.
24. Gomez-Isla T, Price JL, McKeel DW, Jr., Morris JC, Growdon JH, Hyman BT. Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 1996 Jul 15;16(14):4491-500.
25. Braak H, Braak E. Neuropathological stageing of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol.* 1991;82(4):239-59.
26. Braak E, Griffing K, Arai K, Bohl J, Bratzke H, Braak H. Neuropathology of Alzheimer's disease: what is new since A. Alzheimer? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 1999;249 Suppl 3:14-22.
27. de la Torre JC. Alzheimer's disease: how does it start? *J Alzheimers Dis.* 2002 Dec;4(6):497-512.
28. Delacourte A, David JP, Sergeant N, Buee L, Wattez A, Vermersch P, et al. The biochemical pathway of neurofibrillary degeneration in aging and Alzheimer's disease. *Neurology.* 1999 Apr 12;52(6):1158-65.
29. Selkoe DJ. Alzheimer's disease: genotypes, phenotypes, and treatments. *Science.* 1997 Jan 31;275(5300):630-1.
30. Lambert MP, Barlow AK, Chromy BA, Edwards C, Freed R, Liosatos M, et al. Diffusible, nonfibrillar ligands derived from Abeta1-42 are potent central nervous system neurotoxins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 May 26;95(11):6448-53.
31. Lue LF, Kuo YM, Roher AE, Brachova L, Shen Y, Sue L, et al. Soluble amyloid beta peptide concentration as a predictor of synaptic change in Alzheimer's disease. *Am J Pathol.* 1999 Sep;155(3):853-62.

32. Goedert M, Wischik CM, Crowther RA, Walker JE, Klug A. Cloning and sequencing of the cDNA encoding a core protein of the paired helical filament of Alzheimer disease: identification as the microtubule-associated protein tau. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988 Jun;85(11):4051-5.
33. Wischik CM, Novak M, Edwards PC, Klug A, Tichelaar W, Crowther RA. Structural characterization of the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988 Jul;85(13):4884-8.
34. Wischik CM, Novak M, Thogersen HC, Edwards PC, Runswick MJ, Jakes R, et al. Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988 Jun;85(12):4506-10.
35. Small SA, Duff K. Linking Abeta and tau in late-onset Alzheimer's disease: a dual pathway hypothesis. *Neuron*. 2008 Nov 26;60(4):534-42.
36. Goate A. Segregation of a missense mutation in the amyloid beta-protein precursor gene with familial Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2006;9(3 Suppl):341-7.
37. Van Broeckhoven C, Haan J, Bakker E, Hardy JA, Van Hul W, Wehnert A, et al. Amyloid beta protein precursor gene and hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis (Dutch). *Science*. 1990 Jun 1;248(4959):1120-2.
38. Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, et al. Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993 Mar 1;90(5):1977-81.
39. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*. 1993 Aug 13;261(5123):921-3.
40. Poirier J, Hess M, May PC, Finch CE. Astrocytic apolipoprotein E mRNA and GFAP mRNA in hippocampus after entorhinal cortex lesioning. *Brain Res Mol Brain Res*. 1991 Sep;11(2):97-106.
41. May PC, Lampert-Etchells M, Johnson SA, Poirier J, Masters JN, Finch CE. Dynamics of gene expression for a hippocampal glycoprotein elevated in Alzheimer's disease and in response to experimental lesions in rat. *Neuron*. 1990 Dec;5(6):831-9.
42. Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science*. 1988 Apr 29;240(4852):622-30.
43. Mahley RW, Rall SC, Jr. Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2000;1:507-37.
44. Kim J, Basak JM, Holtzman DM. The role of apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Neuron*. 2009 Aug 13;63(3):287-303.
45. Huang Y. Mechanisms linking apolipoprotein E isoforms with cardiovascular and neurological diseases. *Curr Opin Lipidol*. 2010 Aug;21(4):337-45.
46. Mirra SS, Heyman A, McKeel D, Sumi SM, Crain BJ, Brownlee LM, et al. The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part II. Standardization of the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Neurology*. 1991 Apr;41(4):479-86.

47. Hebert LE, Scherr PA, Bienias JL, Bennett DA, Evans DA. Alzheimer disease in the US population: prevalence estimates using the 2000 census. *Arch Neurol*. 2003 Aug;60(8):1119-22.
48. De Jong GI, De Vos RA, Steur EN, Luiten PG. Cerebrovascular hypoperfusion: a risk factor for Alzheimer's disease? Animal model and postmortem human studies. *Ann N Y Acad Sci*. 1997 Sep 26;826:56-74.
49. de la Torre JC. Vascular basis of Alzheimer's pathogenesis. *Ann N Y Acad Sci*. 2002 Nov;977:196-215.
50. de la Torre JC. Is Alzheimer's disease a neurodegenerative or a vascular disorder? Data, dogma, and dialectics. *Lancet Neurol*. 2004 Mar;3(3):184-90.
51. Schmidt R, Schmidt H, Curb JD, Masaki K, White LR, Launer LJ. Early inflammation and dementia: a 25-year follow-up of the Honolulu-Asia Aging Study. *Ann Neurol*. 2002 Aug;52(2):168-74.
52. Luchsinger JA, Mayeux R. Cardiovascular risk factors and Alzheimer's disease. *Curr Atheroscler Rep*. 2004 Jul;6(4):261-6.
53. Parslow RA, Sachdev P, Salonikas C, Lux O, Jorm AF, Naidoo D. Associations between plasma antioxidants and hypertension in a community-based sample of 415 Australians aged 60-64. *J Hum Hypertens*. 2005 Mar;19(3):219-26.
54. Rocchi A, Orsucci D, Tognoni G, Ceravolo R, Siciliano G. The role of vascular factors in late-onset sporadic Alzheimer's disease. Genetic and molecular aspects. *Curr Alzheimer Res*. 2009 Jun;6(3):224-37.
55. van Exel E, Eikelenboom P, Comijs H, Frolich M, Smit JH, Stek ML, et al. Vascular factors and markers of inflammation in offspring with a parental history of late-onset Alzheimer disease. *Arch Gen Psychiatry*. 2009 Nov;66(11):1263-70.
56. Li J, Wang YJ, Zhang M, Xu ZQ, Gao CY, Fang CQ, et al. Vascular risk factors promote conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer disease. *Neurology*. 2011 Apr 26;76(17):1485-91.
57. Luchsinger JA, Reitz C, Honig LS, Tang MX, Shea S, Mayeux R. Aggregation of vascular risk factors and risk of incident Alzheimer disease. *Neurology*. 2005 Aug 23;65(4):545-51.
58. Knopman DS, Roberts R. Vascular risk factors: imaging and neuropathologic correlates. *J Alzheimers Dis*. 2010;20(3):699-709.
59. Gonzalez MC, Cohen HW, Sealey JE, Laragh JH, Alderman MH. Enduring Direct Association of Baseline Plasma Renin Activity With All-Cause and Cardiovascular Mortality in Hypertensive Patients. *Am J Hypertens*. 2011 Sep 22.
60. Havlik RJ, Foley DJ, Sayer B, Masaki K, White L, Launer LJ. Variability in midlife systolic blood pressure is related to late-life brain white matter lesions: the Honolulu-Asia Aging study. *Stroke*. 2002 Jan;33(1):26-30.
61. Korf ES, White LR, Scheltens P, Launer LJ. Midlife blood pressure and the risk of hippocampal atrophy: the Honolulu Asia Aging Study. *Hypertension*. 2004 Jul;44(1):29-34.
62. Vermeer SE, Den Heijer T, Koudstaal PJ, Oudkerk M, Hofman A, Breteler MM. Incidence and risk factors of silent brain infarcts in the population-based Rotterdam Scan Study. *Stroke*. 2003 Feb;34(2):392-6.

63. Launer LJ, Ross GW, Petrovitch H, Masaki K, Foley D, White LR, et al. Midlife blood pressure and dementia: the Honolulu-Asia aging study. *Neurobiol Aging*. 2000 Jan-Feb;21(1):49-55.
64. Hirose T, Totsune K, Nakashige Y, Metoki H, Kikuya M, Ohkubo T, et al. Influence of adrenomedullin 2/intermedin gene polymorphism on blood pressure, renal function and silent cerebrovascular lesions in Japanese: the Ohasama study. *Hypertens Res*. Aug 11.
65. White L, Small BJ, Petrovitch H, Ross GW, Masaki K, Abbott RD, et al. Recent clinical-pathologic research on the causes of dementia in late life: update from the Honolulu-Asia Aging Study. *J Geriatr Psychiatry Neurol*. 2005 Dec;18(4):224-7.
66. Petrovitch H, White LR, Izmirilian G, Ross GW, Havlik RJ, Markesbery W, et al. Midlife blood pressure and neuritic plaques, neurofibrillary tangles, and brain weight at death: the HAAS. Honolulu-Asia aging Study. *Neurobiol Aging*. 2000 Jan-Feb;21(1):57-62.
67. Gorelick PB, Erkinjuntti T, Hofman A, Rocca WA, Skoog I, Winblad B. Prevention of vascular dementia. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 1999 Oct-Dec;13 Suppl 3:S131-9.
68. Qiu C, von Strauss E, Fastbom J, Winblad B, Fratiglioni L. Low blood pressure and risk of dementia in the Kungsholmen project: a 6-year follow-up study. *Arch Neurol*. 2003 Feb;60(2):223-8.
69. Kivipelto M, Helkala EL, Hanninen T, Laakso MP, Hallikainen M, Alhainen K, et al. Midlife vascular risk factors and late-life mild cognitive impairment: A population-based study. *Neurology*. 2001 Jun 26;56(12):1683-9.
70. Wu C, Zhou D, Wen C, Zhang L, Como P, Qiao Y. Relationship between blood pressure and Alzheimer's disease in Linxian County, China. *Life Sci*. 2003 Jan 24;72(10):1125-33.
71. Wysocki M, Luo X, Schmeidler J, Dahlman K, Lesser GT, Grossman H, et al. Hypertension is Associated With Cognitive Decline in Elderly People at High Risk for Dementia. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2011 Feb 16.
72. Feldstein CA. Effects of blood pressure changes on Alzheimer's disease. *Neuroepidemiology*. 2010;35(3):202-12.
73. Qiu C, von Strauss E, Winblad B, Fratiglioni L. Decline in blood pressure over time and risk of dementia: a longitudinal study from the Kungsholmen project. *Stroke*. 2004 Aug;35(8):1810-5.
74. Elias MF. Effects of chronic hypertension on cognitive functioning. *Geriatrics*. 1998 Sep;53 Suppl 1:S49-52.
75. Iadecola C, Park L, Capone C. Threats to the mind: aging, amyloid, and hypertension. *Stroke*. 2009 Mar;40(3 Suppl):S40-4.
76. Farmer ME, Kittner SJ, Abbott RD, Wolz MM, Wolf PA, White LR. Longitudinally measured blood pressure, antihypertensive medication use, and cognitive performance: the Framingham Study. *J Clin Epidemiol*. 1990;43(5):475-80.
77. Elias MF, Elias PK, Sullivan LM, Wolf PA, D'Agostino RB. Lower cognitive function in the presence of obesity and hypertension: the Framingham heart study. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003 Feb;27(2):260-8.

78. Farmer ME, White LR, Abbott RD, Kittner SJ, Kaplan E, Wolz MM, et al. Blood pressure and cognitive performance. The Framingham Study. *Am J Epidemiol.* 1987 Dec;126(6):1103-14.
79. Wolf PA, Beiser A, Elias MF, Au R, Vasan RS, Seshadri S. Relation of obesity to cognitive function: importance of central obesity and synergistic influence of concomitant hypertension. The Framingham Heart Study. *Curr Alzheimer Res.* 2007 Apr;4(2):111-6.
80. Elias MF, Sullivan LM, Elias PK, D'Agostino RB, Sr., Wolf PA, Seshadri S, et al. Left ventricular mass, blood pressure, and lowered cognitive performance in the Framingham offspring. *Hypertension.* 2007 Mar;49(3):439-45.
81. Guo Z, Fratiglioni L, Winblad B, Viitanen M. Blood pressure and performance on the Mini-Mental State Examination in the very old. Cross-sectional and longitudinal data from the Kungsholmen Project. *Am J Epidemiol.* 1997 Jun 15;145(12):1106-13.
82. Guo Z, Fratiglioni L, Zhu L, Fastbom J, Winblad B, Viitanen M. Occurrence and progression of dementia in a community population aged 75 years and older: relationship of antihypertensive medication use. *Arch Neurol.* 1999 Aug;56(8):991-6.
83. in't Veld BA, Ruitenberg A, Hofman A, Stricker BH, Breteler MM. Antihypertensive drugs and incidence of dementia: the Rotterdam Study. *Neurobiol Aging.* 2001 May-Jun;22(3):407-12.
84. Weber MA. Outcomes of treating hypertension in the elderly: a short commentary on current issues. *Am J Geriatr Cardiol.* 2003 Jan-Feb;12(1):14-8.
85. Weber MA. Treating hypertension in the elderly: protagonist viewpoint. *Am J Geriatr Cardiol.* 2003 Nov-Dec;12(6):361-2.
86. Forette F, Seux ML, Staessen JA, Thijs L, Birkenhager WH, Babarskiene MR, et al. Prevention of dementia in randomised double-blind placebo-controlled Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) trial. *Lancet.* 1998 Oct 24;352(9137):1347-51.
87. Forette F, Seux ML, Staessen JA, Thijs L, Babarskiene MR, Babeanu S, et al. The prevention of dementia with antihypertensive treatment: new evidence from the Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) study. *Arch Intern Med.* 2002 Oct 14;162(18):2046-52.
88. Hajjar I, Keown M, Frost B. Antihypertensive agents for aging patients who are at risk for cognitive dysfunction. *Curr Hypertens Rep.* 2005 Dec;7(6):466-73.
89. Ramchandra R, Barrett CJ, Malpas SC. Nitric oxide and sympathetic nerve activity in the control of blood pressure. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2005 May-Jun;32(5-6):440-6.
90. Carnevale D, Mascio G, Ajmone-Cat MA, D'Andrea I, Cifelli G, Madonna M, et al. Role of neuroinflammation in hypertension-induced brain amyloid pathology. *Neurobiol Aging.* 2010 Oct 18.
91. Carnevale D, Lembo G. 'Alzheimer-like' pathology in a murine model of arterial hypertension. *Biochem Soc Trans.* 2011 Aug 1;39(4):939-44.

92. Biessels GJ, Staekenborg S, Brunner E, Brayne C, Scheltens P. Risk of dementia in diabetes mellitus: a systematic review. *Lancet Neurol*. 2006 Jan;5(1):64-74.
93. Elias PK EM, D'Agostino RB, et al. NIDDM and blood pressure control as risk factors for poor cognitive performance. The Framingham Study. *Diabetes Care*. 1997;20:1388-95.
94. Gregg EW YK, Cauley JA, et al. Is diabetes associated with cognitive impairment and cognitive decline among older women? Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Arch Int Med*. 2000;160:174-80.
95. Yaffe K BT, Kanaya AM, et al. Diabetes, impaired fasting glucose and development of cognitive impairment in older women. *Neurology*. 2004;63:685-63.
96. Bruce DG, Davis WA, Casey GP, Starkstein SE, Clarnette RM, Almeida OP, et al. Predictors of cognitive decline in older individuals with diabetes. *Diabetes Care*. 2008 Nov;31(11):2103-7.
97. Strachan MW, Reynolds RM, Frier BM, Mitchell RJ, Price JF. The relationship between type 2 diabetes and dementia. *Br Med Bull*. 2008;88(1):131-46.
98. Helzner EP, Luchsinger JA, Scarmeas N, Cosentino S, Brickman AM, Glymour MM, et al. Contribution of vascular risk factors to the progression in Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2009 Mar;66(3):343-8.
99. Toro P, Schonknecht P, Schroder J. Type II diabetes in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: results from a prospective population-based study in Germany. *J Alzheimers Dis*. 2009;16(4):687-91.
100. Luchsinger JA. Adiposity, hyperinsulinemia, diabetes and Alzheimer's disease: an epidemiological perspective. *Eur J Pharmacol*. 2008 May 6;585(1):119-29.
101. Luchsinger JA, Gustafson DR. Adiposity, type 2 diabetes, and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2009;16(4):693-704.
102. Velayudhan L, Poppe M, Archer N, Proitsi P, Brown RG, Lovestone S. Risk of developing dementia in people with diabetes and mild cognitive impairment. *Br J Psychiatry*. 2010 Jan;196(1):36-40.
103. Ohara T, Doi Y, Ninomiya T, Hirakawa Y, Hata J, Iwaki T, et al. Glucose tolerance status and risk of dementia in the community: The Hisayama Study. *Neurology*. 2011 Sep 20;77(12):1126-34.
104. Brands AM BG, De Haan EH, et al. The effects of type 1 diabetes on cognitive performance: A meta-analysis. *Diabetes Care*. 2005;28:726-35.
105. Allen KV FB, Strachan MWJ. The relationship between type 2 diabetes and cognitive dysfunction: Longitudinal studies and their methodological limitations. *Eur J Pharmacol*. 2004;490:169-75.
106. Whitmer RA, Sidney S, Selby J, Johnston SC, Yaffe K. Midlife cardiovascular risk factors and risk of dementia in late life. *Neurology*. 2005 Jan 25;64(2):277-81.
107. Schnaider Beerli M, Goldbourt U, Silverman JM, Noy S, Schmeidler J, Ravona-Springer R, et al. Diabetes mellitus in midlife and the risk of dementia three decades later. *Neurology*. 2004 Nov 23;63(10):1902-7.

108. DeBette S, Seshadri S, Beiser A, Au R, Himali JJ, Palumbo C, et al. Midlife vascular risk factor exposure accelerates structural brain aging and cognitive decline. *Neurology*. 2011 Aug 2;77(5):461-8.
109. Ott A, Stolk RP, van Harskamp F, Pols HA, Hofman A, Breteler MM. Diabetes mellitus and the risk of dementia: The Rotterdam Study. *Neurology*. 1999 Dec 10;53(9):1937-42.
110. Schrijvers EM, Witteman JC, Sijbrands EJ, Hofman A, Koudstaal PJ, Breteler MM. Insulin metabolism and the risk of Alzheimer disease: the Rotterdam Study. *Neurology*. 2010 Nov 30;75(22):1982-7.
111. Gispen WH, Biessels GJ. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. *Trends Neurosci*. 2000 Nov;23(11):542-9.
112. Hoyer S. Glucose metabolism and insulin receptor signal transduction in Alzheimer disease. *Eur J Pharmacol*. 2004 Apr 19;490(1-3):115-25.
113. Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 2010 Jan 28;362(4):329-44.
114. Peila R, Rodriguez BL, Launer LJ. Type 2 diabetes, APOE gene, and the risk for dementia and related pathologies: The Honolulu-Asia Aging Study. *Diabetes*. 2002 Apr;51(4):1256-62.
115. Gustafson D, Rothenberg E, Blennow K, Steen B, Skoog I. An 18-year follow-up of overweight and risk of Alzheimer disease. *Arch Intern Med*. 2003 Jul 14;163(13):1524-8.
116. Kivipelto M, Ngandu T, Fratiglioni L, Viitanen M, Kareholt I, Winblad B, et al. Obesity and vascular risk factors at midlife and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2005 Oct;62(10):1556-60.
117. Rosengren A, Skoog I, Gustafson D, Wilhelmsen L. Body mass index, other cardiovascular risk factors, and hospitalization for dementia. *Arch Intern Med*. 2005 Feb 14;165(3):321-6.
118. Curtis JP, Selter JG, Wang Y, Rathore SS, Jovin IS, Jadbabaie F, et al. The obesity paradox: body mass index and outcomes in patients with heart failure. *Arch Intern Med*. 2005 Jan 10;165(1):55-61.
119. Freedman DM, Ron E, Ballard-Barbash R, Doody MM, Linet MS. Body mass index and all-cause mortality in a nationwide US cohort. *Int J Obes (Lond)*. 2006 May;30(5):822-9.
120. Fitzpatrick AL, Kuller LH, Lopez OL, Diehr P, O'Meara ES, Longstreth WT, Jr., et al. Midlife and late-life obesity and the risk of dementia: cardiovascular health study. *Arch Neurol*. 2009 Mar;66(3):336-42.
121. Anstey KJ, Cherbuin N, Budge M, Young J. Body mass index in midlife and late-life as a risk factor for dementia: a meta-analysis of prospective studies. *Obes Rev*. 2011 May;12(5):e426-37.
122. Luchsinger JA, Cheng D, Tang MX, Schupf N, Mayeux R. Central Obesity in the Elderly is Related to Late-onset Alzheimer Disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2011 Jun 9.
123. Bu G. Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis and therapy. *Nat Rev Neurosci*. 2009 May;10(5):333-44.
124. Mauch DH, Nagler K, Schumacher S, Goritz C, Muller EC, Otto A, et al. CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. *Science*. 2001 Nov 9;294(5545):1354-7.

125. Bertram L, Tanzi RE. Thirty years of Alzheimer's disease genetics: the implications of systematic meta-analyses. *Nat Rev Neurosci*. 2008 Oct;9(10):768-78.
126. Han X, Holtzman DM, McKeel DW, Jr. Plasmalogen deficiency in early Alzheimer's disease subjects and in animal models: molecular characterization using electrospray ionization mass spectrometry. *J Neurochem*. 2001 May;77(4):1168-80.
127. Cheng H, Xu J, McKeel DW, Jr., Han X. Specificity and potential mechanism of sulfatide deficiency in Alzheimer's disease: an electrospray ionization mass spectrometric study. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2003 Jul;49(5):809-18.
128. Ryan SD, Whitehead SN, Swayne LA, Moffat TC, Hou W, Ethier M, et al. Amyloid-beta42 signals tau hyperphosphorylation and compromises neuronal viability by disrupting alkylacylglycerophosphocholine metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Dec 8;106(49):20936-41.
129. Matsuzaki T, Sasaki K, Hata J, Hirakawa Y, Fujimi K, Ninomiya T, et al. Association of Alzheimer disease pathology with abnormal lipid metabolism: The Hisayama Study. *Neurology*. 2011 Sep 13;77(11):1068-75.
130. Sanchez-Mejia RO, Newman JW, Toh S, Yu GQ, Zhou Y, Halabisky B, et al. Phospholipase A2 reduction ameliorates cognitive deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nat Neurosci*. 2008 Nov;11(11):1311-8.
131. Cheng H, Zhou Y, Holtzman DM, Han X. Apolipoprotein E mediates sulfatide depletion in animal models of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. Jul;31(7):1188-96.
132. Sharman MJ, Morici M, Hone E, Berger T, Taddei K, Martins LJ, et al. APOE genotype results in differential effects on the peripheral clearance of amyloid-beta42 in APOE knock-in and knock-out mice. *J Alzheimers Dis*. 2010;21(2):403-9.
133. Jick H, Zornberg GL, Jick SS, Seshadri S, Drachman DA. Statins and the risk of dementia. *Lancet*. 2000 Nov 11;356(9242):1627-31.
134. Wolozin B, Wang SW, Li NC, Lee A, Lee TA, Kazis LE. Simvastatin is associated with a reduced incidence of dementia and Parkinson's disease. *BMC Med*. 2007;5:20.
135. Haag MD, Hofman A, Koudstaal PJ, Stricker BH, Breteler MM. Statins are associated with a reduced risk of Alzheimer disease regardless of lipophilicity. The Rotterdam Study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2009 Jan;80(1):13-7.
136. Li G, Larson EB, Sonnen JA, Shofer JB, Petrie EC, Schantz A, et al. Statin therapy is associated with reduced neuropathologic changes of Alzheimer disease. *Neurology*. 2007 Aug 28;69(9):878-85.
137. Wang CC, Lu TH, Liao WC, Yuan SC, Kuo PC, Chuang HL, et al. Cigarette smoking and cognitive impairment: a 10-year cohort study in Taiwan. *Arch Gerontol Geriatr*. 2010 Sep-Oct;51(2):143-8.
138. Aggarwal NT, Bienias JL, Bennett DA, Wilson RS, Morris MC, Schneider JA, et al. The relation of cigarette smoking to incident Alzheimer's disease in a biracial urban community population. *Neuroepidemiology*. 2006;26(3):140-6.

139. Reitz C, den Heijer T, van Duijn C, Hofman A, Breteler MM. Relation between smoking and risk of dementia and Alzheimer disease: the Rotterdam Study. *Neurology*. 2007 Sep 4;69(10):998-1005.
140. Juan D, Zhou DH, Li J, Wang JY, Gao C, Chen M. A 2-year follow-up study of cigarette smoking and risk of dementia. *Eur J Neurol*. 2004 Apr;11(4):277-82.
141. Ott A, Slioter AJ, Hofman A, van Harskamp F, Witteman JC, Van Broeckhoven C, et al. Smoking and risk of dementia and Alzheimer's disease in a population-based cohort study: the Rotterdam Study. *Lancet*. 1998 Jun 20;351(9119):1840-3.
142. Rusanen M, Kivipelto M, Quesenberry CP, Jr., Zhou J, Whitmer RA. Heavy smoking in midlife and long-term risk of Alzheimer disease and vascular dementia. *Arch Intern Med*. 2011 Feb 28;171(4):333-9.
143. Hsu YY, Du AT, Schuff N, Weiner MW. Magnetic resonance imaging and magnetic resonance spectroscopy in dementias. *J Geriatr Psychiatry Neurol*. 2001 Fall;14(3):145-66.
144. Costa DC, Oliveira JMAP, Bressan RA. PET e SPECT em neurologia e psiquiatria: do básico às aplicações clínicas. *Rev Bras Psiquiatr*. 2001;23(Suppl.1).
145. Smith SM, De Stefano N, Jenkinson M, Matthews PM. Normalized accurate measurement of longitudinal brain change. *J Comput Assist Tomogr*. 2001 May-Jun;25(3):466-75.
146. Machado ACB, Pleitez V, Tijero MC. Usando a antimatéria na medicina moderna. *Revista Brasileira de Ensino de Física*. 2006;28(4):407-16.
147. Kalpouzos G, Chetelat G, Landeau B, Clochon P, Viader F, Eustache F, et al. Structural and metabolic correlates of episodic memory in relation to the depth of encoding in normal aging. *J Cogn Neurosci*. 2009 Feb;21(2):372-89.
148. Mosconi L, Mistur R, Switalski R, Tsui WH, Glodzik L, Li Y, et al. FDG-PET changes in brain glucose metabolism from normal cognition to pathologically verified Alzheimer's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2009 May;36(5):811-22.
149. Mosconi L, Berti V, Glodzik L, Pupi A, De Santi S, de Leon MJ. Pre-clinical detection of Alzheimer's disease using FDG-PET, with or without amyloid imaging. *J Alzheimers Dis*. 2010;20(3):843-54.
150. Friston KJ, Frith CD, Liddle PF, Frackowiak RS. Comparing functional (PET) images: the assessment of significant change. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1991 Jul;11(4):690-9.
151. Minoshima S, Giordani B, Berent S, Frey KA, Foster NL, Kuhl DE. Metabolic reduction in the posterior cingulate cortex in very early Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 1997 Jul;42(1):85-94.
152. Chetelat G, Desgranges B, de la Sayette V, Viader F, Berkouk K, Landeau B, et al. Dissociating atrophy and hypometabolism impact on episodic memory in mild cognitive impairment. *Brain*. 2003 Sep;126(Pt 9):1955-67.

153. Mosconi L. Brain glucose metabolism in the early and specific diagnosis of Alzheimer's disease. FDG-PET studies in MCI and AD. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2005 Apr;32(4):486-510.
154. Berti V, Osorio RS, Mosconi L, Li Y, De Santi S, de Leon MJ. Early detection of Alzheimer's disease with PET imaging. *Neurodegener Dis*. 7(1-3):131-5.
155. Kawachi T, Ishii K, Sakamoto S, Sasaki M, Mori T, Yamashita F, et al. Comparison of the diagnostic performance of FDG-PET and VBM-MRI in very mild Alzheimer's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2006 Jul;33(7):801-9.
156. Mosconi L, De Santi S, Rusinek H, Convit A, de Leon MJ. Magnetic resonance and PET studies in the early diagnosis of Alzheimer's disease. *Expert Rev Neurother*. 2004 Sep;4(5):831-49.
157. Jagust W. Positron emission tomography and magnetic resonance imaging in the diagnosis and prediction of dementia. *Alzheimers Dement*. 2006 Jan;2(1):36-42.
158. Mosconi L, Tsui WH, Herholz K, Pupi A, Drzezga A, Lucignani G, et al. Multicenter standardized 18F-FDG PET diagnosis of mild cognitive impairment, Alzheimer's disease, and other dementias. *J Nucl Med*. 2008 Mar;49(3):390-8.
159. Petrie EC, Cross DJ, Galasko D, Schellenberg GD, Raskind MA, Peskind ER, et al. Preclinical evidence of Alzheimer changes: convergent cerebrospinal fluid biomarker and fluorodeoxyglucose positron emission tomography findings. *Arch Neurol*. 2009 May;66(5):632-7.
160. Silverman DH, Small GW, Chang CY, Lu CS, Kung De Aburto MA, Chen W, et al. Positron emission tomography in evaluation of dementia: Regional brain metabolism and long-term outcome. *Jama*. 2001 Nov 7;286(17):2120-7.
161. Reiman EM, Chen K, Alexander GE, Caselli RJ, Bandy D, Osborne D, et al. Correlations between apolipoprotein E epsilon4 gene dose and brain-imaging measurements of regional hypometabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Jun 7;102(23):8299-302.
162. Rimajova M, Lenzo NP, Wu JS, Bates KA, Campbell A, Dhaliwal SS, et al. Fluoro-2-deoxy-D-glucose (FDG)-PET in APOEepsilon4 carriers in the Australian population. *J Alzheimers Dis*. 2008 Mar;13(2):137-46.
163. Langbaum JB, Chen K, Caselli RJ, Lee W, Reschke C, Bandy D, et al. Hypometabolism in Alzheimer-affected brain regions in cognitively healthy Latino individuals carrying the apolipoprotein E epsilon4 allele. *Arch Neurol*. 2010 Apr;67(4):462-8.
164. de Leon MJ, Convit A, Wolf OT, Tarshish CY, DeSanti S, Rusinek H, et al. Prediction of cognitive decline in normal elderly subjects with 2-[(18F)fluoro-2-deoxy-D-glucose/positron-emission tomography (FDG/PET). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Sep 11;98(19):10966-71.
165. Mosconi L, De Santi S, Li J, Tsui WH, Li Y, Boppana M, et al. Hippocampal hypometabolism predicts cognitive decline from normal aging. *Neurobiol Aging*. 2008 May;29(5):676-92.

166. Jagust W, Gitcho A, Sun F, Kuczynski B, Mungas D, Haan M. Brain imaging evidence of preclinical Alzheimer's disease in normal aging. *Ann Neurol*. 2006 Apr;59(4):673-81.
167. Obisesan TO, Obisesan OA, Martins S, Alamgir L, Bond V, Maxwell C, et al. High blood pressure, hypertension, and high pulse pressure are associated with poorer cognitive function in persons aged 60 and older: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Am Geriatr Soc*. 2008 Mar;56(3):501-9.
168. Knopman D, Boland LL, Mosley T, Howard G, Liao D, Szklo M, et al. Cardiovascular risk factors and cognitive decline in middle-aged adults. *Neurology*. 2001 Jan 9;56(1):42-8.
169. Xu W, Qiu C, Gatz M, Pedersen NL, Johansson B, Fratiglioni L. Mid- and late-life diabetes in relation to the risk of dementia: a population-based twin study. *Diabetes*. 2009 Jan;58(1):71-7.
170. Irie F, Fitzpatrick AL, Lopez OL, Kuller LH, Peila R, Newman AB, et al. Enhanced risk for Alzheimer disease in persons with type 2 diabetes and APOE epsilon4: the Cardiovascular Health Study Cognition Study. *Arch Neurol*. 2008 Jan;65(1):89-93.
171. Rosendorff C, Beerli MS, Silverman JM. Cardiovascular risk factors for Alzheimer's disease. *Am J Geriatr Cardiol*. 2007 May-Jun;16(3):143-9.
172. Meyer JS, Rauch GM, Rauch RA, Haque A, Crawford K. Cardiovascular and other risk factors for Alzheimer's disease and vascular dementia. *Ann N Y Acad Sci*. 2000 Apr;903:411-23.
173. Erkinjuntti T, Gauthier S. The concept of vascular cognitive impairment. *Front Neurol Neurosci*. 2009;24:79-85.
174. Craft S. The role of metabolic disorders in Alzheimer disease and vascular dementia: two roads converged. *Arch Neurol*. 2009 Mar;66(3):300-5.
175. Teipel SJ, Meindl T, Wagner M, Kohl T, Burger K, Reiser MF, et al. White matter microstructure in relation to education in aging and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2009;17(3):571-83.
176. Kivipelto M, Rovio S, Ngandu T, Kareholt I, Eskelinen M, Winblad B, et al. Apolipoprotein E epsilon4 magnifies lifestyle risks for dementia: a population-based study. *J Cell Mol Med*. 2008 Dec;12(6B):2762-71.
177. de la Torre JC, Mussivand T. Can disturbed brain microcirculation cause Alzheimer's disease? *Neurol Res*. 1993 Jun;15(3):146-53.
178. de la Torre JC. Cerebrovascular and cardiovascular pathology in Alzheimer's disease. *Int Rev Neurobiol*. 2009;84:35-48.
179. Viswanathan A, Rocca WA, Tzourio C. Vascular risk factors and dementia: how to move forward? *Neurology*. 2009 Jan 27;72(4):368-74.
180. Reiman EM, Chen K, Langbaum JB, Lee W, Reschke C, Bandy D, et al. Higher serum total cholesterol levels in late middle age are associated with glucose hypometabolism in brain regions affected by Alzheimer's disease and normal aging. *Neuroimage*. 2010 Jan 1;49(1):169-76.
181. Baker LD, Cross DJ, Minoshima S, Belongia D, Watson GS, Craft S. Insulin Resistance and Alzheimer-like Reductions in Regional Cerebral Glucose Metabolism for Cognitively Normal Adults With Prediabetes or Early Type 2 Diabetes. *Arch Neurol*. 2011 Sep 13.

182. Volkow ND, Wang GJ, Telang F, Fowler JS, Goldstein RZ, Alia-Klein N, et al. Inverse association between BMI and prefrontal metabolic activity in healthy adults. *Obesity* (Silver Spring). 2009 Jan;17(1):60-5.
183. Langbaum JB, Chen K, Launer LJ, Fleisher AS, Lee W, Liu X, et al. Blood pressure is associated with higher brain amyloid burden and lower glucose metabolism in healthy late middle-age persons. *Neurobiol Aging*. 2011 Aug 5.
184. Meigs JB, Singer DE, Sullivan LM, Dukes KA, D'Agostino RB, Nathan DM, et al. Metabolic control and prevalent cardiovascular disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM): The NIDDM Patient Outcome Research Team. *Am J Med*. 1997 Jan;102(1):38-47.
185. Razay G, Vreugdenhil A, Wilcock G. The metabolic syndrome and Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2007 Jan;64(1):93-6.
186. Wilson PW, Bozeman SR, Burton TM, Hoaglin DC, Ben-Joseph R, Pashos CL. Prediction of first events of coronary heart disease and stroke with consideration of adiposity. *Circulation*. 2008 Jul 8;118(2):124-30.
187. Seshadri S. Methodology for measuring cerebrovascular disease burden. *Int Rev Psychiatry*. 2006 Oct;18(5):409-22.
188. Jeerakathil T, Wolf PA, Beiser A, Massaro J, Seshadri S, D'Agostino RB, et al. Stroke risk profile predicts white matter hyperintensity volume: the Framingham Study. *Stroke*. 2004 Aug;35(8):1857-61.
189. Kuczynski B, Jagust W, Chui HC, Reed B. An inverse association of cardiovascular risk and frontal lobe glucose metabolism. *Neurology*. 2009 Feb 24;72(8):738-43.
190. Pansari K, Gupta A, Thomas P. Alzheimer's disease and vascular factors: facts and theories. *Int J Clin Pract*. 2002 Apr;56(3):197-203.
191. Polidori MC, Frei B, Cherubini A, Nelles G, Rordorf G, Keaney JF, Jr., et al. Increased plasma levels of lipid hydroperoxides in patients with ischemic stroke. *Free Radic Biol Med*. 1998 Sep;25(4-5):561-7.
192. Rafael H. Cerebral atherosclerosis and mild Alzheimer's disease. *Stroke*. 2003 Aug;34(8):e106.
193. Honig LS, Tang MX, Albert S, Costa R, Luchsinger J, Manly J, et al. Stroke and the risk of Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2003 Dec;60(12):1707-12.
194. Girouard H, Iadecola C. Neurovascular coupling in the normal brain and in hypertension, stroke, and Alzheimer disease. *J Appl Physiol*. 2006 Jan;100(1):328-35.
195. Roman GC. Vascular dementia prevention: a risk factor analysis. *Cerebrovasc Dis*. 2005;20 Suppl 2:91-100.
196. Solfrizzi V, Panza F, Colacicco AM, D'Introno A, Capurso C, Torres F, et al. Vascular risk factors, incidence of MCI, and rates of progression to dementia. *Neurology*. 2004 Nov 23;63(10):1882-91.
197. Roher AE, Esh C, Rahman A, Kokjohn TA, Beach TG. Atherosclerosis of cerebral arteries in Alzheimer disease. *Stroke*. 2004 Nov;35(11 Suppl 1):2623-7.
198. Gorelick PB. Risk factors for vascular dementia and Alzheimer disease. *Stroke*. 2004 Nov;35(11 Suppl 1):2620-2.

199. de la Torre JC. The vascular hypothesis of Alzheimer's disease: bench to bedside and beyond. *Neurodegener Dis.* 7(1-3):116-21.
200. Fujimoto T, Matsumoto T, Fujita S, Takeuchi K, Nakamura K, Mitsuyama Y, et al. Changes in glucose metabolism due to aging and gender-related differences in the healthy human brain. *Psychiatry Res.* 2008 Oct 30;164(1):58-72.
201. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods.* 2007 May;39(2):175-91.
202. Eriksson SH, Thom M, Symms MR, Focke NK, Martinian L, Sisodiya SM, et al. Cortical neuronal loss and hippocampal sclerosis are not detected by voxel-based morphometry in individual epilepsy surgery patients. *Hum Brain Mapp.* 2009 Oct;30(10):3351-60.
203. de Toledo Ferraz Alves TC, Scazufca M, Squarzoni P, de Souza Duran FL, Tamashiro-Duran JH, Vallada HP, et al. Subtle Gray Matter Changes in Temporo-Parietal Cortex Associated with Cardiovascular Risk Factors. *J Alzheimers Dis.* 2011 Aug 12.
204. Scazufca M, Seabra CA. Sao Paulo portraits: ageing in a large metropolis. *Int J Epidemiol.* 2008 Aug;37(4):721-3.
205. Prince M, Ferri CP, Acosta D, Albanese E, Arizaga R, Dewey M, et al. The protocols for the 10/66 dementia research group population-based research programme. *BMC Public Health.* 2007;7:165.
206. Kaffashian S, Dugravot A, Nabi H, Batty GD, Brunner E, Kivimaki M, et al. Predictive utility of the Framingham general cardiovascular disease risk profile for cognitive function: evidence from the Whitehall II study. *Eur Heart J.* 2011 Sep;32(18):2326-32.
207. Laughlin GA, McEvoy LK, von Muhlen D, Daniels LB, Kritz-Silverstein D, Bergstrom J, et al. Sex Differences in the Association of Framingham Cardiac Risk Score With Cognitive Decline in Community-Dwelling Elders Without Clinical Heart Disease. *Psychosom Med.* 2011 Sep 23.
208. Jefferson AL, Himali JJ, Au R, Seshadri S, Decarli C, O'Donnell CJ, et al. Relation of Left Ventricular Ejection Fraction to Cognitive Aging (from the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol.* 2011 Aug 29.
209. Lee ST, Chu K, Jung KH, Jeon D, Bahn JJ, Kim JH, et al. Dysfunctional characteristics of circulating angiogenic cells in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2010;19(4):1231-40.
210. Lee ST, Chu K, Jung KH, Park HK, Kim DH, Bahn JJ, et al. Reduced circulating angiogenic cells in Alzheimer disease. *Neurology.* 2009 May 26;72(21):1858-63.
211. Williams LR, Hutchinson CE, Jackson A, Horan MA, Jones M, McInnes L, et al. Clinical correlates of cerebral white matter hyperintensities in cognitively normal older adults. *Arch Gerontol Geriatr.* 2010 Mar-Apr;50(2):127-31.
212. Glodzik L, Rusinek H, Brys M, Tsui WH, Switalski R, Mosconi L, et al. Framingham cardiovascular risk profile correlates with impaired hippocampal and cortical vasoreactivity to hypercapnia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2011 Sep 15.

213. The fifth report of the Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNC V). *Arch Intern Med*. 1993 Jan 25;153(2):154-83.
214. Summary of the second report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II). *Jama*. 1993 Jun 16;269(23):3015-23.
215. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*. 1998 May 12;97(18):1837-47.
216. Hall KS, Gao S, Emsley CL, Ogunniyi AO, Morgan O, Hendrie HC. Community screening interview for dementia (CSI 'D'); performance in five disparate study sites. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2000 Jun;15(6):521-31.
217. Di Rienzo A, Iacoangeli M, Rychlicki F, Veccia S, Scerrati M. Decompressive craniectomy for medically refractory intracranial hypertension due to meningoencephalitis: report of three patients. *Acta Neurochir (Wien)*. 2008 Oct;150(10):1057-65; discussion 65.
218. Welsh KA, Butters N, Mohs RC, Beekly D, Edland S, Fillenbaum G, et al. The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part V. A normative study of the neuropsychological battery. *Neurology*. 1994 Apr;44(4):609-14.
219. Storey JE, Rowland JT, Basic D, Conforti DA, Dickson HG. The Rowland Universal Dementia Assessment Scale (RUDAS): a multicultural cognitive assessment scale. *Int Psychogeriatr*. 2004 Mar;16(1):13-31.
220. First M SR, Gibbon M, Williams J. Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders - (SCID-I/P, version 2.0). New York Biometrics Research.
221. Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1960 Feb;23:56-62.
222. John SW, Weitzner G, Rozen R, Scriver CR. A rapid procedure for extracting genomic DNA from leukocytes. *Nucleic Acids Res*. 1991 Jan 25;19(2):408.
223. Lahiri DK, Nurnberger JI, Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res*. 1991 Oct 11;19(19):5444.
224. Mayo O. A century of Hardy-Weinberg equilibrium. *Twin Res Hum Genet*. 2008 Jun;11(3):249-56.
225. Smith SM. Fast robust automated brain extraction. *Hum Brain Mapp*. 2002 Nov;17(3):143-55.
226. Pereira JM, Xiong L, Acosta-Cabronero J, Pengas G, Williams GB, Nestor PJ. Registration accuracy for VBM studies varies according to region and degenerative disease grouping. *Neuroimage*. 2010 Feb 1;49(3):2205-15.
227. Segonne F, Dale AM, Busa E, Glessner M, Salat D, Hahn HK, et al. A hybrid approach to the skull stripping problem in MRI. *Neuroimage*. 2004 Jul;22(3):1060-75.
228. Sled JG, Zijdenbos AP, Evans AC. A nonparametric method for automatic correction of intensity nonuniformity in MRI data. *IEEE Trans Med Imaging*. 1998 Feb;17(1):87-97.

229. Talairach J, Tournoux P. Co-Planar Stereotaxic Atlas of the Human Brain. New York: Thieme Medical Publishers, Inc.; 1988.
230. Quarantelli M, Berkouk K, Prinster A, Landeau B, Svarer C, Balkay L, et al. Integrated software for the analysis of brain PET/SPECT studies with partial-volume-effect correction. *J Nucl Med*. 2004 Feb;45(2):192-201.
231. Yanase D, Matsunari I, Yajima K, Chen W, Fujikawa A, Nishimura S, et al. Brain FDG PET study of normal aging in Japanese: effect of atrophy correction. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2005 Jul;32(7):794-805.
232. Ashburner J. A fast diffeomorphic image registration algorithm. *Neuroimage*. 2007 Oct 15;38(1):95-113.
233. Ashburner J, Friston KJ. Unified segmentation. *Neuroimage*. 2005 Jul 1;26(3):839-51.
234. Ashburner J, Friston KJ. Voxel-based morphometry--the methods. *Neuroimage*. 2000 Jun;11(6 Pt 1):805-21.
235. Good CD, Johnsrude IS, Ashburner J, Henson RN, Friston KJ, Frackowiak RS. A voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains. *Neuroimage*. 2001 Jul;14(1 Pt 1):21-36.
236. Salmond CH, Ashburner J, Vargha-Khadem F, Connelly A, Gadian DG, Friston KJ. Distributional assumptions in voxel-based morphometry. *Neuroimage*. 2002 Oct;17(2):1027-30.
237. Mechelli A, Friston KJ, Frackowiak RS, Price CJ. Structural covariance in the human cortex. *J Neurosci*. 2005 Sep 7;25(36):8303-10.
238. Worsley KJ, Marrett S, Neelin P, Vandal AC, Friston KJ, Evans AC. A unified statistical approach for determining significant signals in images of cerebral activation. *Hum Brain Mapp*. 1996;4(1):58-73.
239. Friston KJ, Holmes A, Poline JB, Price CJ, Frith CD. Detecting activations in PET and fMRI: levels of inference and power. *Neuroimage*. 1996 Dec;4(3 Pt 1):223-35.
240. Brett M, Johnsrude IS, Owen AM. The problem of functional localization in the human brain. *Nat Rev Neurosci*. 2002 Mar;3(3):243-9.
241. ABIPEME (Associação Brasileira do Instituto de Pesquisa de Mercado). Questionário sócio-demográfico dos XXXI Estudos Marplan. Brasil. 1989.
242. Alves TC, Rays J, Fraguas R, Jr., Wajngarten M, Meneghetti JC, Prando S, et al. Localized cerebral blood flow reductions in patients with heart failure: a study using 99mTc-HMPAO SPECT. *J Neuroimaging*. 2005 Apr;15(2):150-6.
243. Kitagawa K. Cerebral blood flow measurement by PET in hypertensive subjects as a marker of cognitive decline. *J Alzheimers Dis*. 2010;20(3):855-9.
244. Seshadri S, Wolf PA, Beiser A, Elias MF, Au R, Kase CS, et al. Stroke risk profile, brain volume, and cognitive function: the Framingham Offspring Study. *Neurology*. 2004 Nov 9;63(9):1591-9.
245. Massaro JM, D'Agostino RB, Sr., Sullivan LM, Beiser A, DeCarli C, Au R, et al. Managing and analysing data from a large-scale study on Framingham Offspring relating brain structure to cognitive function. *Stat Med*. 2004 Jan 30;23(2):351-67.

246. Reiman EM, Chen K, Alexander GE, Caselli RJ, Bandy D, Osborne D, et al. Functional brain abnormalities in young adults at genetic risk for late-onset Alzheimer's dementia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Jan 6;101(1):284-9.
247. Bell RD, Deane R, Chow N, Long X, Sagare A, Singh I, et al. SRF and myocardin regulate LRP-mediated amyloid-beta clearance in brain vascular cells. *Nat Cell Biol*. 2009 Feb;11(2):143-53.
248. Grammas P. Neurovascular dysfunction, inflammation and endothelial activation: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation*. 2011;8:26.
249. Kumar-Singh S. Cerebral amyloid angiopathy: pathogenetic mechanisms and link to dense amyloid plaques. *Genes Brain Behav*. 2008 Feb;7 Suppl 1:67-82.
250. Bangen KJ, Restom K, Liu TT, Jak AJ, Wierenga CE, Salmon DP, et al. Differential age effects on cerebral blood flow and BOLD response to encoding: associations with cognition and stroke risk. *Neurobiol Aging*. 2009 Aug;30(8):1276-87.
251. Menon U, Kelley RE. Subcortical ischemic cerebrovascular dementia. *Int Rev Neurobiol*. 2009;84:21-33.
252. de la Torre JC. Critical threshold cerebral hypoperfusion causes Alzheimer's disease? *Acta Neuropathol*. 1999 Jul;98(1):1-8.
253. de la Torre JC, Pappas BA, Prevot V, Emmerling MR, Mantione K, Fortin T, et al. Hippocampal nitric oxide upregulation precedes memory loss and A beta 1-40 accumulation after chronic brain hypoperfusion in rats. *Neurol Res*. 2003 Sep;25(6):635-41.
254. Gimbrone MA, Jr. Endothelial dysfunction, hemodynamic forces, and atherosclerosis. *Thromb Haemost*. 1999 Aug;82(2):722-6.
255. Gimbrone MA. The Gordon Wilson lecture. Understanding vascular endothelium: a pilgrim's progress. Endothelial dysfunction, biomechanical forces and the pathobiology of atherosclerosis. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 2010;121:115-27; discussion 27.
256. Libby P. Molecular and cellular mechanisms of the thrombotic complications of atherosclerosis. *J Lipid Res*. 2009 Apr;50 Suppl:S352-7.
257. Zlokovic BV. Neurovascular mechanisms of Alzheimer's neurodegeneration. *Trends Neurosci*. 2005 Apr;28(4):202-8.
258. Zlokovic BV. Neurodegeneration and the neurovascular unit. *Nat Med*. 2010 Dec;16(12):1370-1.
259. Choi BR, Lee SR, Han JS, Woo SK, Kim KM, Choi DH, et al. Synergistic memory impairment through the interaction of chronic cerebral hypoperfusion and amyloid toxicity in a rat model. *Stroke*. 2011 Sep;42(9):2595-604.
260. Wang X, Xing A, Xu C, Cai Q, Liu H, Li L. Cerebrovascular hypoperfusion induces spatial memory impairment, synaptic changes, and amyloid-beta oligomerization in rats. *J Alzheimers Dis*. 2010;21(3):813-22.
261. Mesulam MM. Neuroplasticity failure in Alzheimer's disease: bridging the gap between plaques and tangles. *Neuron*. 1999 Nov;24(3):521-9.
262. Fowkes FG, Murray GD, Butcher I, Heald CL, Lee RJ, Chambless LE, et al. Ankle brachial index combined with Framingham Risk Score to predict

- cardiovascular events and mortality: a meta-analysis. *Jama*. 2008 Jul 9;300(2):197-208.
263. Brindle P, Beswick A, Fahey T, Ebrahim S. Accuracy and impact of risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease: a systematic review. *Heart*. 2006 Dec;92(12):1752-9.
264. Elias MF, Elias PK, D'Agostino RB, Silbershatz H, Wolf PA. Role of age, education, and gender on cognitive performance in the Framingham Heart Study: community-based norms. *Exp Aging Res*. 1997 Jul-Sep;23(3):201-35.
265. Ishii H, Ishikawa H, Meguro K, Tashiro M, Yamaguchi S. Decreased cortical glucose metabolism in converters from CDR 0.5 to Alzheimer's disease in a community: the Osaki-Tajiri Project. *Int Psychogeriatr*. 2009 Feb;21(1):148-56.
266. Curiati PK, Tamashiro-Duran JH, Duran FL, Buchpiguel CA, Squarzoni P, Romano DC, et al. Age-related metabolic profiles in cognitively healthy elders: results from a voxel-based [18F]fluorodeoxyglucose-positron-emission tomography study with partial volume effects correction. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2011 Mar;32(3):560-5.
267. Baxter LR, Jr., Mazziotta JC, Phelps ME, Selin CE, Guze BH, Fairbanks L. Cerebral glucose metabolic rates in normal human females versus normal males. *Psychiatry Res*. 1987 Jul;21(3):237-45.
268. Yoshii F, Barker WW, Chang JY, Loewenstein D, Apicella A, Smith D, et al. Sensitivity of cerebral glucose metabolism to age, gender, brain volume, brain atrophy, and cerebrovascular risk factors. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1988 Oct;8(5):654-61.
269. Andreason PJ, Zametkin AJ, Guo AC, Baldwin P, Cohen RM. Gender-related differences in regional cerebral glucose metabolism in normal volunteers. *Psychiatry Res*. 1994 Feb;51(2):175-83.
270. Vander Borgh T, Laloux P, Maes A, Salmon E, Goethals I, Goldman S. Guidelines for brain radionuclide imaging. Perfusion single photon computed tomography (SPECT) using Tc-99m radiopharmaceuticals and brain metabolism positron emission tomography (PET) using F-18 fluorodeoxyglucose. The Belgian Society for Nuclear Medicine. *Acta Neurol Belg*. 2001 Dec;101(4):196-209.
271. Bartenstein P, Asenbaum S, Catafau A, Halldin C, Pilowski L, Pupi A, et al. European Association of Nuclear Medicine procedure guidelines for brain imaging using [(18)F]FDG. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2002 Oct;29(10):BP43-8.