UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE FÍSICA

JOÃO PAULO SANTOS SILVA

**Avaliação dos efeitos do envelhecimento na hemodinâmica
cerebral por Imagens de Ressonância Magnética**

Ribeirão Preto – SP

2018

JOÃO PAULO SANTOS SILVA	Avaliação dos efeitos do envelhecimento na hemodinâmica cerebral por Imagens de Ressonância Magnética		MESTRADO FFCLRP/USP 2018
------------------------------------	--	--	---

JOÃO PAULO SANTOS SILVA

**Avaliação dos efeitos do envelhecimento na hemodinâmica
cerebral por Imagens de Ressonância Magnética**

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão
Preto da Universidade de São Paulo como
parte das exigências para obtenção do título
de Mestre em Ciências.

Área de Concentração

Física Aplicada à Medicina e Biologia

Orientadora

Prof.^a Dr.^a Renata Ferranti Leoni

Ribeirão Preto – SP

2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Silva, João Paulo Santos Silva

Avaliação dos efeitos do envelhecimento na hemodinâmica cerebral por Imagens de Ressonância Magnética / João Paulo Santos Silva; orientadora, Renata Ferranti Leoni. Ribeirão Preto – SP, 2018.

101 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Física Aplicada à Medicina e Biologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2018.

1. Envelhecimento Cerebral. 2. Perfusão Sanguínea. 3. Conectividade Funcional. 4. Arterial Spin Labeling. 5. Imagem funcional por ressonância magnética.

Nome: SILVA, João Paulo Santos

Título: Avaliação dos efeitos do envelhecimento na hemodinâmica cerebral por Imagens de Ressonância Magnética

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovada em: ____/____/____

Banca Examinadora

Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à minha mãe, Irene Maria por ser o exemplo de pessoa e caráter e por sempre acreditar em mim, não importando as circunstâncias. Obrigado mãe, por todo incentivo, pelos esforços em me instruir e por cuidar de mim.

Agradeço aos colegas do laboratório Inbrain, pela companhia, pelas conversas dos mais diversos assuntos, pelos cafés, pelas dicas e artigos compartilhados e pelas piadas e imitações intermináveis. Em especial, agradeço ao Jeam, Ícaro, André e Pedro que sempre demonstraram interesse em ajudar seja com dicas e opiniões ou com críticas construtivas.

Agradeço especialmente à minha orientadora Professora Renata Leoni, que mesmo com todos os problemas sempre procurou fazer o melhor para todos os seus orientandos, desde iniciação científica aos de Mestrado e Doutorado, sempre os tratando de maneira respeitosa e dando conselhos na medida do possível. Obrigado pelos momentos compartilhados que vão muito além do conhecimento adquirido no dia a dia.

Ao departamento de Física da FFCLRP-USP, ao HC-FMRP e seus funcionários, pelos procedimentos técnicos e disponibilização do aparelho de Ressonância Magnética e de toda a infraestrutura, essenciais para este trabalho. Agradeço também à CAPES financiadora deste projeto, obrigado pela oportunidade.

Obrigada a todos pelo carinho, pelas contribuições pessoais e científicas que me fizeram crescer nesta jornada e ser uma pessoa e pesquisador melhor.

RESUMO

Silva, J. P. S. **Avaliação dos efeitos do envelhecimento na hemodinâmica cerebral por Imagens de Ressonância Magnética**. 2018. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciências na área de Física Aplicada à Medicina e Biologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 2018.

O processo de envelhecimento é acompanhado por um declínio nas funções cognitivas, principalmente, de funções fluidas ou de processamento. Essas diminuições são pelo menos, em parte, devido a alterações estruturais e funcionais do sistema nervoso central. Uma abordagem para estudar as mudanças funcionais é a medição da utilização metabólica regional da glicose, ou, alternativamente, um parâmetro físico correlacionado ao metabolismo cerebral e à atividade funcional local, como o fluxo sanguíneo cerebral (*CBF*). Neste contexto, em Imagens por Ressonância Magnética (*IRM*), a técnica de Marcação dos Spins Arteriais (*ASL*) surge como uma importante ferramenta não invasiva para análises perfusionais. Seu uso não só permite avaliar a perfusão sanguínea cerebral, gerando mapas quantitativos de *CBF*, mas também fornecer uma alternativa para estudar a conectividade funcional (*FC*), um parâmetro importante para descrição da topologia e funcionalidade cerebral. Sessenta e três indivíduos saudáveis, na faixa etária entre dezoito à setenta e dois anos, foram recrutados para participar deste estudo. Análises estatísticas mostram uma diminuição de *CBF* em várias regiões cerebrais, especialmente nos lobos frontal e temporal, que acompanham o processo de envelhecimento. As medidas de *FC* foram obtidas em análises por regiões de interesse e teoria de grafos; estas também demonstraram uma diminuição, com o avanço da idade, em regiões presentes nos lobos frontal e temporal, mas também relataram um maior número de regiões prejudicadas no lobo parietal. Portanto, usando uma técnica de imagem não invasiva, foi possível observar déficits de *CBF* além de alterações de aspectos da organização funcional, oferecendo valores quantitativos que podem ajudar na melhor descrição dos efeitos do envelhecimento na hemodinâmica cerebral.

Palavras-chave: Envelhecimento Cerebral. Perfusão Sanguínea. Conectividade Funcional. Marcação dos Spins Arteriais. Imagem por Ressonância Magnética funcional.

ABSTRACT

Silva, J. P. S. **Evaluation of aging effects on cerebral hemodynamics by Magnetic Resonance Imaging**. 2018. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciências na área de Física Aplicada à Medicina e Biologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 2018.

Aging process is accompanied by a decline in cognitive functions foremost comprise fluid or processing-based functions. These decreases are at least partly due to structural and functional deteriorating changes of the central nervous system. One approach to study these functional changes is the measurement of the regional metabolic utilization of glucose, or, alternatively, a physical quantity correlated to cerebral metabolism and local functional activity, such as the cerebral blood flow (CBF). In this context, Arterial spin labeling (ASL) emerges as a noninvasive Magnetic Resonance Imaging (MRI) perfusion technique. Its use not only allows assessing cerebral perfusion, by generating CBF values, but also can provide an alternative to study functional connectivity (FC), which is an important parameter that describes the brain topology and functionality. Sixty-three healthy subjects, from age eighteen to seventy-two years, were recruited to participate in this study. ASL-CBF maps showed a decrease in several brain regions, especially in frontal and temporal lobes that follows aging process. FC measures were assessed with regions of interest (ROI-to-ROI) and graph theory analysis, also showing a decrease in regions present in frontal and temporal lobes, and also more impaired regions in the parietal lobe. Therefore, using a noninvasive imaging technique it was possible to observe CBF deficits besides alteration in aspects on functional organization, offering quantitative values that can help to describe better the aging effects on cerebral hemodynamics.

Keywords: Brain Aging. Blood Perfusion. Functional Connectivity. Arterial Spin Labeling. Functional Magnetic Resonance Imaging.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Representação ilustrativa das meninges (item A) e de algumas estruturas básicas do sistema nervoso central (item B). Figura adaptada de (KANDEL et al., 2012).....	4
Figura 1.2: Divisões referentes aos componentes do encéfalo. Figura adaptada de (KANDEL et al., 2012).....	5
Figura 1.3: Organização geral do Sistema Circulatório. Figura adaptada de (PITTMAN, 2011).....	7
Figura 1.4: Representação do Círculo de Willis. Figura adaptada de (VRSELJA et al., 2014).....	8
Figura 1.5: Representação da função seletiva exercida pela BBB. Figura adaptada de (SERLIN et al., 2015).....	12
Figura 1.6: Representação dos neurônios e seu princípio de ação. Figura adaptada de (KANDEL et al., 2012).....	14
Figura 1.7: Representação de uma sinapse química, com propagação do impulso nervoso e liberação dos neurotransmissores que efetuam contato com a membrana pós-sináptica. Figura adaptada de (GIROUARD et al., 2014).....	15
Figura 1.8: Representação do modelo de aquisição das imagens ASL controle e de marcação. Figura adaptada de (FERRÉ et al., 2013).....	28
Figura 1.9: Obtenção do mapa de CBF a partir da subtração das imagens controle e de marcação. Figura adaptada de (BOROGOVAC; ASLLANI, 2012).....	29
Figura 1.10: Metodologia de aplicação dos pulsos de RF para obtenção das imagens PASL. Figura adaptada de (ALSOP et al., 2015).....	31
Figura 1.11: Metodologia de posicionamento (plano de marcação e região de leitura – item A) e diagrama de aplicação dos pulsos de RF e gradientes de campo (item B) para aquisição das imagens pCASL. Fonte: Autor.....	33

Figura 1.12: Representação do passo-a-passo da análise baseada no método por semente. O item a) ilustra a série temporal de uma região aleatória, o item b) é relacionado ao janelamento quando estímulos são realizados nos exames funcionais com posterior seleção da região de semente, o item c) é a etapa que realiza a correlação da série temporal média da semente com a de todos os outros voxels ou regiões de interesse da imagem e o item d) a que evidencia o resultado final, a partir de um limiar estatístico, apresentado pelo mapa de todas as áreas de alta correlação com a semente. Figura adaptada de (VAN DEN HEUVEL; HULSHOFF POL, 2010)..... 40

Figura 1.13: Modelo de análise por teoria de grafos: 1) extração da série temporal das ROI's, 2) cálculo da correlação temporal entre as áreas escolhidas (matriz conectividade), 3) escolha do limiar do valor de correlação para ser utilizado no cálculo dos parâmetros de rede e 4) representação da rede de conexões pela teoria de grafos. Figura adaptada de (WANG, 2010)..... 42

Figura 3.1: Modelo das etapas utilizadas no processamento de imagens..... 48

Figura 3.2: Modelo Ilustrativo do método de Subtração Sinc para obtenção dos mapas de CBF. Fonte: Autor..... 49

Figura 3.3: Modelo de Subtração Pairwise para obtenção da série temporal a ser utilizada nas análises funcionais. Fonte: Autor..... 50

Figura 4.1: Regiões Polo Frontal Esquerdo e Giro Angular Direito apresentaram redução significativa de CBF com a idade. Fonte: Autor..... 53

Figura 4.2: Regiões que apresentaram decréscimo significativo de CBF com o aumento da idade. Ressaltando que o córtex pré-frontal é uma representação das regiões de número 5 a 12, e o lobo temporal das regiões 17 à 32 do atlas anatômico utilizado (Anexo D). Fonte: Autor.....54

Figura 4.3: Taxa de variação de CBF em função da idade..... 54

Figura 4.4: Mapas de CBF médio dos grupos 1, 2 e 3, respectivamente. Fonte: Autor..... 55

Figura 4.5: Regiões que apresentaram redução de CBF significativa ($p\text{-}FDR < 0,05$) na comparação entre grupos. Fonte: Autor.....	56
Figura 4.6: Taxa de variação de CBF relativa a faixa etária que compreende A) os grupos 1 e 2 e B) grupos 2 e 3. Fonte: Autor.....	56
Figura 4.7: Giro pré-central esquerdo (ROI #34) e giro paracingulado direito (ROI #53) apresentaram redução significativa da conectividade funcional média em função da idade. Fonte: Autor.....	57
Figura 4.8: Regiões que apresentaram redução significativa da conectividade funcional média em função da idade. Sendo o lobo temporal direito representado pelas regiões 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 e 31; e o giro central pelas regiões 13, 14, 33 e 34 do atlas anatômico utilizado (Anexo D). Fonte: Autor.....	58
Figura 4.9: Regiões que apresentaram redução significativa de conectividade funcional, dada pela correlação de Pearson entre suas flutuações espontâneas de CBF, na comparação entre os grupos 1, 2 e 3. Fonte: Autor.....	59
Figura 4.10: Variação dos parâmetros de rede Eficiência Global e Caminho Livre Médio em função do aumento da idade. Fonte: Autor.....	60
Figura 8.1: Atlas de Parcelamento Anatômico Harvard-Oxford.....	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1: Definições de todos os parâmetros de rede utilizados no estudo. Tabela adaptada de (STAM; REIJNEVELD, 2007).....	43
Tabela 3.1: Características demográficas dos três subgrupos utilizados no estudo. Grupo 1 composto por indivíduos de 18 a 30 anos, Grupo 2 de 30 a 50 anos e Grupo 3 acima de 50 anos.....	45
Tabela 4.1: Regiões que apresentaram redução significativa ($p\text{-}FDR < 0,05$) para cada parâmetro de rede nodal calculado. Entre parênteses está indicada a taxa de variação do parâmetro em relação a idade (em anos). Fonte: Autor.....	60
Tabela 4.2: Regiões que apresentaram redução significativa ($p\text{-}FDR < 0,05$) dos parâmetros de rede nodais (grau, força, coeficiente de clusterização e eficiência local) na comparação entre os grupos 1, 2 e 3. Fonte: Autor.....	62
Tabela 8.1: Número, Nome e respectiva área de Brodmann (AB) das regiões do atlas Harvard-Oxford.....	99
Tabela 8.2: Número, Nome e uma função das Áreas de Brodmann (AB) a serem analisadas. Tabela adaptada de (BRODMANN; GAREY, 2006).....	101

LISTA DE ABREVIATURAS

ASL	<i>Arterial Spin Labeling</i>
ATP	Adenosina Trifosfato
BBB	<i>Blood Brain Barrier</i>
BOLD	<i>Blood Oxygenation Level Dependent</i>
CASL	<i>Continuous Arterial Spin Labeling</i>
CBF	<i>Cerebral Blood Flow</i>
CBV	<i>Cerebral Blood Volume</i>
CMRO ₂	<i>Cerebral Metabolic Rate of Oxygen</i>
CSF	<i>Cerebrospinal Fluid</i>
CT	<i>Computadorized Tomography</i>
DCE	<i>Dynmic Contrast Enhacement</i>
DSC	<i>Dynamic Susceptibility Contrast</i>
EEG	Eletronefalograma
EPI	<i>Echo Planar Imaging</i>
FDR	<i>False Discovery Rate</i>
FOV	<i>Field of View</i>
FWHM	<i>Full Width at Half Maximum</i>
HAROLD	<i>Hemispheric Asymmetry Reduction in Old Adults</i>
HCFMRP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
IRM	Imagens por Ressonância Magnética
IRMf	Imagens por Ressonância Magnética funcionais
MNI	<i>Montreal Neurological Institute</i>
MT	<i>Magnetization Transfer</i>
MTT	<i>Mean Transit Time</i>
NIRS	<i>Functional Near Infrared Spectroscopy</i>
PAM	Pressão Arterial Média
PASL	<i>Pulsed Arterial Spin Labeling</i>
PCA	<i>Principal Component Analysis</i>
pCASL	<i>pseudocontinuous Arterial Spin Labeling</i>
PIC	Pressão Intracraniana
PPC	Pressão de Perfusão Cerebral
PET	<i>Positron Emission Tomography</i>

PLD	<i>Post-Labeling Delay</i>
RF	Radiofrequência
ROI	<i>Region of Interest</i>
RM	Ressonância Magnética
SNR	<i>Signal-to-Noise Ratio</i>
SB	Substância Branca
SC	Substância Cinzenta
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
SPECT	<i>Single Photon Emission Computadorized Tomography</i>
T1	Tempo de Relaxação Longitudinal
T2*	Tempo de Relaxação Transversal – Inomogeneidade de Campo
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TE	Tempo ao Eco
TI	Tempo de Inversão
TOF	<i>Time of Flight</i>
TR	Tempo de Repetição

LISTA DE SÍMBOLOS

$C(G)$	Coeficiente de clusterização
E_{global}	Eficiência global
E_{local}	Eficiência local
k_i	Grau do nó
L	Menor distância entre nós
M_0	Magnetização macroscópica inicial do tecido
M_a	Magnetização longitudinal arterial
M_t	Magnetização macroscópica do tecido
M_v	Magnetização longitudinal venosa
T_{1t}	Tempo de relaxação longitudinal do sangue
T_{app}	Tempo de relaxação longitudinal aparente do tecido
α	Eficiência de marcação
ΔM	Diferença de sinal
λ	Coeficiente de partição cérebro-sangue
LT	Duração da marcação
PLD	Tempo de atraso pós-marcação
ST	Tempo de leitura por fatia
FCS_i	Força da Conectividade de um nó

SUMÁRIO

1. Fundamentação Teórica	1
1.1. Envelhecimento	1
1.2. Sistema Nervoso Central	4
1.3. Hemodinâmica Cerebral	6
1.4. Perfusão Sanguínea Cerebral	9
1.5. Barreira Hematoencefálica	11
1.6. Processo Sináptico	13
1.7. Envelhecimento Cerebral	16
1.8. Métodos de Medida da Perfusão Sanguínea Cerebral	22
1.8.1. Técnicas Ópticas	23
1.8.2. CT	24
1.8.3. SPECT	25
1.8.4. PET	25
1.8.5. IRM	26
1.9. Arterial Spin Labeling	27
1.9.1. ASL Contínua (CASL)	28
1.9.2. ASL Pulsada (PASL)	29
1.9.3. ASL Pseudo-contínua (pCASL)	32
1.9.4. Quantificação de CBF	33
1.10 ASL Funcional	36
1.11 Conectividade Funcional	38
1.11.1 Método de Análise por Semente	39
1.11.2 Teoria de Grafos	40
2 Objetivos e Justificativas	44
3 Metodologia	45
3.1 Participantes	45
3.2 Aspectos Éticos e Orientações	45
3.3 Aquisição das Imagens	46
3.3.1 <i>Arterial Spin Labeling</i> pseudocontínua (pCASL)	46
3.3.2 <i>Imagem Ponderada em Densidade de Prótons (M0)</i>	47
3.3.3 Imagens Anatômicas	47

3.3.4	Imagem TOF	47
3.4	Processamento e Análise dos Dados	47
3.4.1	Pré-processamento	48
3.4.2	Cálculo das Imagens de Perfusão	48
3.4.3	Cálculo dos Mapas de CBF	50
3.4.4	Análise Funcional	51
3.4.4.1	Conectividade Funcional	51
3.4.4.2	Teoria de Grafos	51
3.4.5	Análises Estatísticas	52
4	Resultados	53
4.1	Fluxo Sanguíneo Cerebral Basal	53
4.1.1	Análise em Grupo Único	53
4.1.2	Análise em Subgrupos	55
4.2	Conectividade Funcional	57
4.2.1	Análise em Grupo Único	57
4.2.2	Análise em Subgrupos	58
4.3	Teoria de Grafos	59
4.3.1	Análise em Grupo Único	59
4.3.2	Análise em Subgrupos	60
5	Discussão	62
6	Conclusões	70
7	Referências Bibliográficas	71
8	Anexos	87

1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1. ENVELHECIMENTO

Ao longo da história da humanidade, o envelhecimento e as suas consequências, suscitaram o interesse de inúmeros historiadores e investigadores que apresentaram várias crenças, modelos explicativos e consequentemente, diversas definições possíveis para este processo. As crenças detectáveis em torno do envelhecimento, por exemplo, no Velho Testamento, eram justificadas através de uma punição divina dada ao primeiro casal humano – Eva e Adão – pelos pecados cometidos. Segundo esta crença cristã, a punição retirou ao Homem o privilégio de viver eternamente, de se manter jovem, vigoroso, e sem doenças. O Homem viu assim os seus dias serem reduzidos a apenas 120 anos e com consequências prejudiciais que reduziriam ainda mais os seus anos de vida (PAÚL, 2005).

Enquanto questão existencial, o envelhecimento também interessou aos filósofos. Platão (427-347 a.C.) definiu o envelhecimento como o seguimento contínuo da vida adulta, onde os prazeres físicos dão lugar aos prazeres do espírito, remetendo para a ideia de construção da maturidade ou sabedoria, em detrimento de um estado anterior imaturo. Aristóteles (384-322 a.C.) defendeu que as últimas fases de vida seriam caracterizadas pela presença da senilidade associada ao comprometimento geral das capacidades físicas, espirituais e da personalidade (PAÚL, 2005).

As primeiras hipóteses médicas associadas às causas do envelhecimento foram apresentadas por Hipócrates (460-377 a.C.) na Grécia antiga. Este postulou que o envelhecimento, enquanto processo individual consistia na perda natural, progressiva e irreversível da “força vital” expondo o indivíduo a doenças e, por fim, levando-o à morte. Ainda segundo Hipócrates, o envelhecimento bem-sucedido passaria, essencialmente, pela adoção de uma alimentação comedida e pela realização de exercícios físicos. Tal como na Grécia, na outra civilização clássica – Roma – o médico Galeno (131-201) partiu da articulação entre a teoria de Aristóteles e de Hipócrates para definir o envelhecimento como sendo o resultado da desidratação contínua do corpo, perante o calor recebido, dando origem à pele enrugada, à diminuição do tamanho do corpo, tornando-o débil e disfuncional. O autor refere, também, que tais alterações podem ser influenciadas por fatores externos e apresenta características distintas de indivíduo para indivíduo (PAÚL, 2005).

Enquanto tais teorias tinham por objetivo explicar o envelhecimento, os modelos teóricos posteriores ao período Renascentista procuravam a sua “cura”, ou a diminuição do seu impacto em busca da prolongação da juventude. Apesar dos esforços médicos, os resultados encontrados mostraram-se insuficientes para combater as implicações do envelhecimento fossem estas físicas ou mentais. Contudo, tal como referido em parágrafos anteriores, os cuidados com a alimentação passaram a ser parte integrante dos cuidados para se ter uma maior longevidade. Do mesmo modo, a manutenção da higiene e o devido controle emocional seriam também fundamentais para o incremento da saúde (ABOIM, 2014).

Essas teorias constituíram e ajudaram ao longo de séculos de estudo bases fundamentais para possíveis definições, compreensões do processo de envelhecimento e para o surgimento de novos paradigmas que não só passaram a vê-lo como parte integrante de um processo contínuo decorrente do ciclo de vida, como se passou a sustentar a ideia de que este apresenta características muito próprias (FERREIRA et al., 2010).

O envelhecimento de maneira geral é discutido como um processo de deterioração gradual sofrida pelo organismo, em função da passagem do tempo, ou após a sua fase de desenvolvimento (PENNEQUIN et al., 2007). Tanto o desenvolvimento como o envelhecimento são partes integrantes de um processo dinâmico, onde são observadas alterações de natureza orgânica, psicológica e social. Outros autores afirmam que o envelhecimento consiste na diminuição e perda da capacidade biológica de autorregulação, reparação e adaptação às exigências ambientais, reduzindo, deste modo, a capacidade de sobrevivência do organismo (GABRIEL, PEDRO; CONBOY, 2010).

O processo de envelhecimento não afeta do mesmo modo todos os órgãos, assim, o declínio é em média mais rápido nos tecidos do aparelho respiratório, circulatório e na pele sendo relativamente mais lentos nos tecidos nervosos (SERGIEV; DONTSOVA; BEREZKIN, 2015). Desta forma, pode-se defini-lo como um processo dinâmico e gradual resultante das alterações irreversíveis das capacidades morfológicas, funcionais e biopsicossociais que acentuam a perda da capacidade de adaptação do organismo ao meio ambiente, causando maior vulnerabilidade, propensão a quadros patológicos e, conseqüentemente, levando à morte (FRIES; PEREIRA, 2013).

As variações entre indivíduos que ocorrem no processo de envelhecimento são dependentes de diversos fatores, como estilo de vida, condições socioeconômicas e doenças crônicas. Já o envelhecimento biológico está relacionado ao plano molecular,

celular, tecidual e orgânico do indivíduo (Fechine, 2012). Seu processo natural ao nível celular ou conjunto de fenômenos associados, mais conhecido como senescência, resulta do somatório de alterações orgânicas, funcionais e psicológicas do envelhecimento normal, enquanto que a senilidade é caracterizada por afecções que frequentemente comprometem indivíduos idosos (SCHAAN et al., 2007). Diversas modificações morfológicas e fisiológicas podem surgir no processo de envelhecimento, em vários níveis do organismo. Tal processo leva a um progressivo decréscimo na capacidade fisiológica e redução da capacidade de respostas ao estresse ambiental, podendo assim acarretar um aumento da susceptibilidade e vulnerabilidade a doenças (PARK; YEO, 2013).

Outro tópico usualmente discutido é que mesmo em um processo adaptativo e de desenvolvimento, o indivíduo senil apresenta prejuízo em diversos aspectos de seu domínio cognitivo e comportamental, principalmente em funções executivas. Este é um processo moldado pelas diferenças individuais e pela fragilidade das operações cognitivas e funcionais, sendo que estas podem apresentar danos ao nível tecidual cerebral (RAZ; RODRIGUE; HAACKE, 2007).

À medida que a população mundial envelhece, o declínio cognitivo se torna uma alteração de grande impacto em sua saúde, de maneira que as mudanças comportamentais e cognitivas, que fazem parte desta etapa da vida, podem ser melhor compreendidas e fundamentadas a partir de informações do tecido cerebral. Para tanto, a neurociência moderna conta com avanços dos métodos de imagem, dentre eles as imagens por ressonância magnética (IRM), considerada hoje como uma importante ferramenta no padrão de imageamento para estudo do sistema nervoso central (FERREIRA; BUSATTO, 2013). A combinação das IRM e técnicas de processamentos de imagem contribuem ainda mais no conhecimento das características do processo de envelhecimento, permitindo a quantificação de uma série de variáveis e uma análise mais criteriosa das mudanças estruturais e funcionais cerebrais relacionadas à idade (SALA-LLONCH; BARTRÉS-FAZ; JUNQUÉ, 2015; WALHOVD et al., 2011).

Do ponto de vista neurológico, o envelhecimento cerebral é um processo complexo e heterogêneo associado a alto grau de variação interindividual estrutural e funcional, e possível declínio cognitivo (GUNNING-DIXON; RAZ, 2000; MEUNIER; STAMATAKIS; TYLER, 2014). Dita a importância e complexidade de se entender os processos evolutivos e adaptativos do cérebro humano, no próximo tópico serão

apresentados conceitos e definições de seu principal sistema representativo, o Sistema Nervoso Central.

1.2 SISTEMA NERVOSO CENTRAL

O sistema nervoso pode ser dividido em duas partes: sistema nervoso central (SNC) e sistema nervoso periférico (SNP). O SNP é formado pelas fibras nervosas, que são responsáveis pelo transporte da informação sentida nos órgãos receptores de estímulo e seu envio ao SNC, e no seu sentido inverso (SNC para os órgãos). Elas estão presentes por todo o corpo formando uma rede complexa. O SNC é representado pelo conjunto cérebro-espinhal, do qual saem estímulos e ao qual chegam as informações trazidas via fibras nervosas (HORMUZDI et al., 2004). Sua função é basicamente o processamento e integração de toda a informação gerada pelos órgãos e sentidos. Após esta integração o SNC emite a resposta aos órgãos e sentidos, respondendo ao estímulo inicial.

O SNC é formado por estruturas encontradas dentro do crânio e no interior da coluna vertebral, onde se encontra a medula espinhal. Dentro da caixa craniana encontra-se o encéfalo, que possui uma forma irregular com dobraduras e saliências (LICHTNECKERT; REICHERT, 2010) e é protegido por uma série de membranas, as chamadas meninges: dura mãe, aracnóide e a pia mãe (Figura 1.1 - A).

Figura 1.1: Representação ilustrativa das meninges (item A) e de algumas estruturas básicas do sistema nervoso central (item B). Figura adaptada de (KANDEL et al., 2012).

As meninges protegem o encéfalo, que é dividido em cérebro, cerebelo e tronco encefálico, sendo que cada uma destas estruturas possui funções diferentes. O tronco encefálico é responsável pela conexão entre a medula espinhal e as principais estruturas do encéfalo. O cerebelo fica próximo ao tronco encefálico, e é responsável dentre as diversas funções, pela manutenção do equilíbrio, pela postura corporal, pelo controle

dos tônus musculares, dos movimentos voluntários, bem como a aprendizagem motora. Sendo dividido em dois hemisférios: hemisférios cerebelares e parte central, ou Vermis (Figura 1.1 - B).

O cérebro é a parte mais desenvolvida e volumosa do encéfalo e é dividido em dois hemisférios separados, porém ligados pelo corpo caloso (DE BRUÏNE et al., 2011). Em cada hemisfério notam-se regiões distintas: uma camada externa (conhecida por substância cinzenta), e outra mais interna (substância branca). A camada mais superficial formada pela substância cinzenta é denominada de córtex cerebral (Figura 1.2).

Figura 1.2: Divisões referentes aos componentes do encéfalo. Figura adaptada de (KANDEL et al., 2012).

A substância cinzenta (SC) é um importante componente do SNC, consistindo de corpos de células nervosas, células da glia (astroglia e oligodendrócitos), capilares, axônios e dendritos. Está distribuída na superfície dos hemisférios cerebrais e do cerebelo, assim como nas profundidades do cérebro, do cerebelo e da haste cerebral (KURTH et al., 2014). É responsável por interpretar os impulsos nervosos das regiões do corpo até o encéfalo, produzir sinais de resposta, coordenar atividades musculares e reflexos, por exemplo. Também inclui regiões do cérebro envolvidas no controle muscular e na percepção sensorial, como visão e audição, memória, emoções e fala.

Já a substância branca (SB) se refere a um conjunto de células com funções de estruturação anatômica, isolamento elétrico e nutrição dos neurônios e gânglios.

Consiste principalmente de células gliais e pacotes de células nervosas mielinadas (ou axônios), os quais conectam diversas áreas de substância cinzenta (os locais dos corpos celulares nervosos) e ajudam na transmissão dos impulsos nervosos entre neurônios (MARNER et al., 2003). A mielina age como um isolante, aumentando a velocidade de transmissão dos sinais nervosos.

A forma irregular do encéfalo possibilita a formação de dobraduras e depressões, conhecidas por giros e sulcos, respectivamente. A localização de quatro grandes sulcos possibilita a divisão de cada hemisfério cerebral em cinco lobos conhecidos por: frontal, parietal, temporal, occipital e insular (situado no interior do hemisfério). Esta divisão é uma das formas mais usuais de divisão do cérebro (LICHTNECKERT; REICHERT, 2010).

O SNC não está em contato com o ar. Pelo contrário, ele flutua em um ambiente líquido especial, delimitado pelas meninges, que o protege mecanicamente e favorece trocas metabólicas (WRIGHT; LAI; SINCLAIR, 2012). O líquido que preenche esse sistema de compartimento é o líquido ou líquido cefalorraquidiano (CSF, do inglês *Cerebrospinal Fluid*), produzido por estruturas especializadas chamadas plexos coróides. A partir dos plexos coróides, o líquido circula pelos ventrículos, passa ao espaço subaracnóideo e é finalmente drenado para o sangue venoso. Esse ambiente líquido que banha o exterior do sistema nervoso e o interior de suas cavidades não é suficiente para garantir a nutrição e o aporte de oxigênio para o tecido nervoso. Para isso é necessária uma rede vascular bastante ramificada e extensa. O sistema circulatório é o responsável por representar a rede de suporte vascular necessária ao tecido cerebral e será discutido no próximo tópico.

1.3 HEMODINÂMICA CEREBRAL

A hemodinâmica é o capítulo da fisiologia que estuda a circulação do sangue. O principal sistema do organismo que representa a estrutura de suporte, em conjunto com a série de eventos que ocorrem no processo hemodinâmico, é o Sistema Circulatório. Ele é dedicado ao fornecimento de oxigênio, substâncias nutritivas e hormônios aos tecidos; além de exercer a função de levar os produtos residuais do metabolismo (CO_2 e ureia) até os órgãos responsáveis por sua eliminação. O alcance do sangue a todas as regiões do nosso organismo se dá através dos vasos sanguíneos, divididos em três tipos principais: as artérias, as veias e os capilares (FUNG; ZWEIFACH, 1971).

Os vasos que partem do coração e vão para a periferia do corpo são conhecidos como artérias. Os que seguem o percurso inverso são chamados de veias. As artérias carregam o sangue rico em oxigênio e nutrientes para os tecidos do corpo e as veias carregam um sangue rico em anidrido carbônico e substâncias rejeitadas pelos tecidos, as quais são eliminadas pelos rins que têm como função a filtragem do sangue. Nos pulmões temos a eliminação do anidrido carbônico e a absorção de oxigênio por meio da respiração (PITTMAN, 2011).

Conforme avançam para a periferia do corpo, as artérias se estreitam formando as arteríolas. Estas continuam se estreitando até chegar a níveis microscópicos, formando os capilares. Nos capilares ocorrem as trocas gasosas e de nutrientes entre as células e o sangue. Os capilares formam, nos órgãos, uma intrincada rede e depois se juntam para formar as vênulas (pequenas veias). Elas vão se aglomerando para formar o conjunto de veias que trazem o sangue de volta ao coração (Figura 1.3).

Figura 1.3: Organização geral do Sistema Circulatório. Figura adaptada de (PITTMAN, 2011).

No sistema nervoso, as artérias que levam o sangue para o encéfalo e medula se abrem em vasos cada vez mais finos, que por sua vez, se ramificam em uma extensa rede de capilares que é capaz de irrigar todas as regiões neurais, levando o oxigênio e nutrientes necessários para seu funcionamento. A rede vascular do sistema nervoso tem

particularidades morfológicas e funcionais que se distinguem da circulação sistêmica. Estas estruturas especializadas exigem um suprimento constante de oxigênio e nutrientes para sua integridade (BEAL, 2000). Assim, a circulação sanguínea do SNC deve apresentar características especiais que deem conta da delicada relação entre atividade funcional, metabolismo e fluxo sanguíneo no tecido nervoso (JOHNSTON et al., 2003).

As artérias vertebrais, direita e esquerda, vêm juntas na base do cérebro para formar uma única artéria basilar. Esta se junta ao suprimento de sangue da artéria carótida interna em um círculo da base do cérebro, chamado Círculo ou Polígono de Willis, uma estrutura onde os vasos se bifurcam e recombina, ou uma anastomose. Estas poucas anastomoses representam alternativas para se manter irrigada uma região, mesmo que apenas parcialmente, quando sua artéria principal sofre algum tipo de obstrução. O círculo arterial do cérebro, ou polígono de Willis (Figura 1.4), é uma anastomose arterial de forma poligonal situado na base do cérebro (USTUN, 2007).

Figura 1.4: Representação do Círculo de Willis. Figura adaptada de (VRSELJA et al., 2014).

Esse círculo, em casos desfavoráveis, permite a manutenção de um fluxo sanguíneo adequado em todo o cérebro, em caso de obstrução de uma ou mais das artérias principais que irrigam o cérebro. Isso acontece pelo fato de que se o suprimento de sangue for interrompido, as células do cérebro morrem. Sendo as células cerebrais

altamente especializadas, o cérebro tem prioridade superior para o fornecimento de fluido sanguíneo; ou seja, mesmo se outros órgãos necessitarem de sangue, o corpo tenta fornecer prioritariamente ao cérebro um fluxo constante (VRSELJA et al., 2014).

Uma característica importante das arteríolas do sistema nervoso é a sua capacidade de mudar localmente seu diâmetro, seja para manter o fluxo sanguíneo constante, seja para mudá-lo, em resposta às necessidades funcionais. Sabe-se que o diâmetro dos vasos responde a variações na pressão sistêmica (JOHNSTON et al., 2003). Quando ocorre uma queda na pressão arterial, no organismo de um indivíduo, geralmente há uma diminuição do fluxo sanguíneo, ocasionado pela vasoconstrição sistêmica, provocada pela ação de regiões do tronco encefálico e do sistema nervoso autônomo. Importantemente, a maioria da resistência cerebrovascular é controlada fora do parênquima por artérias extracerebrais. Portanto, o ajuste coordenado de artérias extra e intracerebrais em resposta às mudanças na pressão de perfusão é crucial para manter uma circulação adequada e função cerebral normal (VRSELJA et al., 2014).

Deste modo, o aporte de sangue para o encéfalo e a medula pode ser mantido constante independente das variações sistêmicas, garantindo integridade funcional ao tecido de irrigação. Dito isso, o próximo tópico irá apresentar e discutir um importante parâmetro fisiológico que permite trazer informações valiosas da funcionalidade regional, a perfusão sanguínea cerebral.

1.4 PERFUSÃO SANGUÍNEA CEREBRAL

O cérebro humano recebe, em condições de repouso, aproximadamente 15% do fornecimento cardíaco, além de utilizar cerca de 20% de todo o oxigênio disponível no organismo para manutenção de sua integridade celular, além da realização de trabalhos eletrofisiológicos. Ele é capaz de suportar apenas períodos muito curtos de isquemia, diferentemente dos rins, do fígado e dos músculos lisos, por exemplo. Logo, a manutenção do fornecimento sanguíneo é de extrema importância para assegurar uma oferta constante de metabólitos, oxigênio e glicose, além de retirar os produtos residuais do metabolismo cerebral (BOR-SENG-SHU et al., 2012).

Os metabólitos se difundem a partir do sangue e passam através das membranas dos capilares para dentro dos tecidos. Esse suprimento, contínuo, é essencial para as células teciduais. O termo perfusão refere-se à passagem de um fluido através de um sistema de fornecimento, geralmente sistema circulatório ou linfático, com ênfase em

sua posterior entrega a nível tecidual. Logo, a perfusão sanguínea geralmente é referida como a passagem e entrega de sangue pelo leito capilar (HOGE et al., 1999).

A perfusão está, portanto, intimamente relacionada ao estado fisiológico do tecido. As medidas de perfusão têm aumentado visivelmente o conhecimento sobre a hemodinâmica deficiente em algumas regiões como pacientes com estenose de carótida e demência vascular (SCHUFF et al., 2009; Y et al., 2011).

O padrão quantificado da perfusão sanguínea cerebral, ou fluxo sanguíneo cerebral (CBF, do inglês *Cerebral Blood Flow*), não é nem aleatório e nem relacionado com a organização anatômica da vascularização cerebral. É usualmente definido como a quantidade de sangue fornecida a um determinado volume de tecido ao longo do tempo, sendo descrito em mililitros por 100 gramas de tecido por minuto. Grande parte de todo o fluxo que chega ao cérebro é de responsabilidade das grandes artérias. Porém, as arteríolas distribuídas no parênquima cerebral têm sua importância na contribuição total da distribuição do sangue (PITTMAN, 2011).

Em um estado de normalidade funcional, ocorre um acoplamento muito bem regulado entre a demanda regional do cérebro por oxigênio e glicose ($CMRO_2$, do inglês *Cerebral Metabolic Rate of Oxygen*) gerada pela atividade neuronal local e o volume de sangue (CBV, do inglês *Cerebral Blood Volume*) fluindo através desse tecido. Este acoplamento deve-se à regulação metabólica e se torna possível devido aos mecanismos adaptativos dos vasos sanguíneos cerebrais, como a autorregulação cerebral, a regulação endotelial e a hiperemia funcional (BOR-SENG-SHU et al., 2012).

A autorregulação cerebral é responsável pela manutenção do CBF relativamente constante a despeito de variações na pressão arterial, aproximadamente de 60 a 150 mmHg para pressão arterial média. Como a pressão arterial pode variar mesmo durante as atividades normais do dia a dia, as artérias cerebrais têm a capacidade de contrair quando a pressão intravascular aumenta e relaxar quando esta diminui, mantendo a estabilidade do CBF (VAN BEEK et al., 2008).

Já a hiperemia funcional é o mecanismo que regula a distribuição do CBF de acordo com a atividade funcional de diferentes regiões cerebrais, de maneira que o fluxo aumenta em uma determinada região quando a atividade cerebral também aumenta. Células vasculares (miócitos e pericitos) têm a capacidade de converter sinais químicos provenientes das células endoteliais, neurônios ativos e glia em variações no diâmetro vascular através de mudanças na concentração de cálcio intracelular. Portanto, esse mecanismo é mediado por fatores originados de diferentes células e que agem em vários

níveis da vascularização cerebral (MURRANT; LAMB; NOVIELLI, 2017).

Do ponto de vista físico, a manutenção do CBF depende de um equilíbrio entre a pressão dentro do crânio, ou pressão intracraniana (PIC) e a pressão arterial média do sangue (PAM), onde a pressão de perfusão cerebral (PPC) é definida como sendo a diferença entre a PAM e a PIC. Assim, quando a PAM diminui, alguns mecanismos fisiológicos são ativados para manter o CBF e evitar isquemia neuronal. Da mesma forma, se a PAM se eleva, o CBF também deve ser mantido; caso contrário, o volume do cérebro aumentaria pelo aumento do CBF e a PIC se elevaria. Este processo é denominado de autorregulação cerebral (VAN BEEK et al., 2008).

É válido ressaltar que o aporte de sangue para o encéfalo e medula pode ser mantido constante independente das variações sistêmicas. Para tanto é necessário um sistema completo de fornecimento e regulação sanguínea e que também garanta entrega energética a nível microscópico, especialmente para células nervosas de alto índice metabólico. A barreira Hematoencefálica é uma das estruturas que representam a interface entre o suporte perfusional e a integridade das células nervosas e será discutida no próximo tópico.

1.5 BARREIRA HEMATOENCEFÁLICA

A primeira noção de que os capilares do SNC teriam uma permeabilidade diferente dos demais foi obtida através de experiências com animais realizadas no fim do século 19. Verificou-se que, injetando certos tipos de corantes vitais na corrente sanguínea, todos os órgãos se coravam, com exceção do cérebro, o que indicava que estes corantes não atravessam as paredes dos capilares cerebrais. Entretanto, quando o mesmo corante era injetado no líquido cerebrospinal (CSF), havia coloração do tecido nervoso cerebral. Isso sugeria a existência de uma espécie de “barreira”, que evitava a entrada de algumas substâncias no SNC. Surgiu assim, a ideia de que qualquer substância que penetrasse no líquido já estaria em contato com o tecido nervoso, mas que existia um tipo de dispositivo que impedia ou inibia a passagem de substâncias do sangue para o tecido nervoso (BALLABH; BRAUN; NEDERGAARD, 2004).

A barreira hematoencefálica (BBB, do inglês *Blood Brain Barrier*) é formada por células endoteliais que constituem a parede dos capilares (vasos sanguíneos muito finos), fortemente unidas umas às outras por junções oclusivas, isto é, as membranas das células endoteliais adjacentes estão estreitamente justapostas umas com as outras

(Figura 1.5). Geralmente, na maioria dos outros capilares do corpo, o tecido endotelial possui poros ou fendas para que substâncias possam se mover de um lado para o outro, entrando e saindo dos capilares (SERLIN et al., 2015). Porém, no cérebro, as células endoteliais são posicionadas de maneira que apenas as menores substâncias possam entrar no SNC. Moléculas maiores, como a glicose, só podem entrar através de mecanismos especiais, específicos para cada molécula. Assim a barreira é extremamente seletiva, permitindo a passagem de algumas substâncias e bloqueando outras. Esse mecanismo seletivo é capaz de garantir aos neurônios e gliócitos o fornecimento de substâncias nutricionais, além dos gases respiratórios, e ao mesmo tempo bloquear algumas substâncias tóxicas ou neuroativas nocivas, tais como toxinas, e inibir a presença de hormônios e neurotransmissores, como a adrenalina, noradrenalina e acetilcolina, que possam estar circulando pelo corpo e danificar o tecido cerebral (VRIES et al., 1997).

Figura 1.5: Representação da função seletiva exercida pela BBB. Figura adaptada de (SERLIN et al., 2015).

O rígido controle dessa barreira é necessário, visto que a maior parte das funções neurais se baseia na comunicação por sinais elétricos gerados pelas membranas dos neurônios e sinais químicos transmitidos de um neurônio a outro. Ambos devem estar protegidos de quaisquer interferências externas que possam perturbar a precisão das mensagens. Além disso, a restrição à transição de certas substâncias constitui um

mecanismo de proteção do encéfalo contra agentes que poderiam causar algum tipo de lesão ou alterar seu funcionamento (BALLABH; BRAUN; NEDERGAARD, 2004).

Além das funções anteriormente citadas, a BBB ainda permite: garantir o equilíbrio iônico do compartimento intersticial do tecido nervoso; mediar a entrada controlada de substâncias de importância fisiológica; permitir a redistribuição de fluxo sanguíneo a áreas de maior atividade e demanda metabólica; ajustar respostas a variações na pressão transmural e possibilitar a saída de substâncias que se acumulam no tecido nervoso com potencial risco de neurotoxicidade (SERLIN et al., 2015). Sendo esses pontos considerados muito importantes para manter-se um ambiente químico constante e protegido, além de fornecer melhores condições para boa integridade e eficácia dos processos sinápticos.

1.6 PROCESSO SINÁPTICO

Ao nível integrativo, a função primária do sistema nervoso é controlar o corpo. Ele faz isso extraindo informações do meio ambiente usando receptores sensoriais (tato, visão, audição), enviando sinais que codificam essa informação no sistema nervoso central, processando a informação para determinar uma resposta apropriada e enviando sinais de saída para músculos ou glândulas para ativar a resposta. A evolução do sistema nervoso complexo possibilitou que várias espécies de animais possuíssem habilidades de percepção avançadas, como visão, interações sociais complexas, coordenação rápida de sistemas de órgãos e processamento integrado de sinais simultâneos. Nos seres humanos, a sofisticação do sistema nervoso torna possível ter linguagem, representação abstrata de conceitos, transmissão de cultura e muitas outras características comuns a sociedade humana (KANDEL et al., 2012).

Neurônios são as principais unidades funcionais do SNC, pois são responsáveis pela transmissão de impulsos nervosos (Figura 1.6). São células constituídas de um corpo celular, um núcleo celular, e 2 tipos de extensões: dendritos (receptores de mensagens conectados ao corpo celular) e axônios (prolongamentos que transmitem informações eletroquímicas).

Figura 1.6: Representação dos neurônios e seu princípio de ação. Figura adaptada de (KANDEL et al., 2012).

A maioria dos neurônios envia sinais através de seus axônios, embora alguns tipos sejam capazes de comunicação de dendrito para dendrito. Os sinais neurais se propagam ao longo de um axônio na forma de ondas eletroquímicas chamadas potenciais de ação, que produzem sinais célula a célula em pontos onde os terminais axônicos fazem contato sináptico com outras células.

As sinapses podem ser elétricas ou químicas. Sinapses elétricas realizam conexões elétricas diretas entre os neurônios, mas as sinapses químicas são muito mais comuns e muito mais diversas em função. Em uma sinapse química (Figura 1.7), a célula que envia sinais é chamada de pré-sináptica, e a célula que recebe sinais é chamada de pós-sináptica. As áreas pré-sinápticas e pós-sinápticas estão cheias de maquinaria molecular que realiza o processo de sinalização. A área pré-sináptica contém um grande número de vasos esféricos minúsculos chamados vesículas sinápticas, embalados com produtos químicos neurotransmissores. Quando o terminal pré-sináptico é eletricamente estimulado, uma série de moléculas embutidas na membrana são ativadas e causam o conteúdo das vesículas liberado no espaço estreito entre as membranas pré-sinápticas e pós-sinápticas, denominadas fissuras sinápticas. O neurotransmissor então se liga a receptores incorporados na membrana pós-sináptica, fazendo com que eles entrem em um estado ativado (PEREDA, 2014).

Figura 1.7: Representação de uma sinapse química, com propagação do impulso nervoso e liberação dos neurotransmissores que efetuam contato com a membrana pós-sináptica. Figura adaptada de (GIROUARD et al., 2014).

Dependendo do tipo de receptor, o efeito resultante na célula pós-sináptica pode ser excitatório, inibitório ou modulador de formas mais complexas. Por exemplo, a liberação do neurotransmissor acetilcolina no contato sináptico entre um neurônio motor e uma célula muscular induz uma rápida contração da célula muscular. Todo o processo de transmissão sináptica é estimado na fração de milissegundos, embora os efeitos na célula pós-sináptica possam durar muito mais tempo (BENNETT; ZUKIN, 2004).

As interações entre os neurotransmissores pré-sinápticos e receptores levam a mudanças do fluxo de corrente na membrana, despolarizando a membrana pós-sináptica, gerando o potencial de ação. A maior necessidade do metabolismo nos neurônios é para bombear íons através de suas membranas, principalmente para transportar os íons sódio e cálcio para o lado externo da membrana neuronal e os íons potássio e cloreto para o interior (GIROUARD et al., 2014). Cada vez que um neurônio conduz um potencial de ação, esses íons movem-se através das membranas neurais em direções opostas, aumentando a necessidade de transporte adicional, no nível da membrana, para restaurar as diferenças de concentrações iônicas apropriadas através das membranas neuronais (PEREDA et al., 2013).

As mudanças metabólicas nos neurônios e células gliais, que acompanham a liberação de neurotransmissores, requerem energia, que é, em grande parte, usada nas sinapses. Como a produção de energia no cérebro normal depende do metabolismo

oxidativo (simbolizado pela produção de Adenosina Trifosfato – ATP), a maior demanda local de oxigênio ocorre pelo aumento da atividade sináptica (ATTWELL et al., 2010). O consumo de ATP requer um suprimento contínuo de glicose e oxigênio, que é regulado, em parte, pelo fluxo sanguíneo cerebral (CBF), uma vez que o cérebro não tem uma reserva de oxigênio armazenada localmente. Portanto, durante a atividade cerebral excessiva, estima-se que o metabolismo neuronal pode aumentar a taxas altíssimas, por até 100 a 150% (PAULSON et al., 2010).

Diversos estudos em neuroimagem relatam alterações significativas na atividade neuronal, tanto no estado de repouso como durante atividades específicas, que acompanham o processo de envelhecimento (DUSHANOVA; CHRISTOV, 2014; PURDON et al., 2015; RIBEIRO et al., 2012). Levando estes fatores em conta e considerando a ampla gama de contrastes e informações em nível do tecido cerebral providas por diferentes métodos de neuroimagem, no próximo tópico serão apresentados e discutidos diversas teorias e estudos que trazem informações sobre o processo de envelhecimento cerebral.

1.7 ENVELHECIMENTO CEREBRAL

O sistema nervoso é considerado como um dos sistemas biológicos mais comprometidos com o processo de envelhecimento, pois dentre as inúmeras funções, é o responsável pelo processamento de informações que visam manter a interação do indivíduo com o ambiente.

Praticamente todos os indivíduos experimentam alterações cognitivas (ainda que muito sutis) à medida que envelhecem. Estas têm, muito provavelmente, origem em alterações das propriedades cerebrais relacionadas com a idade (RAZ; RODRIGUE; HAACKE, 2007). A literatura sobre este tema divide-se resumidamente em duas grandes linhas: alterações cerebrais estruturais e alterações neurofisiológicas associadas ao envelhecimento (MEUNIER; STAMATAKIS; TYLER, 2014).

Estudos anatômicos de humanos eram até o começo dos anos 1900 restringidos à autópsia. Investigações em cadáveres revelaram muitas características macro e microanatômicas do cérebro envelhecido, incluindo reduções em seu peso e volume, assim como declínio na massa e na integridade da substância branca (CIDIS MELTZER; FRANCIS, 2001). Fatores presentes, como a causa da morte e alterações do tecido em cadáveres limitam esse tipo de estudo. O advento de métodos de

neuroimagem revolucionou o campo de pesquisa por permitir que pesquisadores estudassem o cérebro de indivíduos vivos. A IRM é hoje uma ferramenta essencial de pesquisa na neurociência humana porque permite uma quantificação confiável, automatizada e eficiente de características estruturais cerebrais in vivo; viabiliza a comparação mais direta com desempenho cognitivo e investigações longitudinais da estrutura cerebral, com abertura para pesquisas de causas de mudanças (GLYMOUR et al., 2012).

Similares à maioria das conclusões de estudos em cadáveres, estudos de IRM in vivo têm demonstrado diferenças entre cérebros de sujeitos jovens e idosos. A mudança linear entre a redução da espessura da última camada cerebral (córtex) e o avanço da idade é observada desde o início da fase adulta (THAMBISETTY et al., 2010). Além disso, a noção de que o volume cerebral global diminui durante o envelhecimento é praticamente consensual (WALHOVD et al., 2011). Diversos estudos têm demonstrado que o volume global das áreas corticais do cérebro idoso é inferior ao do de jovens (ZIEGLER et al., 2010) e que este padrão parece ser mais notório nas regiões frontais, particularmente no córtex pré-frontal (GRIEVE et al., 2007). Também é observável a degenerescência nos demais lobos cerebrais, no entanto alterações no córtex occipital tendem a apresentar uma associação mais fraca com a variável idade (ALLEN et al., 2005).

No entanto, existem evidências de que algumas estruturas cerebrais sofrem uma redução volumétrica mais expressiva (córtex pré-frontal) enquanto que outras permanecem relativamente preservadas (regiões subcorticais e lobo occipital). Já em relação à idade em que este fenômeno tem início, a literatura é controversa; estudos transversais referem-se à segunda década de vida enquanto que estudos longitudinais sugerem a sexta década de vida (RAZ; RODRIGUE, 2006).

Os mecanismos de base das observações da atrofia cortical cerebral no envelhecimento não são totalmente esclarecidos. A perda neuronal é vista como uma pequena extensão, mas não é forte o suficiente para ser o principal fator. Outras explicações vêm de análises histológicas que indicam uma redução no tamanho total neuronal, redução do número e complexidade dos dendritos, redução do número e densidade de emaranhados neurofibrilares, danos na mielina e redução do volume da substância branca acompanhando o processo de envelhecimento (MATTSON; MAGNUS, 2006; SALAT et al., 2009).

A substância branca (SB) é majoritariamente composta por axônios de longa distância que permitem a comunicação e coordenação da atividade de várias áreas cerebrais. Com a idade, ocorre uma redução substancial do comprimento axonal (WALHOVD et al., 2011). O volume da SB cerebral sofre uma redução difusa durante o envelhecimento e este efeito é acelerado nas idades mais avançadas (SALAT et al., 2009). A atrofia da SB de regiões que se encontram tipicamente afetadas durante o envelhecimento – particularmente das regiões pré-frontais – tem sido muito bem documentada. Estudos histopatológicos referem que existe uma marcada degenerescência da SB com a idade, caracterizada por uma perda de axônios mielinizados e por malformações da bainha de mielina (GUNNING-DIXON; RAZ, 2000).

As funções nervosas superiores dependem da interação de múltiplas áreas cerebrais independentes. À medida que o ser humano envelhece, esta interação passa a ser menos coordenada, refletindo uma redução da função integrativa cerebral (ANDREWS-HANNA et al., 2007). A atividade neural passa também a ser menos localizada em determinadas regiões cerebrais, assumindo um padrão mais difuso (CABEZA, 2002).

Assim, a degeneração do cérebro e do sistema nervoso não é resultante da existência de quadros patológicos e por isso, não deve ser confundida com estados demenciais que estão associados a padrões específicos de alteração cerebral. Deste modo, os sinais de deficiência funcional vão surgindo de maneira discreta no decorrer da vida sem comprometer de maneira significativa as atividades diárias do idoso e podem ser consideradas normais da senescência (CHUNG et al., 2009). Tais danos não apresentam um comprometimento na vida do sujeito e podem variar a sua intensidade de indivíduo para indivíduo (GALVÃO et al., 2008).

O estudo em neuroimagem também abriu caminho para a neurociência cognitiva do envelhecimento, uma síntese de disciplinas procurando uma ligação do envelhecimento cerebral e cognitivo. Estudos de revisão indicam que reduções em habilidades cognitivas específicas, como a memória episódica, são relacionadas a diferenças neuroanatômicas, ao menos estatisticamente (WALHOVD et al., 2010). Significando que diferenças em funções cognitivas selecionadas entre indivíduos jovens e idosos podem estar relacionadas a características estruturais cerebrais distintas. Ainda permanece não resolvido como e para que fim o cérebro e a cognição – matéria e mente – impactam um no outro com o avanço da idade. Ainda assim, se é justificável acreditar

que parte do declínio cognitivo com o envelhecimento é de fato mediada por mudanças cerebrais adversas, restringindo os limites superiores da função cognitiva.

Em paralelo, existem discussões de que os diversos fatores que produzem perdas celulares no SNC, o fazem através de processos diferentes, que culminam em uma via comum de cascata de sinalização resultando na morte celular (NELSON et al., 2016). Essas neurodegenerações podem se manifestar como disfunções comportamentais, como por exemplo, déficits cognitivos. Portanto, o estudo dos mecanismos responsáveis pela neurodegeneração e identificação precoce de alterações moleculares, tem sido muito discutido para a compreensão das bases biológicas relacionadas às alterações associadas ao envelhecimento ou com as diversas neuropatologias comuns a ele (TROULINAKI; TAVERNARAKIS, 2005).

A partir de certa idade, indivíduos idosos relatam pequenos esquecimentos relacionados à sua vida diária, como dificuldades de lembrar nomes ou palavras, perda de objetos, ou erros ao cumprir uma rotina familiar de comportamentos. Estudos têm mostrado que pessoas idosas apresentam desempenho significativamente prejudicado em tarefas de memória episódica de curto prazo (VERHAEGHEN; MARCOEN; GOOSSENS, 1992) e dificuldade em identificar a fonte de uma dada informação lembrada. Já foi sugerido que os problemas mnemônicos dos idosos se devem à diminuição da velocidade de processamento mental, o que prejudicaria o desempenho em tarefas de memória de trabalho (M. CAGGIANO; JIANG; PARASURAMAN, 2006). Por outro lado, os idosos podem apresentar resultados comparáveis aos adultos em testes de reconhecimento (em oposição a testes de evocação), e em outras tarefas, como por exemplo, memória implícita e memória semântica (WALHOVD et al., 2010).

Alguns trabalhos de pesquisa relatam que, durante a execução de uma tarefa cognitiva, sujeitos idosos apresentavam uma maior ativação de regiões frontais (nomeadamente o córtex pré-frontal), mas uma menor ativação de regiões occipital e temporal do que os jovens. Os autores defenderam que essa sobre ativação observada em idosos espelha o recrutamento de áreas frontais de modo a ultrapassar as limitações de processamento sensorial nas regiões mais posteriores. Este fenômeno foi denominado de PASA, do inglês, '*posterior-anterior shift with aging*' (DAVIS et al., 2008). Mais ainda, a ativação pré-frontal era frequentemente bilateral nos sujeitos mais velhos em tarefas cognitivas nas quais os jovens tipicamente apresentam um padrão de ativação unilateral. Cabeza apelidou este fenômeno de HAROLD (do inglês

Hemispheric Asymmetry Reduction in Old Adults) e refere que este permite combater e compensar o declínio neurocognitivo relacionado com a idade (CABEZA, 2002).

Por outro lado, outros estudos demonstram que esse padrão de ativação cerebral dos adultos mais velhos nem sempre se associa a um melhor desempenho cognitivo. Nestes casos, é possível que esta reflita uma utilização ineficiente dos recursos neurais. Alterações dos níveis de alguns neurotransmissores, nomeadamente do sistema dopaminérgico, serotoninérgico e colinérgico, também têm sido constatadas no envelhecimento (BACKMAN et al., 2010; KAASINEN et al., 2000).

Existem diversas teorias que procuram explicar as modificações cerebrais consequentes ao processo de envelhecimento. Uma das primeiras foi a teoria da velocidade de processamento (*The Processing-Speed Theory*). Ela estabelece que o fator de maior impacto para o déficit cognitivo durante o envelhecimento é a redução na velocidade das operações cognitivas. Este atraso na execução das tarefas impede o processamento adequado e que as informações estejam disponíveis simultaneamente, de forma a exigir maior nível de processamento cerebral com consequente mudança quantitativa e qualitativa na execução de diversas tarefas cognitivas (SALTHOUSE, 1996). Uma teoria competitiva a esta é a Teoria Executiva Pré-Frontal que estabelece que o declínio das funções cognitivas em idosos inicia-se com mudanças precoces estruturais e funcionais localizadas no córtex pré-frontal que por sua vez desencadeiam déficits cognitivos gerais (WEST, 1996).

Já a hipótese do envelhecimento frontal (*Frontal Aging Hypothesis*) está relacionada ao fato de que o lobo frontal humano é a área cortical mais vulnerável ao processo de envelhecimento e que, portanto, as funções pertencentes a esta região sofrem declínio funcional, diferentemente das demais regiões corticais, sendo a deterioração do lobo frontal a principal responsável por todo o declínio funcional no idoso (GREENWOOD, 2000). Como ponto comum destas teorias, observa-se a importante contribuição das alterações estruturais ocorridas no córtex pré-frontal para o declínio cognitivo, muito comum em idosos. Dentre as funções mais afetadas também se encontra o processo decisório, importante mecanismo para a sobrevivência e manutenção da qualidade de vida (WORTHY, 2011).

A diminuição da atividade do córtex pré-frontal em idosos saudáveis tem sido estudada e discutida, porém ainda há muito que se esclarecer quanto à heterogeneidade das funções desta região e o impacto das alterações estruturais causadas pelo processo de envelhecimento (FRITH; DOLAN, 1996). O envelhecimento envolve perdas

progressivas na função de diversos sistemas responsáveis pela sensação, cognição, controle motor, memória e afeto. O conceito de que é uma etapa da vida associada ao declínio funcional inevitável, deve-se a influência direta que o envelhecimento exerce sobre o desgaste ao tecido cerebral com o passar do tempo (ROSSINI et al., 2007).

Mudanças na morfologia neuronal (brotamento e densidade dos dendritos), na interação entre as células e na expressão gênica podem interferir no processo de plasticidade e assim desencadear alterações na função cognitiva (BURKE; BARNES, 2006). Alguns estudos apontam que ocorrem diversas alterações macroscópicas, dentre elas destacam-se o aspecto dos giros e sulcos, atrofia das circunvoluções corticais, aumento da dimensão das cavidades do sistema ventricular (RAZ; RODRIGUE, 2006), e o aparecimento de modificações microscópicas características, como o acúmulo de células gliais, aparecimento de placas senis, degeneração grânulo-vacuolar e a angiopatia amilóide cerebral (MATTSON, 2007; VASILEVKO et al., 2010).

Com o aumento da população idosa mundial, a necessidade de um entendimento compreensivo do envelhecimento cerebral está cada vez mais em discussão. Um grande esforço em pesquisas tem sido feito para melhor entendimento das condições de deterioração cerebral que contribuem para o declínio cognitivo assim como as características que promovem o envelhecimento bem-sucedido.

Recentemente, nos aspectos funcionais cerebrais, alterações na rede vascular e na vasoreatividade (FERRARI; RADAELLI; CENTOLA, 2003; LEONI et al., 2017), fluxo sanguíneo (BOROGOVAC; ASLLANI, 2012) e no metabolismo energético (MOSCONI, 2013), vêm sendo extensamente discutidas como importantes biomarcadores da saúde cerebral. Em relação ao comprometimento dos parâmetros hemodinâmicos, estudos recentes de caráter transversal, aplicados no estudo do envelhecimento cerebral, reportaram uma redução do CBF à nível cortical (BIAGI et al., 2007) e regional (LEE et al., 2009), em específico nos lobos frontal e temporal.

Outros resultados frequentemente discutidos são relacionados ao efeito de gênero nos valores de CBF cortical e regional, sendo estes, independente da abordagem e escolha da região de análise, frequentemente reportados como maiores em indivíduos do sexo feminino em relação aos do masculino (LIU et al., 2012; SONI et al., 2016). Entretanto, tanto o mecanismo fisiológico que desencadeia essas mudanças hemodinâmicas, quanto à determinação da faixa etária onde estas ocorrem de maneira mais acentuada, ainda permanecem em discussão e necessitam de maior esclarecimento. Ainda assim, discussões recentes comentam sobre a possível relação entre declínio

cognitivo e redução de CBF em função da idade, sendo estes verificados tanto no estado de repouso (HAYS et al., 2017) como durante estímulos externos (ANCES et al., 2009; BANGEN et al., 2009; RESTOM et al., 2007).

Por mais que esses fatores estejam relacionados a medidas indiretas da atividade neuronal, discute-se que mudanças na perfusão sanguínea e metabolismo energético podem preceder ou acelerar o processo de danos cerebrais, que por sua vez podem desencadear uma cascata de eventos culminando no prejuízo da cognição e posteriormente, em patologias decorrentes (HAYS; ZLATAR; WIERENGA, 2016). Portanto, estratégias para melhor entendimento deste processo podem ter implicações no acompanhamento da senilidade além contribuir na regulação de homeostase, que é uma das principais funções de estabilidade do organismo humano.

Devido a todos esses fatores, fica clara a importância de métodos que possibilitem medir quantitativa ou qualitativamente a perfusão sanguínea cerebral e isso inspira o estudo de técnicas que viabilizem esse tipo de informação fisiológica. Existem atualmente várias técnicas para a realização dessa medida, e essas serão abordadas no próximo tópico.

1.8 MÉTODOS DE MEDIÇÃO DA PERFUSÃO SANGUÍNEA CEREBRAL

Basicamente as medidas de perfusão dependem de três fatores: a disponibilidade de um agente de contraste ou traçador, método de detecção e um modelo para estimação do CBF levando em conta o comportamento do traçador no sistema vascular de estudo (OGEDEGBE; PICKERING, 2010). Os traçadores tipicamente utilizados para a medida de perfusão são basicamente de três tipos:

Microesferas: pequenas partículas com diâmetro da ordem de alguns micrômetros são injetadas no suprimento sanguíneo arterial dos órgãos. Quando estas microesferas passam pelo tecido, ficam presas no compartimento arterial deste tecido. O padrão de deposição das microesferas, que reflete em como o sangue é entregue ao tecido, é determinado pelas técnicas de imagens, de modo que o CBF é determinado pela curva de concentração arterial.

Traçadores difusivos: moléculas pequenas e inertes que são administradas por via intravenosa em sua forma líquida, ou gasosa, por inalação. Essas moléculas possuem a capacidade de atravessar os vasos e se difundirem para o espaço extracelular, até atingirem uma concentração de equilíbrio com o tecido.

Traçadores Intravasculares: constituídos de moléculas maiores que os traçadores difusivos, estes traçadores não possuem a capacidade de atravessar a parede do capilar, de modo que permanecem sempre dentro dos vasos.

Após a administração do agente de contraste, ou chamado traçador, as mudanças de sinal do tecido de interesse são analisadas com base no modelo de perfusão adotado. Os agentes de contraste têm sido usados nos últimos anos para obter a informação sobre diferentes parâmetros fisiológicos relacionados ao CBF, CBV e ao tempo de trânsito médio (do inglês MTT) (WINTERMARK et al., 2005).

Os agentes de contraste endógenos são referidos a contrastes pertencentes ao próprio corpo ou órgão que utiliza sangue marcado para monitoração da perfusão, já os agentes exógenos são aqueles que possuem sua origem externa ao corpo ou órgão, como materiais paramagnéticos (DETRE et al., 1992).

1.8.1 TÉCNICAS ÓPTICAS

As técnicas ópticas de mapeamento perfusional se baseiam no estudo da propagação da luz em meios materiais, sendo no caso da rotina clínica, o tecido humano. Estes meios se caracterizam por espalhar muito mais que absorver a radiação eletromagnética incidente, para comprimentos de onda da luz visível. Como a radiação é espalhada em todas as direções, parte da luz que incide no meio denso voltará à mesma superfície na qual incidiu, tornando possível sua detecção. Com informações da luz incidente e da luz detectada, é possível inferir as propriedades ópticas e dinâmicas do meio, dependendo da forma de iluminação e detecção da luz (BOAS; CAMPBELL; YODH, 1995). A grande utilidade desta técnica em Medicina está no fato de que o tecido biológico se comporta como um meio denso na região do infravermelho próximo (700-900 nm) do espectro eletromagnético.

A técnica de espectroscopia no infravermelho próximo (do inglês *NIRS*) é um bom exemplo de discussão do uso da luz visível para estudo perfusional. Nesta técnica óptica de difusão, uma luz na região do infravermelho próximo originada de um laser de baixa potência incide sobre o tecido, e a intensidade de luz que emerge do mesmo é captada por um fotodetector. Seu princípio de funcionamento se baseia na absorção e reflexão de luz visível pelo tecido neural causada pela transformação da hemoglobina oxigenada em não-oxigenada, que por sua vez refletem de maneira indireta a atividade neuronal e estão associadas com mudanças locais de CBF (BUXTON, 2012;

PREUSCHOFF, 2010). O sinal ótico refletido é lido por um sistema com câmeras de alta sensibilidade e rápida aquisição. As imagens então são digitalizadas, processadas por um software e transformadas em mapas e gráficos mostrando as variações do sinal ótico ao longo do tempo (JAGUSZEWSKI, 2013).

1.8.2 TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA POR RAIOS-X (CT)

Técnica de imagem médica que utiliza emissão de raios-x e sua consequente interação com a região alvo, descrita pelo coeficiente de atenuação, como parâmetro físico de contraste. Sua aquisição parte da realização do movimento circular ao redor da região de interesse sendo que no lado oposto à exposição ao feixe de raios-x, é posicionado um detector que irá transformar a radiação em sinal elétrico. Para obtenção das imagens digitais bi ou tri dimensionais, um processo de retroprojeção é efetuado em diferentes ângulos relacionados às exposições ao feixe de raios-x (GOLDMAN, 2007; N. HASSANI, R. KHOMEINI, 1976). A combinação desta técnica com a injeção de agentes de contraste (geralmente Xenônio e Iodo), que atenuam o feixe de raios-x, permite que seja possível a obtenção de imagens de perfusão sanguínea (KONSTAS; WINTERMARK; LEV, 2011).

O gás Xenônio é inalado e rapidamente se dissolve no sangue e pode atravessar livremente a barreira Hematoencefálica. A concentração de Xenônio é medida diretamente com a técnica de CT e a concentração no sangue arterial é medida indiretamente ao fim da respiração do pulmão (WINTERMARK et al., 2001). O gás é livremente difusível e a perfusão pode ser quantificada utilizando a teoria de traçadores cinéticos. As principais desvantagens são o tempo relativamente longo de aquisição, o que requer boa cooperação do sujeito; a reduzida confiabilidade em casos de capacidade pulmonar reduzida; bem como a natureza farmacológica ativa do gás Xenônio. Além disso, a aplicação do xenônio pode causar náuseas, alterações sensoriais reversíveis ou alguma depressão respiratória, fatores também limitantes (KIM; KAMAYA; WILLMANN, 2014). Já os agentes de contraste baseados no Iodo são intravasculares, exigindo uma aquisição imediata. A curva de evolução do traçador pode ser analisada utilizando o princípio do volume central e os mapas de perfusão, tempo de trânsito médio e volume sanguíneo pode ser determinados. Sua principal desvantagem é a possibilidade de riscos adversos devido a administração invasiva (CIANFONI et al., 2007).

1.8.3 SPECT

Resume-se a injeção de um traçador radioativo e se baseia na posterior detecção dos fótons únicos emitidos e captados por uma câmara giratória sensível à detecção dos raios gama (LIVIERATOS, 2012). O radionuclídeo Tecnécio 99 Metaestável (^{99m}Tc) geralmente é utilizado como traçador, por apresentar boa cinética de utilização e remoção, além de fótons com energia suficiente para uma boa qualidade de imagem. As imagens SPECT são geralmente utilizadas para gerar imagens tomográficas de uma distribuição 3D do radiofármaco administrado (PAUL; NABI, 2004). Dentre as principais desvantagens estão a exposição à radiação ionizante emitida dentro do organismo do paciente durante o exame, reações adversas à administração do radiofármaco, imagens com uma relativa menor resolução espacial quando comparada a outras modalidades de imagem, como IRM ou CT (CATAFAU, 2001).

1.8.4 PET

Da mesma forma que o exame SPECT, também consiste na injeção de um radiofármaco específico. Entretanto, este método tem seu princípio baseado na posterior aniquilação entre o pósitron emitido pela desintegração de um radionuclídeo (emissor de partícula β_+) com um elétron orbital, neste processo ocorre a emissão de dois fótons gama, de energia aproximada de 511 keV, em direções opostas (ZANZONICO, 2004). Para a formação das imagens, são utilizadas diferentes substâncias de interesse biológico marcadas com os radioisótopos emissores de pósitrons ($^{15}\text{O}_2$, $^{15}\text{CO}_2$ e H_2^{15}O). Dentre radiofármacos mais comuns, o Fluorodesoxiglicose (FDG) apresenta características muito úteis para estudo do metabolismo energético tecidual, também possibilitando a medição de alguns aspectos da hemodinâmica cerebral, dentre eles o CBF (HERSCOVICH et al., 1987). O modelo de traçadores cinéticos pode ser combinado com o princípio do volume central para quantificar a perfusão após a injeção do traçador. Geralmente administrado por injeção intravascular, em seguida uma varredura de um a dois minutos é realizada e os resultados são combinados com uma medição de amostragem de sangue arterial (DRIESSEN et al., 2017). Assim como na técnica SPECT, as imagens PET apresentam uma baixa resolução espacial, além dos fatores nocivos de exposição à radiação ionizante e os possíveis danos causados pela administração do radiofármaco no corpo do indivíduo (ZIEGLER, 2005).

1.8.5 IRM

As técnicas de imagem ponderadas em perfusão geralmente utilizadas na clínica apresentam uma alta sensibilidade para este tipo de medida, no entanto, trata-se de técnicas invasivas aos pacientes. A técnica de IRM possibilita usar a aquisição de outros tipos de imagens na mesma sessão, permitindo a avaliação conjunta de perfusão do tecido e de aspectos morfológicos. Além disso, apresenta a não utilização de radiação ionizante - segurança que a irradiação de radiofrequência representa quando comparada às técnicas anteriores – além de traçadores mais seguros e resolução espacial melhor, ou nos piores casos, semelhante à obtida com outras técnicas (STADLER; PEASE; BALLEGEEER, 2017).

Dentre as técnicas de IRM para medição da perfusão sanguínea, as que mais se destacam clinicamente são a de Contraste por Susceptibilidade Dinâmica (DSC, do inglês *Dynamic Susceptibility Contrast*) e a de Realce de Contraste Dinâmico (DCE, do inglês *Dynamic Contrast Enhancement*). A primeira consiste na aplicação de um bolus de agente de contraste paramagnético (Gadolínio) que permanece no interior dos vasos. Este agente altera a susceptibilidade magnética local, de modo a alterar os tempos de relaxação e por consequência a intensidade do sinal adquirido no exame de ressonância (SHIROISHI et al., 2015). A partir de uma série de análises matemáticas e etapas de processamento de imagem, além de considerações sobre a influência do agente de contraste nos parâmetros físicos de relaxação do tecido (T_1 , T_2^*), é possível estimar fatores hemodinâmicos (CBF, CBV, MTT) na região de interesse. Assim, considera-se que se o suprimento vascular para qualquer região do cérebro está comprometido, isto deve ser detectado como uma anormalidade na variação da intensidade do sinal (SHIROISHI et al., 2015).

Já a DCE analisa o padrão de resposta temporal de um tecido após a introdução de um agente de contraste paramagnético no sistema vascular. Isso é realizado através da aquisição de imagens de referência sem realce de contraste, seguido por uma série de imagens adquiridas ao longo do tempo (geralmente mais de alguns minutos), antes, durante e após a chegada do agente de contraste (Gadolínio) na região de interesse (CONNOR et al., 2011). A idéia base dos estudos perfusionais em DCE é relacionada ao processo de redução dos tempos de relaxação locais, causados pelos agentes de contraste nos vasos e no espaço extracelular, levando a um rápido clareamento do sinal

em seqüências ponderadas na relaxação longitudinal (T1) (GORDON et al., 2014). O sinal adquirido é usado para gerar uma curva temporal de intensidade, que reflete a resposta do tecido à chegada do agente em valores de realce. Cada imagem adquirida corresponde a um ponto de tempo, e cada pixel em cada conjunto de imagens gera sua própria curva de valores de intensidade (VERMA et al., 2012). É pela análise desta curva que certas propriedades fisiológicas relacionadas ao fluxo sanguíneo microvascular, tal como a permeabilidade do vaso e frações de volume sanguíneo, podem ser obtidos através de modelos matemáticos apropriados (CHIKUI et al., 2012).

Além das dificuldades relacionadas ao modo de processamento e análise das imagens (CHA, 2003), uma das maiores discussões em relação à confiabilidade das técnicas DSC e DCE se refere à injeção do agente de contraste exógeno. No caso da aplicação do íon Gadolínio, em algumas ocasiões raras, podem ocorrer algumas complicações; em casos mais extremos com tratamento e monitoramento inadequados, pode comprometer o estado de saúde do paciente (ESSIG et al., 2013). Dito isso, e sabendo a importância de se estudar parâmetros cerebrais fisiológicos vitais, a partir da década de 90 se propôs o uso de uma técnica de IRM que permitiria estimar estes fatores hemodinâmicos de uma maneira totalmente não invasiva, através do uso de agentes de contraste endógenos. Os próximos tópicos serão voltados exclusivamente para discussão das principais características e aplicações dessa técnica, a Marcação dos Spins Arteriais ou, do inglês, *Arterial Spin Labeling*.

1.9 ARTERIAL SPIN LABELING

Nos últimos anos, a técnica de ASL emergiu como uma ferramenta não invasiva importante na avaliação da perfusão sanguínea cerebral, por meio da obtenção de mapas quantitativos de CBF em unidades fisiológicas bem caracterizadas (GOLAY et al., 2007).

A ASL é uma técnica que utiliza a água presente no sangue arterial como agente de contraste endógeno, considerando-a um traçador difusível. Seu princípio baseia-se na diferenciação, em termos da magnetização local, entre os spins “marcados” fluindo no sistema vascular e os spins “estacionários” idealmente representados pelo tecido que está recebendo o suporte sanguíneo. À medida que os spins intravasculares, magneticamente alterados pela aplicação de um pulso de radiofrequência (RF), atingem os capilares e realizam trocas com o tecido através da barreira hematoencefálica, a

magnetização do tecido é alterada e torna-se possível obter imagens cujo contraste é proporcional à perfusão sanguínea (HALLER et al., 2016).

Idealmente, toda a magnetização dos átomos de hidrogênio presentes no tecido está alinhada conforme a direção do campo magnético externo aplicado ao sistema, sendo esta responsável pelo seu sinal resultante. Após a aplicação das ondas de RF, a magnetização dos átomos de hidrogênio submetidos a ela é alterada. O plano de marcação é escolhido tendo em vista o tempo de deslocamento do sangue marcado até o plano de leitura da imagem, para que seja menor que o tempo de relaxação longitudinal (T_1) característico do spin, de modo que após este tempo, todos os spins retornarão ao seu estado inicial de alinhamento conforme o campo magnético externo fixo (AGUIRRE; DETRE; WANG, 2005). Durante o processo de circulação sanguínea os spins intravasculares são substituídos, após o tempo de atraso, por aqueles vindos da região inferior, onde houve a marcação (Figura 1.8).

Figura 1.8: Representação do modelo de aquisição das imagens ASL controle e de marcação. Figura adaptada de (FERRÉ et al., 2013).

As imagens ASL são adquiridas distalmente ao plano de marcação após o sangue marcado fluir até o tecido alvo. Essas imagens são alternadas com imagens controles em que a marcação não é aplicada. Assim, a diferença de sinal entre imagens de marcação e controle visa ser proporcional ao sangue entregue na fatia adquirida (Figura 1.9.2) (AGUIRRE et al., 2002).

A partir da imagem de perfusão (diferença de sinal ΔM), calcula-se o mapa de CBF que depende de diversos parâmetros, como a relaxação longitudinal do sangue T_1 , a fração de partição entre tecido e água presente no sangue (λ), da duração (LT) e da eficiência da marcação (α) do pulso de RF, e do tempo de atraso (PLD) para chegada dos spins marcados à região de interesse (Figura 1.9). As fatias de interesse são então adquiridas pela componente de leitura que é tipicamente otimizada temporalmente pelo

modo EPI (do inglês, *Echo Planar Imaging*) ou Spiral (ZHAO et al., 2015).

Figura 1.9: Obtenção do mapa de CBF a partir da subtração das imagens controle e de marcação. Figura adaptada de (BOROGOVAC; ASLLANI, 2012).

Uma das principais desvantagens da ASL é a relação sinal-ruído (SNR), que é inerentemente baixa devido à baixa diferença de sinal (em torno de 1 a 2%) entre os spins marcados pelo pulso de RF e o sinal de tecido estático (WONG, 2014). Este fato leva à necessidade estatística da aquisição de múltiplas imagens de controle e marcação, que por sua vez influencia na melhora da SNR e do contraste do sinal entre SC e SB, além de influenciar no tempo total de exame. O aumento no tempo de aquisição pode levar, por consequência, a uma maior influência aos artefatos de movimento nas IRM, aumentando assim sua sensibilidade a eles. Dentre outras fontes de limitação estão a resolução temporal, tempo de trânsito, perfil do pulso de inversão e efeitos de transferência de magnetização (WU et al., 2007).

Apesar das limitações, a ASL permite o monitoramento do fluxo sanguíneo cerebral por um período de tempo tão longo conforme a necessidade, pelo fato de não ser uma técnica invasiva, tem-se a vantagem de poder realizar quantas imagens forem necessárias. Além disso, não requer um agente de contraste externo, eliminando o risco, por exemplo, do aparecimento da fibrose sistêmica nefrogênica em pacientes com disfunção renal (GRADE et al., 2015).

Como a ASL mede um parâmetro fisiológico independentemente dos parâmetros da sequência, ela é interessante para estudos longitudinais e transversais, em sujeitos normais ou em pacientes, e em estudos envolvendo intervenções terapêuticas. Além disso, os magnetos de alto campo e as técnicas mais avançadas para a aquisição e leitura das imagens têm melhorado muito a qualidade dos dados de ASL e suas aplicações em ciência básica e clínica (HALLER et al., 2016).

Existem três métodos principais para aquisição das imagens ASL, estes diferem fundamentalmente pela maneira como é aplicado o pulso de marcação dos spins, sendo geralmente citados como marcação contínua, pulsada e pseudocontínua. Esses métodos serão discutidos nos próximos três tópicos.

1.9.1 ASL CONTÍNUA

Originalmente, no método de marcação contínua (CASL), utiliza-se um esquema de inversão conhecida como “*flow-driven*”, um método em que os spins no sangue arterial, movendo-se através de um gradiente de campo magnético, são invertidos adiabaticamente por um pulso de RF. Para a execução deste tipo de inversão adiabática da magnetização do sangue arterial, são aplicados longos pulsos contínuos (da ordem de 2 a 4 segundos), simultaneamente com a aplicação de um gradiente de seleção na direção do fluxo. Dessa forma, o sangue arterial em movimento terá seus spins dos prótons de hidrogênio sofrendo uma pequena variação da frequência de ressonância, resultando na inversão adiabática da magnetização; e um estado estacionário relacionado ao fluxo será atingido (WILLIAMS et al., 1992).

No caso ideal, após a obtenção do estado estacionário os spins saturados então fluem para o cérebro, e supondo que a água seja livremente difusível, fazem trocas com a água do tecido cerebral, alterando sua magnetização. Entretanto, na prática essa sequência de eventos acontece, mas com grau de eficiência reduzido, devido à relaxação longitudinal que ocorre durante o tempo de trânsito dos spins entre os planos de marcação e de aquisição da imagem (BOROGOVAC; ASLLANI, 2012).

Uma importante limitação quando se trata da CASL é o problema devido à transferência de magnetização (MT). Este efeito é devido à aplicação de um longo pulso de RF que, fora da frequência de ressonância, resulta na saturação direta das macromoléculas do tecido cerebral. Quando saturadas, estas moléculas podem trocar magnetização com a água existente em diversas regiões do tecido cerebral e isso resulta em uma possível alteração da magnetização de equilíbrio e também no processo de relaxação longitudinal do tecido. Para eliminar os efeitos de transferência de magnetização, foi proposta a utilização de uma bobina dedicada à marcação, posicionada no pescoço do indivíduo, para que o pulso não atinja o plano da imagem (JAHNG et al., 2014). Mas para isso há a necessidade de hardware de transmissão contínua de RF, que não é comumente disponível em scanners clínicos comerciais.

Além disso, apesar da implementação da técnica CASL parecer simples, não são todos os sistemas de RM que permitem que seus amplificadores de RF operem de forma contínua e isso resulta em uma das limitações impostas por esta técnica.

1.9.2 ASL PULSADA

Na técnica de marcação pulsada (PASL), as moléculas de água presentes no sangue arterial são marcadas por um curto pulso de inversão adiabático. Os pulsos de marcação são na ordem de alguns milissegundos e elaborados para inverter a magnetização de um volume relativamente grande de sangue em uma determinada região, tipicamente localizada de 10 à 15 centímetros inferiormente à região de leitura do sinal (Figura 1.10). Após a marcação, um período pós-marcação (PLD) é esperado, onde nesse tempo o sangue marcado move da região de marcação até a região de interesse, perdendo gradativamente magnetização ao retornar para seu estado de equilíbrio através da relaxação longitudinal (T1) (BOROGOVAC; ASLLANI, 2012).

Figura 1.10: Localização de aplicação dos pulsos de RF e da região de interesse com o método PASL. Figura adaptada de (ALSOP et al., 2015).

Após um determinado tempo, a partir do início da marcação dos spins, adquire-se um conjunto de imagens cuja magnetização é proporcional à quantidade de sangue com spins marcados que fluiu para a região. A ideia desta técnica é que uma vez marcada uma grande região, o volume sanguíneo arterial fluirá pelas vias vasculares e chegará à região de interesse com uma perda homogênea de magnetização ao longo de

todo o volume marcado, dependendo é claro das condições cardiovasculares do sujeito (WONG, 2014).

Para as imagens PASL, efeitos de MT também devem ser levados em consideração, mas estes são muito menores quando comparados com a CASL. Outra característica importante da técnica PASL é que o plano de marcação é próximo à posição da fatia de interesse. Por causa disso, uma atenuação do sinal nas imagens ASL devido ao intervalo do tempo de trânsito não é tão forte, o que resulta numa melhor eficiência de marcação. Discute-se que essa maior eficiência de marcação também se deve, dentre diversos fatores, à forma do pulso aplicado e da otimização no processo de leitura das imagens (TELISCHAK; DETRE; ZAHARCHUK, 2015).

Apesar de ser uma técnica muito prática, PASL possui alguns problemas relacionados à sua SNR e consequente confiabilidade da quantificação do CBF. Alguns trabalhos discutem que esses problemas estão relacionados com o intervalo entre a aplicação do pulso de marcação e a chegada do sangue marcado até a localização do plano de imagem, o chamado PLD. A especificidade e homogeneidade espacial do pulso de marcação possuem algumas imperfeições e, por causa disso, é necessário introduzir um intervalo espacial entre a extremidade distal do plano de marcação e o plano de imagem. Isso faz com que se tenha um intervalo de trânsito adicional até que o sangue marcado alcance a região de interesse desde o momento em que houve a marcação (PETCHARUNPAISAN, 2010).

1.9.3 ASL PSEUDO-CONTÍNUA

A técnica de marcação pseudo-contínua (pCASL) representa um híbrido das abordagens CASL e PASL, em que um trem de pulsos de curta duração simulam uma marcação contínua. O objetivo principal desta técnica é de obter uma combinação das melhores características dos métodos de marcação contínuo e pulsado, ou seja, boa SNR e alta eficiência de marcação (DAI et al., 2008; WU et al., 2007).

Em 2008, foi elaborada a abordagem mais usual para aquisição das imagens pCASL. Esta metodologia utilizou um trem de pulsos de RF curtos (aproximadamente 1ms) e gradientes de campo sincronizados para inverter os spins do sangue que passam por um curto plano de marcação (Figura 1.11). A aplicação deste longo trem de pulsos faz com que se tenha uma quantidade mais espacialmente homogênea de spins com magnetização alterada, maximizando o efeito de marcação. Isso gera imagens com

melhor estabilidade de sinal e que consequentemente influenciará na confiabilidade dos mapas de CBF (DAI et al., 2008).

Figura 1.11: A) Metodologia de posicionamento (plano de marcação e região de leitura) e B) diagrama de aplicação dos pulsos de RF e gradientes de campo para aquisição das imagens pCASL. Fonte: Autor.

Outro importante ponto a ser mencionado é que como os pulsos de RF são curtos comparados ao tempo de relaxação do sangue arterial, perturbações causadas pelo trem de pulsos são basicamente as mesmas daquelas causadas por um pulso de marcação longo (WONG, 2013). Além disso, a técnica pCASL fornece menos deposição de potência e menos efeitos de transferência de magnetização quando comparada à CASL. Entretanto, ela pode ser suscetível a inhomogeneidades do campo magnético estático (WU et al., 2007).

Estudos recentes têm mostrado que a técnica pCASL fornece dados com boa reprodutibilidade até em longos intervalos entre exames, e pode ser melhorada por ajustes na sensibilidade da bobina de recepção e na eficiência de marcação. Além do que, esse método permite uma quantificação mais consistente e segura de CBF em unidades fisiológicas de importância clínica, produzindo resultados de concordância com outras técnicas de neuroimagem, como por exemplo, PET (HALLER et al., 2016).

1.9.4 QUANTIFICAÇÃO DE CBF

Em IRM, a magnetização ($\vec{M}$) de um sistema de spins sob a ação de um campo magnético ($\vec{B}$) é descrita pela equação de Bloch, onde

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \vec{M}(t) \times \gamma \vec{B}(t) - \frac{M_x(t)\hat{i} + M_y(t)\hat{j}}{T_2} + \frac{M_0 - M_z(t)}{T_1}\hat{k} \quad (1.9.4.1)$$

Em que γ é a razão giromagnética do núcleo do hidrogênio, M_0 é o módulo da magnetização no estado de equilíbrio, T_1 e T_2 são os tempos de relaxação longitudinal e transversal, respectivamente.

Para que seja possível quantificar o CBF em unidades absolutas, é necessário modelar a diferença de magnetização (ΔM) entre as imagens controle e de marcação em função da sequência e dos parâmetros do tecido. Considerando a água como um traçador difusível livre, a equação 1.9.4.1 pode ser modificada, levando em conta o modelo cinético geral proposto por Buxton e colaboradores, para incluir os efeitos da perfusão sanguínea tecidual (WONG; BUXTON; FRANK, 1997),

$$\frac{d\vec{M}_L}{dt} = \frac{M_L^0 - M_L(t)}{T_{1t}} + CBF[M_a(t) - M_v(t)] \quad (1.9.4.2)$$

Onde M_L^0 é a magnetização longitudinal de equilíbrio do tecido, M_a e M_v são as magnetizações longitudinais do sangue arterial e venoso, respectivamente; e T_{1t} é o tempo de relaxação longitudinal do sangue. Realizando a consideração de que a distribuição de água no cérebro pode ser tratada como um modelo de compartimento único, e que no estado de equilíbrio a relação entre as magnetizações do sangue e do tecido envolve o coeficiente de partição cérebro-sangue para a água (λ),

$$M_a^0 = M_v^0 = \frac{M_L^0}{\lambda} \quad (1.9.4.3)$$

Onde M_a^0 , M_v^0 e M_L^0 são as magnetizações longitudinais arterial, venosa e total em estado de relaxação completa. Considerando que ocorra total troca entre a água do tecido e a do sangue, a magnetização venosa é dada por

$$M_v(t) = \frac{M_L(t)}{\lambda} \quad (1.9.4.4)$$

Sendo assim, a equação 1.9.4.2 pode ser reescrita para

$$\frac{dM_L(t)}{dt} = \frac{M_L^0 - M_L(t)}{T_{1app}} - 2\alpha(t)CBF(M_b^0) \quad (1.9.4.5)$$

Nesse caso, T_{1t} é substituído por T_{1app} , que é a relaxação longitudinal do tecido considerando a passagem do sangue arterial ao nível tecidual e $\alpha(t)$ é a eficiência de marcação do pulso de RF aplicado anteriormente. Logo,

$$\frac{1}{T_{1app}} = \frac{1}{T_{1t}} + \frac{CBF}{\lambda} \quad (1.9.4.6)$$

$$\alpha(t) = \frac{M_a^0 - M_a(t)}{2M_a^0} \quad (1.9.4.7)$$

Considerando a aquisição das imagens controle, sem inversão ou saturação da magnetização,

$$M_a(t) = M_a^0 \quad (1.9.4.8)$$

$$M(t = 0) = 0 \quad (1.9.4.9)$$

Na condição de marcação, a magnetização do sangue arterial é alterada; após esse acontecimento, ela decai com a relaxação longitudinal T1. Considerando M_0 como a magnetização de equilíbrio do sangue. Então,

$$M_a(t) = M_0(1 - e^{-t/T_{1app}}) \quad (1.9.4.10)$$

Portanto,

$$M(t) = M_0(1 - e^{-t/T_{1app}}) - 2\alpha M_0 \frac{CBF}{\lambda} \frac{(e^{-t/T_{1app}} - e^{-t/T_{1t}})}{\frac{1}{T_{1app}} - \frac{1}{T_{1t}}} \quad (1.9.4.11)$$

$$\Delta M(t) = M_{control} - M(t) = 2\alpha M_0 \frac{CBF}{\lambda} \frac{(e^{-t/T_{1app}} - e^{-t/T_{1t}})}{\frac{1}{T_{1app}} - \frac{1}{T_{1t}}} \quad (1.9.4.12)$$

$$CBF = \left\{ \frac{2\alpha M_0}{\lambda \Delta M} \left[\frac{e^{-t/T_{1app}} - e^{-t/T_{1t}}}{\frac{1}{T_{1t}} - \frac{1}{T_{1app}}} \right] \right\}^{-1} \quad (1.9.4.13)$$

Levando em consideração os parâmetros utilizados na sequência pCASL,

$$CBF = \left\{ \frac{2\alpha}{\lambda} \frac{M_0}{\Delta M} \left[\frac{e^{-PLD/T_{1app}} - e^{-(PLD+LT+ST)/T_{1t}}}{\frac{1}{T_{1t}} - \frac{1}{T_{1app}}} \right] \right\}^{-1} \quad (1.9.4.14)$$

Onde LT é o tempo de aplicação do pulso de marcação e ST é o tempo de aquisição de cada fatia do volume de interesse.

1.10 ASL FUNCIONAL

A importância de avaliar a funcionalidade cerebral utilizando imagens por ressonância magnética (IRMf) foi sugerida pela presença de padrões metabólicos e perfusionais consistentes no cérebro tanto durante o desempenho de tarefas como em sua ausência (JARRETT, 2009). A praticidade de se realizar análises em sinais funcionais ao longo do tempo, independente do uso de estímulos externos, acabou gerando um rápido crescimento de aplicações. Estas são fomentadas pela habilidade de se ultrapassar os obstáculos da colaboração do indivíduo e do desempenho da tarefa, abrindo uma nova abordagem para a pesquisa de neuroimagem em pediatria (WHITE et al., 2014), envelhecimento (FERREIRA; BUSATTO, 2013), e em uma variedade de doenças neurológicas e psiquiátricas (LI et al., 2016).

Os neurônios apresentam alto nível de atividade e metabolismo, mesmo quando a pessoa não está envolvida em uma tarefa mental focada, ou seja, durante o estado de repouso. Sendo que, aproximadamente 80% da reserva energética do cérebro é direcionada para a atividade neuronal e processos metabólicos (SHULMAN et al., 2004). Estudos anteriores relatam e discutem a hipótese do CBF como parâmetro fisiológico normalmente acoplado ao metabolismo da glicose e atividade neuronal (HOGE; PIKE, 2001), podendo ser considerado assim como uma medida estabelecida deste processo.

Flutuações espontâneas de baixa frequência (geralmente menores que 0,1 Hz) no metabolismo energético basal foram observadas apresentando um padrão de correlação temporal em diferentes regiões do córtex, incluindo áreas relacionadas a atividades motoras, ativas, visuais, auditivas e até na ausência de estímulos (DETRE; WANG,

2002). A quantificação de parâmetros diretamente relacionados a essas atividades neurais, as flutuações de sinal em relação ao estado basal e a avaliação das redes de conexões, podem fornecer informações cruciais para compreensão da funcionalidade cerebral.

Atualmente, o objetivo principal dos exames clínicos de ASL é fornecer mapas quantitativos de CBF no estado de repouso com base em uma única aquisição dentro de um tempo aceitável de alguns minutos, com resultados demonstrados como comparáveis com exames mais usuais na rotina como exame PET (XU et al., 2010).

Uma vez que uma aquisição de imagens ASL contém vários pares de imagens controle e de marcação, torna-se possível observar como o CBF, obtido a cada par de imagens controle-marcação, flutua em relação ao estado basal ao longo do tempo de exame. Este tipo de abordagem, utilizado originalmente durante tarefas e posteriormente no estado de repouso, abre a possibilidade de um estudo funcional podendo trazer informações de extrema importância do processo topológico e organizacional da região de interesse. Estudos recentes utilizam a técnica ASL funcional para avaliação das redes cerebrais, conectividade funcional entre regiões de interesse, caracterização das redes de conexões, aplicações em grupos clínicos e em estudos com indivíduos saudáveis de diferentes idades, tanto no estado de repouso como durante estímulos externos (CHEN; JANN; WANG, 2015).

Alguns trabalhos sugerem que as medidas de integração funcional e CBF representam conjuntamente o grau de otimização de uma região para o processamento eficiente de informações e o custo metabólico associado a esse processo (TOMASI; WANG; VOLKOW, 2013). Assim, o conhecimento da relação integração funcional e CBF pode fornecer informações complementares sobre a organização funcional do cérebro. Tanto a perfusão quanto a integração entre regiões, bem como suas interações, são discutidos a serem alterados tanto em processos patológicos (MIAO et al., 2017), como também em processos adaptativos no envelhecimento sadio (BIAGI et al., 2007). Os próximos tópicos serão voltados a apresentação e discussão de alguns métodos de análise para dados funcionais.

1.11 CONECTIVIDADE FUNCIONAL

Nosso cérebro é uma rede complexa representada por regiões que se comunicam tanto funcionalmente como estruturalmente. A comunicação funcional entre as regiões

cerebrais é responsável por desempenhar um papel fundamental nos processos cognitivos complexos, refletindo na integração contínua de informações em diferentes regiões do cérebro. Isso faz com que o estudo da conectividade funcional no cérebro humano apresente sua importância científica e clínica, fornecendo novos pontos de vista importantes na organização central do cérebro humano. A conectividade funcional é definida como a dependência temporal entre eventos neurofisiológicos espacialmente remotos (FRISTON; FRITH, 1993). No contexto da neuroimagem, sugere-se a conectividade funcional para descrever a relação entre os padrões de ativação neuronal de regiões cerebrais anatomicamente separadas, refletindo o nível de integração entre regiões. Por convenção, essa medida de conectividade relacionada a esse processo integrativo geralmente é representada pelo valor de correlação de Pearson (equação 1.11.1), ou em algumas ocasiões pelo coeficiente Z de Fisher (equação 1.11.2).

$$r(x, y) = \frac{cov(x, y)}{\sigma_x \sigma_y} = \frac{\sum_{i=1}^N (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^N (X_i - \bar{X})^2} \sqrt{\sum_{i=1}^N (Y_i - \bar{Y})^2}} \quad (1.11.1)$$

$$z \simeq \frac{1}{2} \ln \left(\frac{1 + r}{1 - r} \right) = \operatorname{arctanh}(r) \quad (1.11.2)$$

$$r = \tanh(z) \quad (1.11.3)$$

Onde x e y, por exemplo, seriam séries temporais de áreas distintas do cérebro, com seus respectivos valores médios $\bar{X}$ e $\bar{Y}$.

Curiosamente, cerca de 15 anos após a invenção do IRMf, estudos começaram a examinar a possibilidade de medir a conectividade funcional entre as regiões cerebrais como o nível de co-ativação das séries temporais de IRMf espontânea, registradas durante o repouso (BISWAL; KYLEN; HYDE, 1997). Durante experimentos no estado de repouso, os voluntários geralmente são instruídos a relaxar e a não pensar em algo em particular, enquanto seu nível de atividade cerebral espontânea é medido ao longo do período de exame. Biswal e colegas foram os primeiros a demonstrar que, durante o repouso, as regiões hemisféricas esquerda e direita da rede motora primária, apresentam uma alta correlação entre suas séries temporais funcionais, sugerindo o processamento contínuo de informação e a conectividade funcional entre essas regiões (LOWE, 2010).

Estes estudos relatam que, mesmo durante o repouso, a rede cerebral não é ociosa, mas mostra uma grande quantidade de atividade espontânea altamente correlacionada entre várias regiões cerebrais (JARRETT, 2009). Essa abordagem de estudo funcional tem ganhado destaque nos últimos anos, pois não exige a colaboração e comprometimento do paciente durante o exame.

1.11.1 MÉTODO DE ANÁLISE POR SEMENTE

Tipicamente, após diversas etapas de pré-processamento, uma série de métodos podem ser usados para analisar os dados funcionais, cada um apresenta suas próprias vantagens e desvantagens inerentes. O método de análise baseada em sementes é uma das formas mais comuns de explorar a conectividade funcional dentro do cérebro. Ele implica selecionar espacialmente uma área de interesse (semente), sendo representada por um voxel aleatório ou um volume deles formando uma região anatômica de interesse (ROI), e correlacionar o valor médio de sua série temporal com as séries temporais de todos os outros voxels ou ROIs presentes no cérebro (BISWAL et al., 1995; LEE; SMYSER; SHIMONY, 2013).

Normalmente, um limiar estatístico é determinado para identificar voxels significativamente correlacionados com a região de interesse. É importante ressaltar que essa abordagem requer uma seleção a priori de ROIs, estas podem ser escolhidas previamente dependendo do objetivo do estudo ou selecionadas a partir de um mapa de ativação ou outro exame feito separadamente (LEE; SMYSER; SHIMONY, 2013).

O resultado dessa análise é um mapa de conectividade, geralmente mostrado por um *anel conectomo* ou matriz de correlações, que mostra os valores de correlação para cada voxel ou ROI, indicando o quão as séries temporais se correlacionam com a série temporal da semente (Figura 1.13).

Figura 1.13: Análise baseada no método por semente. Representação do desenho de um estudo a) no estado de repouso (R) e b) quando uma tarefa (T) é realizada. c) Comparação entre as séries temporais de uma região escolhida como semente (em amarelo) e outra de interesse (voxel j, em laranja). d) Resultado final, a partir de um limiar estatístico, apresentado pelo mapa de todas as áreas de alta correlação com a semente. Figura adaptada de (VAN DEN HEUVEL; HULSHOFF POL, 2010).

1.11.2 TEORIA DE GRAFOS

A conectividade do cérebro é um conceito amplo, mas em termos de aplicação pode ser dividida em três subtipos: conectividade estrutural, funcional e efetiva (FRISTON; FRITH, 1993). A conectividade estrutural refere-se às conexões anatômicas entre regiões cerebrais, tipicamente correspondentes aos tratos de substância branca. A conectividade funcional corresponde à correlação temporal na atividade de diferentes regiões cerebrais, independentemente da conexão anatômica. Já a conectividade efetiva consiste em influências causais diretas que uma região do cérebro produz em outra (RUBINOV; SPORNS, 2010). Um denominador comum para os diferentes tipos de conectividade cerebral é a idéia de que, em todos os casos, o sistema pode ser descrito como uma rede (estrutural ou funcional). A ideia de que o cérebro é um sistema similar

a um padrão de conexões está longe de ser novidade na neurociência, mas a abordagem de examinar essas propriedades sob teorias formais de redes matemáticas são um empreendimento recente.

Essa abordagem, conhecida como análise de rede complexa, descreve propriedades importantes de sistemas complexos, quantificando topologias de suas respectivas representações de rede. A análise de rede complexa tem suas origens no estudo matemático das redes, conhecida como teoria dos grafos. Uma rede (ou grafo) é um modelo matemático que representa uma coleção de nós (regiões) e links (conexões) entre pares de nós (STAM; REIJNEVELD, 2007). Nota-se que uma rede complexa é um modelo abstrato e, no contexto da IRMf, pode ser usada para representar os sistemas cerebrais em diferentes níveis (de pequenos conjuntos de neurônios e conexões sinápticas a regiões macroanatômicas conectadas por feixes de substância branca) (STAM; REIJNEVELD, 2007).

Uma vez que o modelo de análise foi aplicado (Figura 1.14) e seus parâmetros são calculados (Tabela 1.1), geralmente é de interesse extrair inferências. Os estudos de rede permitem ir além da visualização dos padrões de conectividade, fornecendo medidas e análises quantitativas a respeito dos mecanismos de organização funcional do cérebro, de forma local e global (WANG, 2010). Portanto, através de estudos de conectividade funcional é possível fazer inferência a respeito da fisiologia cerebral, em diversos segmentos da neurociência clínica e comportamental, no que diz respeito à sua organização e às propriedades dos sistemas neurais.

Figura 1.14: Modelo de análise por teoria de grafos: 1) extração da série temporal das ROIs, 2) cálculo da correlação temporal entre os sinais das áreas escolhidas (matriz conectividade), 3) escolha do limiar do valor de correlação para ser utilizado no cálculo dos parâmetros de rede e 4) representação da rede de conexões pela teoria de grafos. Figura adaptada de (WANG, 2010).

Parâmetro	Equação	Definição
Grau	$k_i = \sum_{j \in G} a(i, j)$	Número de links conectadas por um nó
Força	$FCS_i = \sum_{j \in G} r(i, j)$	Soma das correlações de um nó
Eficiência Local	$E_{local}(i) = \frac{1}{N_{G_i}(N_{G_i} - 1)} \sum_{(j,k) \in G_i} \frac{1}{d(j, k)}$	Caracterização da transmissão de informação por nós vizinhos
Coeficiente de Clusterização	$C(G) = \frac{1}{N} \sum_{(i,j,h) \in G} \frac{2a(i, j)a(i, h)a(j, h)}{k_i(k_i - 1)}$	Habilidade de interconexão local de uma rede
Eficiência Global	$E_{global} = \frac{1}{N(N - 1)} \sum_{i \neq j \in G} \frac{1}{d(i, j)}$	Quantificação da troca de informação realizada em toda rede
Caminho Livre Médio	$L = \frac{1}{N(N - 1)} \sum_{i,j \in G, i \neq j} d(i, j)$	Menor número de links para conectar um nó a outros nós de toda a rede

Tabela 1.1: Definições dos parâmetros de rede utilizados no presente estudo. Tabela adaptada de (STAM; REIJNEVELD, 2007).

2. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVAS

Sugere-se que, ao decorrer dos anos de vida, o cérebro humano passa por uma vasta série de mudanças funcionais e estruturais necessárias para apoiar o comportamento adaptativo complexo de um indivíduo normal totalmente maduro. A capacidade de medir as mudanças de desenvolvimento que ocorrem em diferentes regiões do cérebro fornece um meio de relacionar vários fenômenos comportamentais para maturação das estruturas cerebrais específicas, aumentando assim a nossa compreensão das relações morfofuncionais em ambos os estados normais e patológicos (BIAGI et al., 2007). Uma abordagem para estudar estas mudanças de desenvolvimento, é a medição de um fator de extrema importância da funcionalidade cerebral, como a utilização metabólica da glicose regional, ou, alternativamente, uma grandeza física correlacionada com o metabolismo energético, tal como a perfusão sanguínea cerebral. Neste contexto, em neuroimagem funcional, a ASL emergiu como uma ferramenta não invasiva importante que oferece uma abordagem quantitativa do padrão perfusional e da funcionalidade local, através da obtenção de mapas quantitativos de CBF.

Um fornecimento contínuo e eficiente de CBF é vital para função neural, desde que o metabolismo oxidativo é o principal meio de produção energética do cérebro humano, logo a perfusão sanguínea, é um indicador chave da saúde cerebral. Portanto, entender mudanças na perfusão sanguínea basal em indivíduos saudáveis ao longo do tempo de vida é um importante passo para se diferenciar alterações normais de anormais no processo organizacional e funcional do cérebro humano. Levando estes fatores em conta, o objetivo principal do presente trabalho foi avaliar como o processo do envelhecimento provoca mudanças na perfusão sanguínea cerebral basal no estado de repouso, em sujeitos saudáveis, de diversas faixas etárias, através da utilização de uma sequência de ASL disponível comercialmente. Sendo assim, mais especificamente, objetivamos verificar as hipóteses de que:

- Há hipoperfusão regional com o envelhecimento;
- O processo de envelhecimento leva a uma perda regional dos parâmetros de integração funcional;
- A redução de CBF e de parâmetros de integração funcional, em função da idade, ocorrem nas mesmas regiões cerebrais.

3. METODOLOGIA

3.1. PARTICIPANTES

Adotando a metodologia de estudo do tipo transversal, sessenta e três voluntários saudáveis, sendo trinta e quatro homens e vinte e nove mulheres, entre 18 e 70 anos (idade média $\pm$ desvio padrão = $38,1 \pm 15,1$ anos), foram recrutados para participar desse estudo. Assim, a divisão em subgrupos apresentou as seguintes características:

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Sexo (F/M)	(12/14)	(10/12)	(7/8)
Idade (anos)	$24,8 \pm 3,1$	$38,6 \pm 8,9$	$60,8 \pm 8,0$

Tabela 3.1: Características demográficas dos três subgrupos utilizados no estudo. Grupo 1 composto por indivíduos de 18 a 30 anos, Grupo 2 de 30 a 50 anos e Grupo 3 acima de 50 anos.

Os critérios de exclusão foram: hipertensão, diabetes e histórico de doenças neurológicas por meio de entrevista com o participante; presença de estenose carotídea parcial ou total, unilateral ou bilateral, verificada por angiorressonância; presença de lesão por acidente vascular cerebral ou tumor cerebral, verificados por IRM estrutural; presença de marca-passo e próteses incompatíveis com a realização de exame de ressonância magnética; claustrofobia; gravidez; déficit visual e não assinatura do termo de consentimento.

3.2. ASPECTOS ÉTICOS E ORIENTAÇÕES

O presente estudo e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foram aprovados pelos Comitês de Ética em Pesquisa da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (FFCLRP-USP), e do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP-USP).

Cada voluntário recebeu o TCLE da pesquisa, e teve a oportunidade de ler na presença dos pesquisadores e esclarecer as dúvidas. No termo estavam inclusas as informações sobre os objetivos e procedimentos do estudo; os possíveis desconfortos do

exame e a possibilidade de saírem da pesquisa a qualquer momento, mesmo durante o exame. Após esse procedimento, os voluntários afirmaram o consentimento de sua participação mediante assinatura do TCLE.

Antes do exame de IRM, todos os voluntários foram encaminhados a um enfermeiro responsável pela entrevista de triagem para averiguar se o participante em questão possuía algum tipo de restrição ao exame, como marca-passo e objetos metálicos pelo corpo. Todos os voluntários foram instruídos a permanecerem acordados, em silêncio, se movimentar o mínimo possível, tentar não pensar em nada específico e a olhar através de um espelho para uma cruz fixada atrás do magneto durante todo o exame.

Além disso, todos os voluntários foram convidados a participar da pesquisa sem nenhum tipo de remuneração e recebendo apenas o benefício de terem suas IRM estruturais laudadas por um radiologista do HCFMRP. Após esse procedimento, os voluntários afirmaram o consentimento de sua participação mediante assinatura do TCLE.

3.3. AQUISIÇÃO DAS IMAGENS

As IRM foram adquiridas em um sistema de ressonância magnética de 3T (Achieva, Philips Medical Systems, Holanda) instalado no HCFMRP, utilizando uma bobina de corpo inteiro para transmissão e uma bobina de cabeça de 32 canais dedicada à recepção do sinal. Os parâmetros de aquisição utilizados para cada sequência de pulsos estão descritos a seguir.

3.3.1. Imagens *Arterial Spin Labeling* Pseudo-contínua (pCASL)

Imagens 2D axiais foram adquiridas utilizando-se uma sequência de leitura do tipo Eco Planar (EPI) com os seguintes parâmetros: ângulo de excitação = 90° , matriz = 80×80 , FOV = $240 \times 240 \text{ mm}^2$, número de fatias = 20, espessura das fatias = 5 mm, intervalo entre fatias (*gap*) = 0,5 mm, tempo de repetição (TR) = 4 s, tempo ao eco (TE) = 14 ms, duração da marcação (LT) = 1650 ms, atraso pós-marcação (PLD) = 1525 ms, número de pares (controle/marcação) = 50 e duração de 6 minutos e 40 segundos.

3.3.2. Imagens M0

Imagens baseadas na densidade de prótons (M0) foram adquiridas com os seguintes parâmetros: TR/TE = 15000/14 ms, ângulo de excitação = 90°, matriz = 80 x 80, FOV = 240 x 240 mm², número de fatias = 20, espessura das fatias = 5 mm, intervalo entre fatias (*gap*) = 0,5 mm, número de repetições = 5 e duração de 1 minuto e 30 segundos.

3.3.3. Imagens Anatômicas Ponderadas em T1

Para referência anatômica, imagens de alta resolução espacial, ponderadas na relaxação longitudinal do tecido (T1), foram adquiridas utilizando uma sequência do tipo gradiente eco com os seguintes parâmetros: TR/TE = 7/3 ms, ângulo de excitação = 8°, matriz = 240 x 240, FOV = 240 x 240 mm², número de fatias = 160, espessura das fatias = 1 mm e duração de 5 minutos e 30 segundos.

3.3.4. Imagens TOF

Para confirmação da ausência de oclusões artérias, imagens de angioressonância foram obtidas utilizando uma sequência tridimensional TOF (*Time of Flight*), com os seguintes parâmetros: TR/TE = 20/3,5 ms, ângulo de excitação = 20°, matriz = 512 x 512, FOV = 220 x 220 mm², número de fatias = 175, espessura das fatias = 1,1 mm.

3.4. PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

As imagens adquiridas neste estudo passaram por um processo de pré-processamento a fim de diminuir variações não associadas à linha de base no estado de repouso do participante e preparar os dados para o processamento. As imagens foram processadas e analisadas utilizando rotinas próprias desenvolvidas em MATLAB (TheMathWorks, Natick, EUA), além do SPM12 (*Statistical Parametric Mapping*, University College London, UK), ASL *toolbox* (WANG et al., 2008), BCT *toolbox* (RUBINOV; SPORNS, 2010) e CONN *toolbox* v.17f (WHITFIELD-GABRIELI; NIETO-CASTANON, 2012).

3.4.1. Pré-Processamento

As etapas de pré-processamento foram realizadas utilizando o software SPM12, para as Imagens ASL foram realizados os seguintes passos: correção de artefatos de movimentos através do realinhamento da série de imagens adquiridas tendo como referência a de primeira posição (limite de translação = $\pm 2\text{mm}$ e rotação = $\pm 2^\circ$); corregristo com as imagens anatômicas de alta SNR e resolução espacial e com as imagens ponderadas na densidade protônica (M0); Segmentação das Imagens Anatômicas corregristradas para se obter máscaras de Substância Cinzenta, Substância Branca e CSF; suavização espacial com filtro gaussiano de 4 mm de largura a meia altura; Subtração das séries de Imagens Controle e Marcação, Aplicação do modelo de Quantificação de CBF nas imagens subtraídas levando em conta a imagem M0 corregristrada e normalização dos mapas de CBF e das séries temporais para o espaço padrão MNI (resolução espacial = $2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$, matriz = $79 \times 95 \times 79$). Além disso, as imagens anatômicas corregristradas, bem como as máscaras de substância branca, substância cinzenta e CSF foram normalizadas para o espaço MNI (Figura 3.1).

Figura 3.1: Esquema das etapas utilizadas no processamento de imagens. Fonte: Autor.

3.4.2. Cálculo das Imagens de Perfusão

Os mapas de perfusão sanguínea foram obtidos através da subtração das imagens marcadas em relação às imagens controles, utilizando o método de interpolação “*sinc-subtraction*” para análise do mapa “estático” de CBF e “*pairwise subtraction*”, para

análise funcional através das séries temporais de CBF (AGUIRRE et al., 2002; WANG et al., 2008). Sendo todo esse processo otimizado e implementado em rotinas disponíveis no pacote *ASL toolbox*.

Como as imagens controle e marcada são adquiridas em diferentes tempos, espaçadas de um TR, o primeiro método (*sinc subtraction*) realiza uma interpolação pela função *sinc* das imagens do tipo controle para retirar a diferença de sinal ocorrida entre os tempos de aquisição. Assim, ao subtrair cada par controle-marcada, a imagem resultante será ponderada na diferença de sinal devido aos spins marcados que atingem a microvasculatura cerebral à nível capilar. Na prática, a este método tem um efeito de filtro passa banda, o qual minimiza a contribuição de sinal BOLD sobre as imagens de perfusão (AGUIRRE et al., 2002), diminuindo o sinal proveniente dos grandes vasos, efeitos da vasodilatação, ou extração de oxigênio.

No nosso estudo, a interpolação sinc foi utilizada levando em conta as informações de seis imagens vizinhas do tipo controle, para assim estimar qual seria o valor da imagem controle adquirida no mesmo instante da imagem de marcação (Figura 3.2).

Figura 3.2: Modelo Ilustrativo do método de subtração sinc para obtenção dos mapas de CBF. Fonte: Autor.

Para obtenção das séries temporais de CBF, utilizou-se a “*pairwise subtraction*” no intuito de garantir uma melhora na amostragem do sinal perfusional cerebral, visto que por esse tipo de subtração, a cada n imagens de controle e marcação, $n-1$ mapas de CBF são obtidos (Figura 3.3), diferentemente dos $n/2$ mapas obtidos pela “*sinc subtraction*”.

Em termos práticos, a “*pairwise subtraction*” garante uma melhora na amostragem da série temporal de CBF em comparação aos demais tipos de subtração, entretanto devido a não correção temporal entre as imagens de controle e marcação, a subtração resultante pode acabar apresentando contribuições de sinal de outros fatores presentes na hemodinâmica cerebral, levando a uma consequente menor especificidade do sinal CBF obtido (AGUIRRE et al., 2002).

Figura 3.3: Modelo de subtração *pairwise* para obtenção da série temporal a ser utilizada nas análises funcionais. Fonte: Autor.

3.4.3. Cálculo dos Mapas de CBF

Os mapas de CBF foram obtidos a partir das imagens de perfusão, utilizando a equação 1.9.4.14, conforme o modelo de Buxton, e como descrito por Alsop e colaboradores (ALSOP et al., 2015). Os valores utilizados para as constantes foram: $\lambda = 0,98$ mL/g para substância cinzenta e 0,84 para substância branca; $T_{1t} = 1680$ ms; e $\alpha = 0,85$.

Cada par de imagens controle/marcada adquirido gerou uma imagem ponderada em perfusão e, consequentemente, um mapa de CBF. A série temporal de mapas de CBF foi utilizada para avaliar a funcionalidade cerebral e, além disso, um mapa médio de cada indivíduo foi obtido para a avaliação regional do CBF basal. Esses mapas médios individuais foram utilizados na obtenção dos mapas médios dos grupos 1 (18 a 30 anos), 2 (30 a 50 anos) e 3 (idade superior a 50 anos).

3.4.4. Análise Funcional

3.4.4.1 Conectividade Funcional

A avaliação da conectividade funcional foi realizada utilizando o toolbox CONN v17f e as séries temporais de CBF pré-processadas no SPM12. Primeiramente, uma regressão linear e uma filtragem temporal passa-baixa com frequência de corte de 0,07 Hz foram aplicadas para remoção de artefatos e ruídos indesejáveis no sinal de interesse devido a movimentos da cabeça e efeitos fisiológicos. Os sinais provenientes da substância branca e CSF foram removidos por análise de componente principal (PCA) em 5 componentes cada, análise padrão, através do algoritmo COMPCOR (BEHZADI et al., 2007) implementado no toolbox CONN.

Realizou-se uma análise baseada em sementes do tipo *ROI-to-ROI*, ou seja, calculou-se a conexão entre as séries temporais médias de regiões de interesse, definidas a partir de 103 regiões anatômicas do atlas (FSL Harvard-Oxford Atlas – Anexo D), desconsiderando as regiões de número 104 à 132 não cobertas pela aquisição. Verificou-se também a respectiva área de Brodmann de cada região de interesse do estudo (Anexo E). Considerou-se então a conexão entre duas regiões como sendo o coeficiente de correlação de Pearson r e valor $p < 0,05$, corrigido para múltiplas comparações (FDR, *False Discovery Rate*). Além disso, calculou-se o valor médio das correlações positivas por região, sendo este valor utilizado para as análises estatísticas de grupo único e entre os três subgrupos propostos.

3.4.4.2 Teoria de Grafos

Neste estudo, foram calculados seis parâmetros para caracterizar as redes funcionais, sendo eles: caminho livre médio, eficiência global, eficiência local, força da conectividade, coeficiente de clusterização e grau (Tabela 1.1). O cálculo destes foi realizado a partir de rotinas disponíveis no toolbox BCT que utiliza a matriz de correlações, ou matriz conectividade, fornecida pelo toolbox CONN. Primeiramente, uma matriz de correlações Z de Fisher é fornecida para cada indivíduo, estas foram convertidas para correlação r de Pearson (equação 1.11.3). Feito isso, para definir o valor de corte das correlações a serem consideradas no cálculo dos parâmetros, foi adotada a abordagem proposta por trabalhos recentes (DE VICO FALLANI et al., 2014;

LIANG; CONNELLY; CALAMANTE, 2014; LIU; ZHUO; YU, 2016; SADEGHI et al., 2017), onde através de passos de 0,05 em valores de limiar para r , dentro do intervalo de 0,05 a 0,95, foi calculado o valor do parâmetro de rede correspondente e se observou a região de melhor comportamento linear, ou seja, a região onde os resultados não apresentam grande variabilidade, sendo um valor médio dessa margem utilizado como resultado, repetindo esse processo para cada indivíduo.

3.4.5 Análise Estatística

Todas as análises e correções estatísticas foram realizadas no software R. Os valores regionais de fluxo sanguíneo cerebral, conectividade funcional média (correlação de Pearson) e os seis parâmetros de rede obtidos por teoria de grafos para cada indivíduo foram analisados em forma de grupo único e em comparação entre os três subgrupos através de testes t de Student bi amostrais. Nas análises de grupo único, realizou-se um teste de correlação de Pearson, com valor p corrigido para múltiplas comparações, para cada variável (regional ou global) em função da idade de cada indivíduo; também foi obtido o coeficiente angular através de um ajuste linear simples de cada variável estudada também em função da idade a fim de calcular a taxa variação dessas variáveis, assim como proposto por Salat e colaboradores (CHEN; ROSAS; SALAT, 2011). Para avaliação dos efeitos de gênero nos valores de CBF basal, testes bi-amostrais de Wilcoxon, adotando valor de corte $p < 0.05$ *FDR*, foram realizados para ambas as abordagens de análise de grupo propostas.

4. RESULTADOS

O grupo utilizado para as análises perfusionais foi mantido conforme descrito na seção 3.1, sendo que não houve diferenças significativas ($p > 0,05$, teste Qui Quadrado) em relação ao gênero dos indivíduos, tanto na análise de grupo único como para subgrupos. Dito isso, os próximos tópicos apresentarão os resultados de CBF regional, conectividade funcional na análise *ROI-to-ROI* e parâmetros de rede obtidos pela teoria de grafos, tanto na abordagem de grupo único como através da comparação entre subgrupos.

4.1. FLUXO SANGUÍNEO CEREBRAL BASAL

4.1.1. ANÁLISE EM GRUPO ÚNICO

A Figura 4.1 mostra como os valores de CBF nas ROIs de número 2 (polo frontal esquerdo) e 41 (giro angular direito) se comportam em relação à idade, sendo que essa mesma relação também foi observada de maneira significativa (p - $FDR < 0,05$) para outras regiões (Figura 4.2).

Figura 4.1: Polo frontal esquerdo e giro angular direito apresentaram redução significativa de CBF com a idade. Fonte: Autor.

Figura 4.2: Regiões que apresentaram decréscimo significativo de CBF com o aumento da idade. Ressaltando que o córtex pré-frontal é uma representação das regiões de número 5 a 12, e o lobo temporal das regiões 17 à 32 do atlas anatômico utilizado (Anexo D). Fonte: Autor.

Outra maneira de ilustrar o comportamento de um parâmetro em função do tempo é pela taxa de variação dessa grandeza. No caso deste estudo, o parâmetro fisiológico é o CBF regional, em função das idades dos indivíduos do grupo de estudo. Na Figura 4.3, observamos que essa taxa é de até $-0,6 \text{ ml/100g} \cdot \text{min/ano}$ por ano, evidenciando as mesmas regiões mostradas na Figura 4.2. Em contrapartida, não observamos regiões cerebrais com aumento de CBF com a idade.

Figura 4.3: Taxa de variação de CBF em função da idade. Fonte: Autor.

Em relação ao efeito do gênero dos indivíduos nos valores de CBF basal, testes bi amostrais de Wilcoxon reportaram que sujeitos do sexo feminino apresentaram valores regionais de CBF significativamente maiores ($p < 0.05$ *FDR*) no giro superior frontal bilateral (ROI's # 5 e 6) e no polo occipital direito (ROI # 90), em relação aos sujeitos do sexo masculino.

4.1.2 ANÁLISE EM SUBGRUPOS

A Figura 4.4 mostra os mapas médios de CBF dos grupos 1 (18 a 30 anos), 2 (30 a 50 anos) e 3 (idade superior a 50 anos), em que podemos observar a diminuição de CBF regionalmente com a idade. Considerando toda a substância cinzenta, os valores médios de CBF foram $57,5 \pm 6,6$ ml/100g*min, $45,9 \pm 8,7$ ml/100g*min e $40,3 \pm 6,2$ ml/100g*min para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente.

Figura 4.4: Mapas de CBF médio dos Grupos 1, 2 e 3, respectivamente. Fonte: Autor.

A comparação entre grupos resultou em algumas regiões com diferenças significativas (p -*FDR* < 0,05; Figura 4.5). Podemos ressaltar o polo frontal bilateral que

apresentou diferenças nas duas comparações, grupo 1 versus grupo 2 ($p = 0.008$), e grupo 2 versus grupo 3 ($p = 0.014$).

Figura 4.5: Regiões que apresentaram redução de CBF significativa ($p\text{-}FDR < 0,05$) na comparação entre grupos. Fonte: Autor.

Por fim, a taxa de variação de CBF na comparação entre grupos está apresentada na Figura 4.6, evidenciando redução de CBF em regiões mostradas nas figuras 4.2 e 4.5. No item A da Figura 4.6, essa taxa de variação de CBF foi calculada incluindo apenas indivíduos dos grupos 1 e 2; o mesmo foi feito no item B incluindo indivíduos dos grupos 2 e 3. Podemos observar que, no geral, a redução de CBF é mais acentuada entre 18 e 50 anos. Entretanto, algumas regiões só apresentam reduções significativas após os 50 anos de idade (Figura 4.5). Mais especificamente, no polo frontal, a taxa de variação de CBF foi de $-0,39\text{ ml}/100\text{g}\cdot\text{min}$ por ano entre 18 e 50 anos, e $-0,32\text{ ml}/100\text{g}\cdot\text{min}$ por ano entre 30 e 70 anos.

Figura 4.6: Taxa de variação de CBF relativa a faixa etária que compreende A) os grupos 1 e 2 e B) grupos 2 e 3. Fonte: Autor.

Já em relação ao efeito do gênero dos indivíduos nos valores de CBF basal, testes bi amostrais de Wilcoxon reportaram que, no grupo 1, sujeitos do sexo feminino apresentaram valores regionais de CBF significativamente maiores ($p < 0.05$ *FDR*) apenas no córtex motor suplementar esquerdo. No grupo 2, apenas no giro temporal direito e no grupo 3 não foram reportadas diferenças significativas.

4.2 CONECTIVIDADE FUNCIONAL

Para análise da conectividade funcional, após a obtenção da matriz conectividade, com seus valores em r de Pearson (equação 1.11.1), para cada indivíduo foi realizado um teste estatístico a fim de evidenciar apenas as correlações significativas (p -*FDR* $< 0,05$). Feito isso, no espectro das correlações positivas ($r > 0$), foi calculada uma média da conectividade regional para cada indivíduo. Com esses valores, realizamos testes estatísticos nas análises de grupo único e entre subgrupos, assim como feito na seção 4.1 nas análises perfusionais.

4.2.1 ANÁLISE EM GRUPO ÚNICO

A Figura 4.7 ilustra o comportamento da conectividade funcional média das regiões de número 34 (giro pré-central esquerdo) e 53 (giro paracingulado direito), com todas as outras ROIs estudadas, em função da idade. Sendo que essa redução significativa (p -*FDR* $< 0,05$) também foi observada em outras regiões do córtex cerebral, como mostrado na Figura 4.8.

Figura 4.7: Giro pré-central esquerdo (ROI #34) e giro paracingulado direito (ROI #53) apresentaram redução significativa da conectividade funcional média em função da idade. Fonte: Autor.

Figura 4.8: Regiões que apresentaram redução significativa da conectividade funcional média em função da idade. Sendo o lobo temporal direito representado pelas regiões 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 e 31; e o giro central pelas regiões 13, 14, 33 e 34 do atlas anatômico utilizado (Anexo D). Fonte: Autor.

4.2.2 ANÁLISE EM SUBGRUPOS

Da mesma maneira realizada nas análises de CBF regional, após as etapas de processamento e obtenção dos valores médios de conectividade, foram aplicados testes t bi amostrais ($p\text{-FDR} < 0,05$) nas comparações entre os grupos 1 x 2 e 2 x 3, respectivamente (Figura 4.9). Como na análise de CBF basal (seção 4.1.2), podemos evidenciar regiões frontais do cérebro como tendo alterações com a idade.

Figura 4.9: Regiões que apresentaram redução significativa de conectividade funcional, dada pela correlação de Pearson entre suas flutuações espontâneas de CBF, na comparação entre os grupos 1, 2 e 3. Fonte: Autor.

4.3 TEORIA DE GRAFOS

Para análise dos parâmetros de rede de conexões através da teoria de grafos, após a obtenção da matriz conectividade, utilizamos rotinas do toolbox BCT para o cálculo iterativo, como descrito na seção 3.4.5, dos parâmetros nodais e globais a serem avaliados, tanto para análise em grupo único como na entre subgrupos.

4.3.1 ANÁLISE EM GRUPO ÚNICO

Os valores dos parâmetros de rede obtidos foram analisados em função da idade de cada indivíduo. Observa-se que os parâmetros de rede globais se mantiveram de forma constante no processo de envelhecimento (Figura 4.10), já os parâmetros nodais demonstraram reduções significativas ($p\text{-FDR} < 0,05$) em algumas regiões do córtex cerebral (Tabela 4.1).

Figura 4.10: Relação dos parâmetros de rede globais (eficiência global e caminho livre médio) com a idade. Fonte: Autor.

Grau	Força	Coefficiente de Clusterização	Eficiência Local
Polo frontal direito (-0,36)	Polo frontal direito (-0,02)	Polo frontal direito (-0,003)	Polo frontal direito (-0,004)
Córtex pré-frontal direito (-0,38)	Córtex pré-frontal (-0,03)	Córtex pré-frontal direito (-0,002)	Córtex pré-frontal direito (-0,002)
Córtex Orbitofrontal direito (-0,33)	Córtex Orbitofrontal direito (-0,02)	Córtex Orbitofrontal direito (-0,003)	Córtex Orbitofrontal direito (-0,004)
Lobo temporal direito (-0,30)		Lobo temporal direito (-0,002)	
Giro pré central esquerdo (-0,24)		Giro pré central esquerdo (-0,002)	Giro pré central direito (-0,003)
Córtex motor suplementar bilateral (-0,25)	Córtex motor suplementar bilateral (-0,02)		

Tabela 4.1: Regiões que apresentaram redução significativa ($p\text{-}FDR < 0,05$) para cada parâmetro de rede nodal calculado. Entre parênteses está indicada a taxa de variação do parâmetro em relação a idade (em anos). Fonte: Autor.

4.3.2 ANÁLISE EM SUBGRUPOS

Aplicando a mesma abordagem como nos tópicos 4.1.2 e 4.2.2, testes t bi amostrais ($p\text{-}FDR < 0,05$) foram aplicados nas comparações entre os grupos 1 x 2 e 2 x 3. Assim como na análise de grupo único, os parâmetros de rede globais se mantiveram de forma constante no processo de envelhecimento, enquanto que os parâmetros nodais apresentaram alterações significativas em algumas regiões do córtex cerebral (Tabela 4.2).

Grau		Força	
1>2	2>3	1>2	2>3
Polo frontal direito		Polo frontal direito	
		Córtex pré-frontal direito	
	Lobo temporal esquerdo		Lobo temporal esquerdo
	Córtex motor suplementar direito		Córtex motor suplementar direito

Coeficiente de Clusterização		Eficiência Local	
1>2	2>3	1>2	2>3
Polo frontal direito		Polo frontal direito	
	Córtex pré-frontal direito		Córtex pré-frontal direito
Córtex orbitofrontal direito			
	Lobo temporal direito		

Tabela 4.2: Regiões que apresentaram redução significativa ($p\text{-}FDR < 0,05$) dos parâmetros de rede nodais (grau, força, coeficiente de clusterização e eficiência local) na comparação entre os grupos 1, 2 e 3. Fonte: Autor.

5. DISCUSSÃO

A determinação das alterações nos padrões perfusionais, que acompanham o processo de envelhecimento cerebral, juntamente com o estabelecimento de uma escala de valores dentro da normalidade tecidual sadia é uma informação valiosa e de potencial científico e clínico para uso diagnóstico e no entendimento de diversas doenças neurológicas (BIAGI et al., 2007). Dito isso, o presente estudo realizou uma avaliação de como o processo de envelhecimento atua na hemodinâmica cerebral utilizando imagens pCASL bidimensionais para detecção de possíveis mudanças perfusionais.

Em relação aos valores de CBF basal, nossos resultados mostraram que diversas regiões apresentam uma redução significativa conforme o avanço da idade, sendo verificadas principalmente nos lobos frontal e temporal, com algumas pertencentes aos lobos parietal e occipital, entretanto essas em menor número. Esses resultados estão consistentes com estudos perfusionais e metabólicos de neuroimagem de caráter transversal aplicados no envelhecimento (LEE et al., 2009; MOSCONI, 2013). Estes discutem o comprometimento do sistema hemodinâmico, além de enfatizar que, principalmente as regiões do lobo frontal, apresentam ampla gama de atuação na funcionalidade cerebral, sendo algumas funções (atentivas, mnemônicas, executivas), frequentemente reportadas no processo de prejuízo cognitivo em indivíduos idosos (FRITH; DOLAN, 1996; HARADA; NATELSON LOVE; TRIEBEL, 2013).

Por outro lado, não foram observados aumentos regionais significativos do CBF basal com a idade, sendo que, outros trabalhos com abordagem semelhante ao do presente estudo, discutem hipóteses que podem estar relacionadas a estes aumentos, como por exemplo, a presença de sistemas compensatórios (ZHANG; GORDON; GOLDBERG, 2017). Em relação ao efeito do gênero dos indivíduos, não foram observadas mudanças significativas de CBF basal considerando toda a substância cinzenta assim como reportado anteriormente na literatura (LIU et al., 2012). No entanto, regionalmente, foram observados valores significativamente maiores de CBF em sujeitos do sexo feminino em relação aos do masculino, assim como discutido em outros estudos (ASLLANI et al., 2009; SONI et al., 2016).

Ainda que os resultados obtidos estejam consistentes com outros já observados, fatores envolvidos nas condições de aquisição das imagens ASL, rotinas e softwares de processamento e principalmente as análises estatísticas empregadas podem influenciar diretamente a obtenção e interpretação dos resultados (LIU; WONG, 2005). Logo, tanto

o processo de origem e comprometimento do sistema vascular, quanto o de reposta e compensação do padrão perfusional permanecem não esclarecidos e sendo constantemente discutidos (FERRARI; RADAELLI; CENTOLA, 2003).

Regiões pertencentes aos lobos frontal e temporal apresentaram além de uma redução perfusional significativa (Figuras 4.2 e 4.5), uma taxa de variação de aproximadamente $-0.4 \text{ ml}/100\text{g}\cdot\text{min}/\text{ano}$ (Figuras 4.3 e 4.6), em ambas as abordagens de análise de grupo. Do mesmo modo, diversas regiões, como por exemplo os lobos frontal e parietal, apresentaram uma taxa de decaimento mais acentuada na faixa etária referente aos grupos 1 e 2 (Figura 4.6). Ao mesmo tempo, existem trabalhos que acompanham mudanças hemodinâmicas desde a primeira década de vida, sendo que um desses relatou uma elevação do CBF global até a segunda década, quando ocorre um maior período de estabilidade perfusional (BIAGI et al., 2007). A razão dessas mudanças ainda é desconhecida, no entanto existem hipóteses formuladas que relacionam a deterioração das células nervosas tanto em sua estrutura quanto nos processos sinápticos, relacionando a importância do parâmetro CBF como medida indireta da saúde tecidual e da atividade neuronal (HOGE; PIKE, 2001; VERFAILLIE et al., 2015).

Além disso, medidas de conectividade funcional foram obtidas a partir das séries temporais de CBF, sendo o valor de correlação de Pearson adotado como medida de integração. Na abordagem de grupo único foram relatadas reduções significativas da conectividade funcional em regiões localizadas principalmente nos lobos frontal, temporal e parietal (Figura 4.8). Já na abordagem entre subgrupos, as regiões com redução de conectividade funcional se mantiveram nos lobos frontal e parietal (Figura 4.9). Esses resultados estão de acordo com estudos de neuroimagem funcional, no estado de repouso, aplicada em envelhecimento sadio (CHEN et al., 2016; DENNIS; THOMPSON, 2014).

Ainda na análise de integração funcional, mas com enfoque na caracterização da rede de conexões, foram obtidos parâmetros de rede através da teoria de grafos. Em relação aos parâmetros de rede globais (eficiência global e caminho livre médio) não foram observadas mudanças supostamente causadas pelo processo de envelhecimento (Figura 4.10) para ambas as abordagens de grupo propostas, assim como reportado em um trabalho recente (GEERLIGS et al., 2015). Já em consideração aos parâmetros nodais, as tabelas 4.1 e 4.2 demonstram uma redução significativa em diversas regiões presentes no lobo frontal, temporal e parietal. Estes resultados estão de acordo com

estudos que avaliam o processo de envelhecimento também por teoria de grafos (QIU et al., 2015; WANG, 2010), entretanto apresentam algumas particularidades. Primeiramente, nota-se uma lateralidade das regiões que apresentaram reduções significativas em relação ao hemisfério cerebral, o que não foi observado nas demais medidas regionais calculadas anteriormente. Além disso, devido ao cálculo de quatro parâmetros nodais, nota-se uma diversidade das regiões que apresentaram reduções em cada um destes. Novamente não foram observados aumentos em nenhum dos parâmetros nodais calculados, o que difere de alguns estudos anteriores (GEERLIGS et al., 2015; QIU et al., 2015). Ainda assim, a conservação ao longo do tempo de vida, principalmente de parâmetros globais, sugere que apesar do prejuízo cognitivo de algumas funções, a rede de conexões como um todo trabalha para garantir boa integridade e eficiência na transmissão de informações.

Um resultado particular do presente estudo é o comprometimento funcional do córtex motor suplementar conforme avanço da idade, assim como visto na figura 4.9 e nas tabelas 4.1 e 4.2. Inicialmente, a literatura em relação a esse assunto já reportou déficits de desempenho motor que incluem dificuldade de coordenação, aumento da variabilidade do movimento e dificuldades de equilíbrio (SEIDLER et al., 2010). Mais recentemente em estudos de neuroimagem, foram reportadas alterações estruturais (SEIDLER et al., 2010) e funcionais (HE et al., 2017) em regiões presentes no córtex motor. De uma maneira geral, a principal linha de raciocínio discutida é consistente com a hipótese "Last in, First out", onde as regiões cerebrais que são as últimas a se desenvolver são as primeiras a serem comprometidas. Isto sugere que as regiões sensorimotoras seriam relativamente poupadas, dado que são precoces para se desenvolver, tanto em tempo de vida e escala evolutiva (SEIDLER et al., 2010). Por outro lado, discussões sobre alterações funcionais, como a dediferenciação, sugerem que as conexões cerebrais se tornam menos específicas com a idade, resultando em idosos que recrutam de maneira ineficiente regiões adicionais. Já a teoria da compensação, discute que essas áreas cerebrais estão positivamente associadas ao desempenho da tarefa, e que compensam os declínios estruturais e bioquímicos do cérebro possivelmente afetados pelo envelhecimento (HE et al., 2017; SEIDLER et al., 2010). Outro ponto a ser ressaltado é a importância da integração funcional exercida pelo córtex motor, podendo esta influenciar não somente as funções de controle motor e sensoriais mas também diversas outras (atentivas, executivas, associativas) de extrema importância da vida cotidiana que podem estar relacionadas entre si para uma boa

eficiência comunicativa e desempenho cognitivo do indivíduo idoso (CABEZA, 2002; SEIDLER et al., 2010).

Tomando como referência a análise de grupo único e observando o comportamento de todas as medidas regionais obtidas (CBF, FC, grau, coeficiente de clusterização, eficiência local e força) apenas o polo frontal direito, giro frontal direito, córtex orbital frontal direito e giro temporal direito apresentaram uma redução significativa em todo espectro funcional abordado. No entanto, diversas outras regiões apresentaram redução significativa de apenas uma ou mais medidas de integração funcional, como por exemplo o córtex motor suplementar e o giro pré-central, porém não apresentaram o mesmo comportamento em termos do CBF basal. Portanto, pode-se levantar a hipótese de que, o não comprometimento geral da funcionalidade regional não implica necessária plenitude da saúde tecidual (ZELMANN et al., 2013). Da mesma forma, a não observação de aumentos significativos também não implica inexistência de outros sistemas compensatórios fisiológicos, não relacionados diretamente ao processo da perfusão sanguínea, mas que anteriormente já foram sugeridos e debatidos no envelhecimento cerebral (BISHOP; LU; A YANKNER, 2010; LÓPEZ-GÓNGORA et al., 2015; VOROBYOV; BOBKOVA, 2015).

Outra abordagem de interpretação dos resultados funcionais é a sua possível relação com as teorias neurocognitivas discutidas no processo de envelhecimento. De forma geral, nossos resultados demonstram um amplo prejuízo funcional de regiões presentes principalmente no lobo frontal. Estes, por sua vez, podem apresentar relação direta com a *Frontal Aging Hypothesis* (CABEZA; DENNIS, 2012; GREENWOOD, 2000), acrescentando informações específicas do CBF na discussão de que esta região apresenta múltiplos prejuízos estruturais e neurofisiológicos associados ao processo de envelhecimento cerebral. Além disso, regiões situadas no lobo occipital aparentam ser menos prejudicadas em seu aspecto funcional em relação aos demais lobos cerebrais, o que acaba indo de encontro ao discutido na teoria *posterior-anterior shift with aging* (DAVIS et al., 2008), sendo que regiões presentes na divisão cerebral posterior aparentam menor incidência e atenuação em relação as alterações neurofisiológicas quando comparadas aos demais lobos, principalmente o frontal e temporal.

É importante ressaltar que apesar das séries temporais serem embasadas nas flutuações espontâneas em relação ao sinal de base do CBF, uma região com alteração de CBF basal não necessariamente apresentou alteração de suas medidas funcionais, e vice-versa, mesmo quando utilizada a mesma análise estatística. Ambas medidas são de

extrema importância para entedimento e complementariedade da funcionalidade cerebral, mas cada uma apresenta sua particularidade em seu significado e interpretação (CHEN; JANN; WANG, 2015).

Diversos grupos de pesquisa que trabalham com neuroimagem funcional sugerem cautela na interpretação dos resultados (MCKEOWN; HANSEN; SEJNOWSK, 2003). No caso das imagens ASL isso não é diferente. As propriedades de imagem já relatadas como baixa SNR, resolução espacial e intensidade e variabilidade de sinal, podem não só interferir na qualidade das imagens adquiridas mas também na futura análise e interpretação de resultados (GOLAY et al., 2007). Estudos recentes citam o desenvolvimento e utilização de alternativas para implementação de novas sequências na aquisição das imagens ASL. Uma delas é a chamada pCASL 3D GRASE (um híbrido de eco de gradiente e de spin) com supressão de sinal de fundo (JAHNG et al., 2014). Essa sequência apresenta SNR temporal aproximadamente três vezes maior do que a sequência 2D EPI pCASL, usada no presente estudo, fornecendo mapas de CBF de boa qualidade para cada par de imagens controle e marcação (FEINBERG; GÜNTHER, 2009).

Fatores que também podem influenciar as características espaciais e temporais do sinal ASL são as condições de aquisição (ALSOP et al., 2015). Apesar do presente estudo ter padronizado alguns parâmetros da sequência, como TR e TE, outros como PLD e LT apresentam influência direta no processo de diferenciação, em termos da magnetização, dos spins do sangue arterial que fluem a região de interesse em relação ao tecido que recebe este suporte sanguíneo. Um bom exemplo são os indivíduos idosos, estes apresentam maior chance de comprometimento do sistema cardiovascular, logo fatores como pressão sistêmica, vasodilatação e velocidade de fluxo sanguíneo podem estar comprometidos (FERRARI; RADAELLI; CENTOLA, 2003). Logo, o tempo de chegada, dos spins marcados no sangue arterial é alterado e utilizando o mesmo PLD para toda a amostra de estudo, podem ocorrer incertezas no cálculo de CBF e na avaliação perfusional. Uma sugestão para minimização desse efeito seria uma adequação dos parâmetros PLD e LT para a situação hemodinâmica de cada grupo sujeito, de diferentes faixas etárias, como proposto por Alsop e colaboradores (ALSOP et al., 2015). Essa adequação, principalmente do PLD, poderia ser feita também para cada sujeito separadamente, avaliando a priori o tempo necessário para chegada do sangue marcado à região de interesse, através de sequências com múltiplos tempos de

inversão; porém, isso aumentaria o tempo de exame e exigiria um processamento rápido da imagem durante o exame.

Outros pontos a serem discutidos são relacionados às etapas de processamento. Como mencionado anteriormente, as imagens ASL apresentam uma baixa SNR e alta variabilidade de sinal. Uma etapa para possível melhora desses efeitos é o processo de filtragem, tanto no seu domínio espacial como temporal. No presente estudo utilizou-se um filtro de suavização espacial de caráter Gaussiano de largura a meia altura de 4 mm, comum em outros estudos que utilizam as imagens ASL no envelhecimento cerebral (XU et al., 2010). Entretanto, dependendo das características gerais do mesmo, a distribuição de valores nos voxels da imagem pode ser muito distorcida e influenciar na SNR e por consequência no cálculo de CBF e em futuras análises (WANG et al., 2005). A escolha de uma largura à meia altura pequena em relação ao tamanho do voxel foi justamente para tentar minimizar os efeitos negativos do filtro, mas ainda assim melhorar a qualidade dos dados.

Em relação à filtragem temporal, para as análises de CBF basal optou-se pela potencial filtragem exercida pela subtração *Sinc* (LU; DONAHUE; VAN ZIJL, 2006) e para as análises funcionais optou-se pela filtragem exercida pelo toolbox CONN, passa-baixa de 0.07 Hz, nas séries temporais de CBF (MENGUAL et al., 2015). Este procedimento é de vital importância nas análises funcionais visto que, muitas flutuações apresentam contribuição de fenômenos inerentes ao funcionamento do organismo como sinais cardíacos, respiratórios e movimentação da cabeça (RAZAVI et al., 2008). Algumas dessas, como por exemplo processos cardiorespiratórios e movimento da cabeça, por estarem em uma banda de frequência comum a resposta hemodinâmica devido à atividade neuronal, podem influenciar na evolução temporal do sinal CBF e gerar disparidades relacionadas à sua flutuação em relação à linha de base (WU et al., 2009), comprometendo a aferição de valores de correlação e na determinação, por exemplo, de parâmetros de rede.

Independentemente do método de análise escolhido, para obter resultados confiáveis, é necessário eliminar, ou pelo menos, minimizar fontes de ruído. Dessa maneira, utilizaram-se os sinais extraídos da substância branca e dos ventrículos, como regressores na análise dos dados. Estudos recentes mostram que utilizar os sinais da substância branca e dos ventrículos como covariáveis não desejáveis em um modelo de regressão controla os efeitos de ruído fisiológico, uma vez demonstrado que flutuações

de frequências altas são mais comuns na substância branca e ventrículos, não apresentando relação direta à atividade neural (MENGUAL et al., 2015).

Outra etapa de vital importância é a escolha do atlas de parcelamento anatômico a ser utilizado no processamento. Esta escolha deve ser discutida e fundamentada, não somente no objetivo do trabalho mas também nas propriedades espaciais das imagens a serem analisadas. Logo, por mais que o parcelamento apresente nível de detalhamento satisfatório para o objetivo do estudo, é necessário respeitar a SNR e a resolução espacial das mapas de CBF. Regiões delimitadas espacialmente de maneira muito rigorosa acabam exigindo boa diferenciação dos valores à nível do voxel adquirido, o que pode acabar gerando imprecisões na extração dos valores de CBF e por consequência influenciar nos resultados finais (CALHOUN et al., 2017).

Um fator usualmente discutido em análises de grupo é relacionado ao efeito da normalização espacial nas imagens a serem analisadas. Independente do momento em que esta etapa é aplicada, considerar que a região de análise não é alterada anatomicamente, principalmente no caso do envelhecimento cerebral, é uma atitude muito discutível. Uma possível alternativa para análises é a implementação de parcelamentos anatômicos individuais, assim como desempenhado no software Freesurfer (DESTRIEUX et al., 2010). Este procedimento pode servir como ferramenta para extração dos valores de fluxo no espaço do sujeito, evitando possíveis alterações ocasionadas no processo de normalização espacial (AUZIAS; COULON; BROVELLI, 2016).

Aspectos morfológicos referentes ao processo de atrofia cerebral como alargamento ventricular, redução volumétrica e alterações nos feixes de substância branca foram relatados como possíveis fatores que podem influenciar no cálculo de CBF. Estes, por sua vez, são chamados de efeitos de volume parcial e são uma consequência da resolução espacial limitada em imagens cerebrais (ASLLANI et al., 2009). Nas imagens ASL, o problema é exacerbado pela dependência não-linear de seu sinal sobre as contribuições de magnetização de diferentes tecidos (SC, SB e CSF) dentro de cada voxel (YUJIE QIU et al., 2014). Atualmente, existem rotinas de processamento capazes de reduzir significativamente esses efeitos e contribuir para a especificidade do sinal CBF (ASLLANI; BOROGOVAC; BROWN, 2008), algo a ser considerado em estudos futuros.

Além de todos os aspectos discutidos, informações sobre o amplo aspecto biopsicossocial (testes cognitivos, grau e anos de escolaridade, informações sobre o

sistema cardiovascular, tabagismo, uso de medicamentos, ingestão de álcool) pode não só auxiliar na homogeneidade da amostra a ser analisada, como também abre a possibilidade de diversas análises estatísticas com o uso de cofatores e covariantes.

Por fim, este estudo reforça a aplicabilidade do uso das imagens ASL e do estudo do sinal CBF para análises de integração funcional juntamente com a avaliação perfusional no estudo do envelhecimento cerebral, apresentando assim otimização na aquisição devido a redução do tempo total de exame e praticidade na análise de um sinal de boa especificidade espacial em termos da atividade neuronal, obtido de maneira totalmente não invasiva.

6. CONCLUSÕES

No presente estudo realizamos uma avaliação de como o processo de envelhecimento cerebral atua no sistema hemodinâmico através de imagens ASL. Utilizando a metodologia de aquisição e processamento das imagens pCASL 2D, foi possível quantificar e obter mapas de CBF, além de medidas que caracterizam a conectividade funcional cerebral no estado de repouso, em indivíduos saudáveis de diferentes faixas etárias. De maneira relacionada aos objetivos específicos conclui-se:

- Houve redução do CBF basal com o processo de envelhecimento, em sua maioria nos lobos frontal e temporal mas também em regiões dos lobos parietal e occipital, em ambas abordagens de análise de grupo propostas.
- Diferentes parâmetros de integração funcional foram obtidos e quantificados através das séries temporais de CBF e reportaram reduções em regiões presentes principalmente no lobo frontal, parietal e temporal do córtex cerebral conforme o processo de envelhecimento, em ambas abordagens de análise de grupo propostas.
- Ao comparar os resultados de CBF regional com as medidas de integração funcional pode-se observar que, apesar de algumas regiões dos lobos frontal e temporal, em específico do hemisfério cerebral direito, apresentarem redução perfusional e funcional, nem toda região demonstrou a mesma característica com o processo de envelhecimento, em ambas abordagens de análise de grupo.

Por fim, apesar das limitações anteriormente descritas, foi possível realizar uma análise funcional robusta e inédita baseada no sinal CBF. Este, além de apresentar bom nível de especificidade espacial em termos da atividade neuronal, apresenta a possibilidade de servir como biomarcador da saúde do tecido cerebral no processo de envelhecimento e em outras neuropatologias.

7. REFERÊNCIAS

- ABOIM, S. Narrativas do envelhecimento: ser velho na sociedade contemporânea. **Tempo Social**, v. 26, n. 1, p. 207–232, 2014.
- AGUIRRE, G. K. et al. Experimental Design and the Relative Sensitivity of BOLD and Perfusion fMRI. **NeuroImage**, v. 15, n. 3, p. 488–500, 2002.
- AGUIRRE, G. K.; DETRE, J. A.; WANG, J. Perfusion fMRI for functional neuroimaging. **International Review of Neurobiology**, v.66, p. 213-236, 2005.
- ALLEN, J. S. et al. Normal neuroanatomical variation due to age: The major lobes and a parcellation of the temporal region. **Neurobiology of Aging**, v. 26, n. 9, p. 1245–1260, 2005.
- ALSOP, D. C. et al. Recommended implementation of arterial spin-labeled Perfusion mri for clinical applications: A consensus of the ISMRM Perfusion Study group and the European consortium for ASL in dementia. **Magnetic Resonance in Medicine**, v. 73, n. 1, p. 102–116, 2015.
- ANCES, B. M. et al. Effects of Aging on Cerebral Blood Flow , Oxygen Metabolism , and Blood Oxygenation Level Dependent Responses to Visual Stimulation. **Human Brain Mapping**, v. 30, p. 1120–1132, 2009.
- ANDREWS-HANNA, J. R. et al. Disruption of Large-Scale Brain Systems in Advanced Aging. **Neuron**, v. 56, n. 5, p. 924–935, 2007.
- ASLLANI, I. et al. Separating Function From Structure in Perfusion Imaging of the Aging Brain. **Human Brain Mapping**, v. 30, n. 9, p. 2927-2935, 2009.
- ASLLANI, I.; BOROGOVAC, A.; BROWN, T. R. Regression algorithm correcting for partial volume effects in arterial spin labeling MRI. **Magnetic Resonance in Medicine**, v. 60, n. 6, p. 1362–1371, 2008.
- ATTWELL, D. et al. Glial and neuronal control of brain blood flow. **Nature**, v. 468, n. 7321, p. 232–243, 2010.
- AUZIAS, G.; COULON, O.; BROVELLI, A. MarsAtlas: A cortical parcellation atlas for functional mapping. **Human Brain Mapping**, v. 37, n. 4, p. 1573–1592, 2016.
- BACKMAN, L. et al. Linking cognitive aging to alterations in dopamine

neurotransmitter functioning: Recent data and future avenues. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 34, n. 5, p. 670–677, 2010.

BALLABH, P.; BRAUN, A.; NEDERGAARD, M. The blood-brain barrier: An overview: Structure, regulation, and clinical implications. **Neurobiology of Disease**, v. 16, n. 1, p. 1–13, 2004.

BANGEN, K. J. et al. Differential age effects on cerebral blood flow and BOLD response to encoding : Associations with cognition and stroke risk. **Neurobiology of Aging**, v. 30, p. 1276–1287, 2009.

BEAL, M. F. Oxidative metabolism. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 924, p. 164–169, 2000.

BEHZADI, Y. et al. A component based noise correction method (CompCor) for BOLD and perfusion based fMRI. **NeuroImage**, v. 37, n. 1, p. 90–101, 2007.

BENNETT, M. V. L.; ZUKIN, R. S. Electrical Coupling and Neuronal Synchronization in the Mammalian Brain. **Neuron**, v. 41, n. 4, p. 495–511, 2004.

BIAGI, L. et al. Age dependence of cerebral perfusion assessed by magnetic resonance continuous arterial spin labeling. **Journal of Magnetic Resonance Imaging**, v. 25, n. 4, p. 696–702, 2007.

BISHOP, N.; LU, T.; A YANKNER, B. Neural mechanisms of ageing and cognitive decline. **Nature**, v. 464, p. 529-535, 2010.

BISWAL, B. et al. Functional Connectivity in the Motor Cortex of Resting Human Brain Using Echo-Planar MRI. **Magnetic Resonance in Medicine**, v. 34, n. 9, p. 537–541, 1995.

BISWAL, B. B.; KYLEN, J. VAN; HYDE, J. S. Simultaneous Assessment of Flow and BOLD Signals in Resting-State Functional Connectivity Maps. **NMR in biomedicine**, v. 10, p. 165–170, 1997.

BOAS, D. A.; CAMPBELL, L. E.; YODH, A. G. Scattering and imaging with diffuse temporal field correlation. **Physical Review Letters.**, v. 75, n. 9, p. 1855–1858, 1995.

BOR-SENG-SHU, E. et al. Cerebral hemodynamics: concepts of clinical importance. **Arquivos de neuro-psiquiatria**, v. 70, n. 5, p. 352–356, 2012.

BOROGOVAC, A.; ASLLANI, I. Arterial spin labeling (ASL) fMRI: Advantages,

theoretical constraints and experimental challenges in neurosciences. **International Journal of Biomedical Imaging**, v. 2012, p. 1-13, 2012.

BRODMANN, K.; GAREY, L. J. Brodmann's localisation in the cerebral cortex: The principles of comparative localisation in the cerebral cortex based on cytoarchitectonics. 1999.

BURKE, S. N.; BARNES, C. A. Neural plasticity in the ageing brain. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 7, n. 1, p. 30–40, 2006.

BUXTON, R. B. Dynamic models of BOLD contrast. **NeuroImage**, v. 62, n. 2, p. 953–961, 2012.

CABEZA, R. Hemispheric asymmetry reduction in older adults: The HAROLD model. **Psychology and Aging**, v. 17, n. 1, p. 85–100, 2002.

CABEZA, R.; DENNIS, N. A. Frontal lobes and aging. **Principles of Frontal Lobe Function**, v. 37, n. 2, p. 628–652, 2012.

CALHOUN, V. D. et al. The Impact of T1 Versus EPI Spatial Normalization Templates for fMRI Data Analyses. **Human Brain Mapping**, v. 38, n. 11, p. 5331–5342, 2017.

CATAFAU, A. M. Brain SPECT in clinical practice. Part I: perfusion. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 42, n. 2, p. 259–71, 2001.

CHA, S. Perfusion MR imaging: Basic principles and clinical applications. **Magnetic Resonance Imaging Clinics of North America**, v. 11, n. 3, p. 403–413, 2003.

CHEN, J. J.; JANN, K.; WANG, D. J. J. Characterizing Resting-State Brain Function Using Arterial Spin Labeling. **Brain Connectivity**, v. 5, n. 9, p. 527–542, 2015.

CHEN, J. J.; ROSAS, H. D.; SALAT, D. H. Age-associated reductions in cerebral blood flow are independent from regional atrophy. **NeuroImage**, v. 55, n. 2, p. 468–478, 2011.

CHEN, P. et al. Heterogeneous Aging Effects on Functional Connectivity in Different Cortical Regions: A Resting-State Functional MRI Study Using Functional Data Analysis. **PLoS ONE**, p. 1–21, 2016.

CHIKUI, T. et al. The Principal of Dynamic Contrast Enhanced MRI, the Method of Pharmacokinetic Analysis and Its Application in the Head and Neck Region. **International Journal of Dentistry**, v. 2012, p. 1–10, 2012.

- CHUNG, H. Y. et al. Molecular inflammation: Underpinnings of aging and age-related diseases. **Ageing Research Reviews**, v. 8, n. 1, p. 18–30, 2009.
- CIANFONI, A. et al. La TC-perfusione dell'encefalo: Principi, tecnica, applicazioni cliniche. **Radiologia Medica**, v. 112, n. 8, p. 1225–1243, 2007.
- CIDIS MELTZER, C.; FRANCIS, P. T. Brain aging research at the close of the 20th century: from bench to bedside. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 3, n. 3, p. 167–180, 2001.
- CONNOR, J. P. B. O. et al. Dynamic contrast-enhanced imaging techniques : CT and MRI. **The British Journal of Radiology**, v. 84, p. S112–S120, 2011.
- DAI, W. et al. Continuous flow driven inversion for arterial spin labelling using pulsed radiofrequency and gradient fields. **Magnetic Resonance in Medicine**, v. 60, n. 6, p. 1488–1497, 2008.
- DARRELL A. WORTHY, MARISSA A. GORLICK, JENNIFER L. PACHECO, DAVID M. SCHNYER, AND W. T. M. With Age Comes Wisdom: Decision-Making in Younger and Older Adults. **Psychological Science**, v. 22, n. 11, p. 1375–1380, 2011.
- DAVIS, S. W. et al. Qué PASA? the posterior-anterior shift in aging. **Cerebral Cortex**, v. 18, n. 5, p. 1201–1209, 2008.
- DE BRUÏNE, F. T. et al. Tractography of developing white matter of the internal capsule and corpus callosum in very preterm infants. **European Radiology**, v. 21, n. 3, p. 538–547, 2011.
- DE VICO FALLANI, F. et al. Graph analysis of functional brain networks: practical issues in translational neuroscience. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences**, v. 369, n. 1653, p. 1-17, 2014.
- DENNIS, E. L.; THOMPSON, P. M. Functional brain connectivity using fMRI in aging and Alzheimer's disease. **Neuropsychology Review**, v. 24, n. 1, p. 49–62, 2014.
- DESTRIEUX, C. et al. Automatic parcellation of human cortical gyri and sulci using standard anatomical nomenclature. **NeuroImage**, v. 53, n. 1, p. 1–15, 2010.
- DETRE, J. A. et al. Perfusion imaging. **Magnetic Resonance in Medicine**, v. 23, n. 1, p. 37–45, 1992.
- DETRE, J. A.; WANG, J. Technical aspects and utility of fMRI using BOLD and ASL.

Clinical Neurophysiology, v. 113, n. 5, p. 621–634, 2002.

DRIESSEN, R. S. et al. Myocardial perfusion imaging with PET. **The International Journal of Cardiovascular Imaging**, v. 33, n. 7, p. 1021–1031, 2017.

DUSHANOVA, J.; CHRISTOV, M. The effect of aging on EEG brain oscillations related to sensory and sensorimotor functions. **Advances in Medical Sciences**, v. 59, n. 1, p. 61–67, 2014.

ESSIG, M. et al. Perfusion MRI: The five most frequently asked technical questions. **American Journal of Roentgenology**, v. 200, n. 1, p. 24–34, 2013.

FEINBERG, D. A.; GÜNTHER, M. Cerebral Blood Flow Imaging with 3D GRASE ASL Sequence Increases SNR and Shortens Acquisition Time. **MAGNETOM Flash**, v. 3, n. 3, p. 62–69, 2009.

FERRE, J. C. et al. Arterial spin labeling (ASL) perfusion: Techniques and clinical use. **Diagnostic and Interventional Imaging**, v. 94, n. 12, p. 1211–1223, 2013.

FERRARI, A. U.; RADAELLI, A.; CENTOLA, M. Invited Review: Aging and the cardiovascular system. **Journal of Applied Physiology**, v. 95, n. 6, p. 2591–2597, 2003.

FERREIRA, L. K.; BUSATTO, G. F. Resting-state functional connectivity in normal brain aging. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 37, n. 3, p. 384–400, 2013.

FERREIRA, O. G. L. et al. Significados atribuídos ao envelhecimento: idoso, velho e idoso ativo. **Psico-USF**, v. 15, n. 3, p. 357–364, 2010.

FRIES, A. T.; PEREIRA, D. C. Teorias do envelhecimento humano. **Revista Contexto & Saúde**, v. 11, n. 20, p. 507–514, 2013.

FRISTON, K.; FRITH, C. Functional connectivity: the principal-component analysis of large (PET) data sets. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 13, p. 5–14, 1993.

FRITH, C. D.; DOLAN, R. The role of the prefrontal cortex in higher cognitive functions. **Brain research. Cognitive brain research**, v. 5, n. 1–2, p. 175–181, 1996.

FUNG, Y. C.; ZWEIFACH, B. W. Microcirculation: Mechanics of blood flow in capillaries. **Journal of Fluid Mechanics**, v. 3, p. 189–210, 1971.

GABRIEL, PEDRO; CONBOY, J. Atenção e memória visual na população idosa: Uma

associação entre as habilidades literárias sob condições de interferência. **Cuadernos de Neuropsicología**, v. 4, n. 2, p. 186–201, 2010.

GALVÃO, O. et al. Active Aging and Its Relationship To Functional. **Text Context Nursing**, v. 21, n. 3, p. 513–518, 2008.

GEERLIGS, L. et al. A Brain-Wide Study of Age-Related Changes in Functional Connectivity. **Cerebral Cortex**, v. 25, n. 7, p. 1987–1999, 2015.

GIROUARD, H. et al. Neurovascular coupling in the normal brain and in hypertension , stroke , and Alzheimer disease Regulation of the Cerebral Circulation Neurovascular coupling in the normal brain and in hypertension, stroke and Alzheimer disease. **Journal of Applied Physiology**, v. 100, n.21, p. 328–335, 2014.

GLYMOUR, M. M. et al. Brain MRI markers and dropout in a longitudinal study of cognitive aging: The Three-City Dijon Study. **Neurology**, v. 79, n. 13, p. 1340–1348, 2012.

GOLAY, X. et al. Arterial Spin Labeling: a one-stop-shop for measurement of brain perfusion in the clinical settings. **Engineering in Medicine and Biology Society. Annual International Conference of the IEEE**, v. 29, p. 4320–4323, 2007.

GOLDMAN, L. W. Principles of CT and CT Technology. **Journal of Nuclear Medicine Technology**, v. 35, n. 3, p. 115–128, 2007.

GORDON, Y. et al. Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging : fundamentals and application to the evaluation of the peripheral perfusion. **Cardiovascular Diagnosis and Therapy**, v. 4, n. 2, p. 147–164, 2014.

GRADE, M. et al. A neuroradiologist’s guide to arterial spin labeling MRI in clinical practice. **Neuroradiology**, v. 57, n. 12, p. 1181–1202, 2015.

GREENWOOD, P. M. The frontal aging hypothesis evaluated. **Journal of the International Neuropsychological Society**, v. 6, n. 6, p. 705-726, 2000.

GRIEVE, S. M. et al. Cognitive aging, executive function, and fractional anisotropy: a diffusion tensor MR imaging study. **American Journal of Neuroradiology**, v. 28, n. 2, p. 226–235, 2007.

GUNNING-DIXON, F. M.; RAZ, N. The cognitive correlates of white matter abnormalities in normal aging: A quantitative review. **Neuropsychology**, v. 14, n. 2, p.

224–232, 2000.

HALLER, S. et al. Arterial Spin Labeling Perfusion of the Brain: Emerging Clinical Applications. **Radiology**, v. 281, n. 2, p. 337–356, 2016.

HARADA, C. N.; NATELSON LOVE, M. C.; TRIEBEL, K. L. Normal cognitive aging. **Clinics in Geriatric Medicine**, v. 29, n. 4, p. 737–752, 2013.

HAYS, C. C. et al. Subjective Cognitive Decline Modifies the Relationship Between Cerebral Blood Flow and Memory Function in Cognitively Normal Older Adults. **Journal of the International Neuropsychological Society**, v. 24, p. 213–223, 2017.

HAYS, C. C.; ZLATAR, Z. Z.; WIERENGA, C. E. The Utility of Cerebral Blood Flow as a Biomarker of Preclinical Alzheimer's Disease. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 36, n. 2, p. 167–179, 2016.

HE, H. et al. The functional integration in the sensory-motor system predicts aging in healthy older adults. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 8, n. 1, p. 1–12, 2017.

HERSCOVICH, P. et al. Positron emission tomographic measurements of cerebral blood flow and permeability. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 7, p. 527–542, 1987.

HOGGE, R. D. et al. Linear coupling between cerebral blood flow and oxygen consumption in activated human cortex. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, p. 9403–9408, 1999.

HOGGE, R. D.; PIKE, G. B. Oxidative metabolism and the detection of neuronal activation via imaging. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 22, n. 1–2, p. 43–52, 2001.

HORMUZDI, S. G. et al. Electrical synapses: A dynamic signaling system that shapes the activity of neuronal networks. **Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes**, v. 1662, n. 1–2, p. 113–137, 2004.

JAGUSZEWSKI, M.; KLINGENBERG, R.; LANDMESSER, U. Intracoronary Near-Infrared Spectroscopy (NIRS) Imaging for Detection of Lipid Content of Coronary Plaques: Current Experience and Future Perspectives. **Current Cardiovascular Imaging Reports**, v. 6, n. 5, p. 426–430, 2013.

JAHNG, G. H. et al. Perfusion magnetic resonance imaging: A comprehensive update

on principles and techniques. **Korean Journal of Radiology**, v. 15, n. 5, p. 554–577, 2014.

JARRETT, C. The restless brain. **Psychologist**, v. 22, n. 10, p. 836–839, 2009.

JOHNSTON, A. J. et al. Cerebral oxygen vasoreactivity and cerebral tissue oxygen reactivity. **British Journal of Anaesthesia**, v. 90, n. 6, p. 774–786, 2003.

KAASINEN, V. et al. Age-related dopamine D2/D3 receptor loss in extrastriatal regions of the human brain. **Neurobiology of Aging**, v. 21, n. 5, p. 683–688, 2000.

KANDEL, E. R. et al. The Organization of the Central Nervous System. In: **Principles of Neural Science**, v. 5, New York, NY: McGraw-Hill Education, 2012.

KIM, S. H.; KAMAYA, A.; WILLMANN, J. K. CT Perfusion of the Liver: Principles and Applications in Oncology. **Radiology**, v. 272, n. 2, p. 322–344, 2014.

KONSTAS, A. A.; WINTERMARK, M.; LEV, M. H. CT Perfusion Imaging in Acute Stroke. **Neuroimaging Clinics of North America**, v. 21, n. 2, p. 215–238, 2011.

KURTH, F. et al. Brain Gray Matter Changes Associated with Mindfulness Meditation in Older Adults: An Exploratory Pilot Study using Voxel-based Morphometry. **Neuro**, v. 1, n. 1, p. 23–26, 2014.

LEE, C. et al. Imaging Cerebral Blood Flow in the Cognitively Normal Aging Brain with Arterial Spin Labeling: Implications for Imaging of Neurodegenerative Disease. **Journal of Neuroimaging**, v. 19, n. 4, p. 344–352, 2009.

LEE, M. H.; SMYSER, C. D.; SHIMONY, J. S. Resting-State fMRI: A Review of Methods and Clinical Applications. **American Journal of Neuroradiology**, v. 34, n. 10, p. 1866–1872, 2013.

LEONI, R. F. et al. Cerebral blood flow and vasoreactivity in aging: an arterial spin labeling study. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 50, n. 4, p. 1–9, 2017.

LI, Y. et al. Abnormal Resting-State Functional Connectivity Strength in Mild Cognitive Impairment and Its Conversion to Alzheimer's Disease. **Hindawi Neural Plasticity**, v. 2016, n. 1, p. 1–12, 2016.

LIANG, X.; CONNELLY, A.; CALAMANTE, F. Graph analysis of resting-state ASL perfusion MRI data: Nonlinear correlations among CBF and network metrics.

NeuroImage, v. 87, p. 265–275, 2014.

LIU, F.; ZHUO, C.; YU, C. Altered cerebral blood flow covariance network in schizophrenia. **Frontiers in Neuroscience**, v. 10, p. 1–9, 2016.

LIU, T. T.; WONG, E. C. A signal processing model for arterial spin labeling functional MRI. **NeuroImage**, v. 24, n. 1, p. 207–215, 2005.

LIU, Y. et al. Arterial spin labeling MRI study of age and gender effects on brain perfusion hemodynamics. **Magnetic Resonance in Medicine**, v. 68, n. 3, p. 912–922, 2012.

LIVIERATOS, L. Basic principles of SPECT and PET imaging. **Radionuclide and Hybrid Bone Imaging**, p. 345–359, 2012.

LÓPEZ-GÓNGORA, M. et al. Neurophysiological evidence of compensatory brain mechanisms in early-stage multiple sclerosis. **PLoS ONE**, v. 10, n. 8, p. 1–15, 2015.

LOWE, M. J. A historical perspective on the evolution of resting-state functional connectivity with MRI. **Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine**, v. 23, n. 5–6, p. 279–288, 2010.

LU, H.; DONAHUE, M. J.; VAN ZIJL, P. C. M. Detrimental effects of BOLD signal in arterial spin labeling fMRI at high field strength. **Magnetic Resonance in Medicine**, v. 56, n. 3, p. 546–552, 2006.

M. CAGGIANO, D.; JIANG, Y.; PARASURAMAN, R. Aging and repetition priming for targets and distracters in a working memory task. **Aging, Neuropsychology, and Cognition**, v. 13, n. 3–4, p. 552–573, 2006.

MARNER, L. et al. Marked loss of myelinated nerve fibers in the human brain with age. **Journal of Comparative Neurology**, v. 462, n. 2, p. 144–152, 2003.

MATTSON, M. P.; MAGNUS, T. Ageing and neuronal vulnerability. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 7, n. 4, p. 278–294, 2006.

MATTSON, M. R. Calcium and neurodegeneration. **Aging Cell**, v. 6, n. 3, p. 337–350, 2007.

MCKEOWN, M. J.; HANSEN, L. K.; SEJNOWSK, T. J. Independent component analysis of functional MRI: What is signal and what is noise? **Current Opinion in Neurobiology**, v. 13, n. 5, p. 620–629, 2003.

MENGUAL, E. et al. Resting State Functional Connectivity of the Subthalamic Nucleus in Parkinson's Disease Assessed Using Arterial Spin-Labeled Perfusion fMRI. **Human Brain Mapping**, v. 36, p. 1937–1950, 2015.

MEUNIER, D.; STAMATAKIS, E. A.; TYLER, L. K. Age-related functional reorganization, structural changes, and preserved cognition. **Neurobiology of Aging**, v. 35, n. 1, p. 42–54, 2014.

MIAO, P. et al. Altered Gray Matter Volume, Cerebral Blood Flow and Functional Connectivity in Chronic Stroke Patients. **Neuroscience Letters**, v. 662, p. 331–338, 2017.

MOSCONI, L. Glucose metabolism in normal aging and Alzheimer's disease: methodological and physiological considerations for PET studies. **Clinical Translational Imaging**, v. 1, n. 4, p. 997–1003, 2013.

MURRANT, C. L.; LAMB, I. R.; NOVIELLI, N. M. Capillary endothelial cells as coordinators of skeletal muscle blood flow during active hyperemia. **Microcirculation**, v. 24, n. 1, p. 1–10, 2017.

N. HASSANI, R. KHOMEINI, R. B. Principles of Computerized Axial Tomography. **Radiology**, v. 119, n. 2, p. 336–336, 1976.

NELSON, A. R. et al. Neurovascular dysfunction and neurodegeneration in dementia and Alzheimer's disease. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, v. 1862, n. 5, p. 887–900, 2016.

OGEDEGBE, G.; PICKERING, T. Principles and Techniques of Blood Pressure Measurement. **Cardiology clinics**, v. 28, p. 296–313, 2015.

PARK, D. C.; YEO, S. G. Aging. **Korean Journal of Audiology**, v. 17, n. 2, p. 39–44, 2013.

PAUL, A. K.; NABI, H. Gated myocardial perfusion SPECT: basic principles, technical aspects, and clinical applications. **Journal of nuclear medicine technology**, v. 32, n. 4, p. 179–87–9, 2004.

PAÚL, C. Envelhecimento activo e redes de suporte social. **Sociologia**, v. 15, p. 275–287, 2005.

PAULSON, O. B. et al. Cerebral blood flow response to functional activation. **Journal**

- of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 30, n. 1, p. 2–14, 2010.
- PENNEQUIN, V. et al. Categorization Deficit in Old Age: Reality or Artefact?. **Journal of Adult Development**, v. 13, n.1, p. 1–9, 2007.
- PEREDA, A. E. et al. Gap junction-mediated electrical transmission: Regulatory mechanisms and plasticity. **Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes**, v. 1828, n. 1, p. 134–146, 2013.
- PEREDA, A. E. Electrical synapses and their functional interactions with chemical synapses. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 15, n. 4, p. 250–263, 2014.
- PETCHARUNPAISAN, S. et al. Arterial spin labeling in neuroimaging. **World Journal of Radiology**, v. 2, n. 10, p. 384, 2010.
- PITTMAN, R. Regulation of Tissue Oxygenation. **Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function**, v.1, p. 1-100, 2011.
- PREUSCHOFF, K. Physiological of functional magnetic resonance imaging: energetics and function. **Methods in Molecular Medicine**, v.124, p. 175–195, 2006.
- PURDON, P. L. et al. The Ageing Brain: Age-dependent changes in the electroencephalogram during propofol and sevoflurane general anaesthesia. **British Journal of Anaesthesia**, v. 115, p. 46–57, 2015.
- QIU, A. et al. Manifold learning on brain functional networks in aging. **Medical Image Analysis**, v. 20, n. 1, p. 52–60, 2015.
- R., W. An application of prefrontal cortex function theory to cognitive aging. **Psychological Bulletin**, v. 120, n. 2, p. 272–292, 1996.
- RAZ, N.; RODRIGUE, K. M. Differential aging of the brain: Patterns, cognitive correlates and modifiers. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 30, n. 6, p. 730–748, 2006.
- RAZ, N.; RODRIGUE, K. M.; HAACKE, E. M. Brain aging and its modifiers: Insights from in vivo neuromorphometry and susceptibility weighted imaging. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1097, n.1, p. 84–93, 2007.
- RAZAVI, M. et al. Source of low-frequency fluctuations in functional MRI signal. **Journal of Magnetic Resonance Imaging**, v. 27, n. 4, p. 891–897, 2008.
- RESTOM, K. et al. Cerebral blood flow and BOLD responses to a memory encoding

task: A comparison between healthy young and elderly adults. **NeuroImage**, v. 37, n. 2, p. 430–439, 2007.

RIBEIRO, L. et al. Analysis of the relationship between EEG signal and aging through Linear Discriminant Analysis (LDA). **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 28, p. 155–168, 2012.

ROMMEL ALMEIDA FECHINE, B. O Processo De Envelhecimento: As Principais Alterações Que Acontecem Com O Idoso Com O Passar Dos Anos. **Inter Science Place**, v. 1, n. 20, p. 106–132, 2012.

ROSSINI, P. M. et al. Clinical neurophysiology of aging brain: From normal aging to neurodegeneration. **Progress in Neurobiology**, v. 83, n. 6, p. 375–400, 2007.

RUBINOV, M.; SPORNS, O. Complex network measures of brain connectivity: Uses and interpretations. **NeuroImage**, v. 52, n. 3, p. 1059–1069, 2010.

SADEGHI, M. et al. Screening of autism based on task-free fMRI using graph theoretical approach. **Psychiatry Research - Neuroimaging**, v. 263, p. 48–56, 2017.

SALA-LLONCH, R.; BARTRÉS-FAZ, D.; JUNQUÉ, C. Reorganization of brain networks in aging: a review of functional connectivity studies. **Frontiers in Psychology**, v. 6, p. 1-11, 2015.

SALAT, D. et al. Age-associated alterations in cortical gray and white matter signal intensity and gray to white matter contrast. **NeuroImage**, v. 48, n. 1, p. 21–28, 2009.

SALTHOUSE, T. A. The Processing-Speed Theory of Adult Age Differences in Cognition. **Psychological Review**, v. 103, n. 3, p. 403–428, 1996.

SCHAAN, M. D. A. et al. Hematological and nutritional parameters in apparently healthy elderly individuals. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, n. 2, p. 136–143, 2007.

SCHUFF, N. et al. Cerebral Blood Flow in Ischemic Vascular Dementia and Alzheimer's Disease By Arterial Spin Labeling MRI. **Alzheimer's and Dementia**, v. 5, n. 6, p. 454–462, 2009.

SEIDLER, R. D. et al. Motor control and Aging: Links to age-related brain structural, functional and biomechanical effects. **Neuroscience Biobehavioral Review**, v. 34, n. 5, p. 721–733, 2010.

- SERGIEV, P. V.; DONTSOVA, O. A.; BEREZKIN, G. V. Theories of aging: An ever-evolving field. **Acta Naturae**, v. 7, n. 1, p. 9–18, 2015.
- SERLIN, Y. et al. Anatomy and Physiology of the Blood-Brain Barrier. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 38, p. 2–6, 2015.
- SHIROISHI, M. S. et al. Principles of T2*-weighted dynamic susceptibility contrast MRI technique in brain tumor imaging. **Journal of Magnetic Resonance Imaging**, v. 41, n. 2, p. 296–313, 2015.
- SHULMAN, R. G. et al. Energetic basis of brain activity: Implications for neuroimaging. **Trends in Neurosciences**, v. 27, n. 8, p. 489–495, 2004.
- SONI, N. et al. Arterial spin labeling magnetic resonance perfusion study to evaluate the effects of age and gender on normal cerebral blood flow. **Neurology India**, v. 64, n. 7, p. 32-38, 2016.
- STADLER, K. L.; PEASE, A. P.; BALLEGEER, E. A. Dynamic Susceptibility Contrast Magnetic Resonance Imaging Protocol of the Normal Canine Brain. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 4, p. 2–7, 2017.
- STAM, C. J.; REIJNEVELD, J. C. Graph theoretical analysis of complex networks in the brain. **Nonlinear Biomedical Physics**, v. 1, n. 3, p. 1-19, 2007.
- TELISCHAK, N. A.; DETRE, J. A.; ZAHARCHUK, G. Arterial spin labeling MRI: Clinical applications in the brain. **Journal of Magnetic Resonance Imaging**, v. 41, n. 5, p. 1165–1180, 2015.
- THAMBISETTY, M. et al. Longitudinal changes in cortical thickness associated with normal aging. **NeuroImage**, v. 52, n. 4, p. 1215–1223, 2010.
- TOMASI, D.; WANG, G.; VOLKOW, N. Energetic cost of brain functional connectivity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n.33, p. 13642–13647, 2013.
- TROULINAKI, K.; TAVERNARAKIS, N. Neurodegenerative conditions associated with ageing: A molecular interplay? **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 126, n. 1, p. 23–33, 2005.
- USTUN, C. Dr. Thomas Willis' famous eponym: The circle of Willis. **Journal of the History of the Neurosciences**, v. 34, p. 271-274, 2004.

VAN BEEK, A. H. E. A. et al. Cerebral autoregulation: An overview of current concepts and methodology with special focus on the elderly. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 28, n. 6, p. 1071–1085, 2008.

VAN DEN HEUVEL, M. P.; HULSHOFF POL, H. E. Exploring the brain network: A review on resting-state fMRI functional connectivity. **European Neuropsychopharmacology**, v. 20, n. 8, p. 519–534, 2010.

VASILEVKO, V. et al. Aging and cerebrovascular dysfunction: Contribution of hypertension, cerebral amyloid angiopathy, and immunotherapy. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1207, n.1, p. 58–70, 2010.

VERFAILLIE, S. C. J. et al. Cerebral perfusion and glucose metabolism in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia: two sides of the same coin? **European Radiology**, v. 25, n. 10, p. 3050–3059, 2015.

VERHAEGHEN, P.; MARCOEN, A.; GOOSSENS, L. Improving memory performance in the aged through mnemonic training: A meta-analytic study. **Psychology and Aging**, v. 7, n. 2, p. 242–251, 1992.

VERMA, S. et al. Overview of Dynamic Contrast- Enhanced MRI in Prostate Cancer Diagnosis and Management. **American Journal of Neuroradiology**, v. 198, p. 1277–1288, 2012.

VOROBYOV, V.; BOBKOVA, N. The brain compensatory mechanisms and Alzheimer's disease progression: a new protective strategy. **Neural Regeneration Research**, v. 10, n. 5, p. 696-697, 2015.

VRIES, H. E. D. E. et al. The Blood-Brain Barrier in Neuroinflammatory Diseases. **The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 49, n. 2, p.143-155, 1997.

VRSELJA, Z. et al. Function of circle of Willis. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 34, n. 4, p. 578–584, 2014.

WALHOVD, K. B. et al. Multi-modal imaging predicts memory performance in normal aging and cognitive decline. **Neurobiology of Aging**, v. 31, n. 7, p. 1107–1121, 2010.

WALHOVD, K. B. et al. Consistent neuroanatomical age-related volume differences across multiple samples. **Neurobiology of Aging**, v. 32, n. 5, p. 916–932, 2011.

WANG, J. et al. To smooth or not to smooth? ROC analysis of perfusion fMRI data. **Magnetic Resonance Imaging**, v. 23, n. 1, p. 75–81, 2005.

WANG, J. Graph-based network analysis of resting-state functional MRI. **Frontiers in Systems Neuroscience**, v. 4, p. 1–14, 2010.

WANG, Z. et al. Empirical optimization of ASL data analysis using an ASL data processing toolbox: ASLtbx. **Magnetic Resonance Imaging**, v. 26, n. 2, p. 261–269, 2008.

WHITE, T. et al. Time of Acquisition and Network Stability in Pediatric Resting-State Functional Magnetic Resonance Imaging. **Brain Connectivity**, v. 4, n. 6, p. 417–427, 2014.

WHITFIELD-GABRIELI, S.; NIETO-CASTANON, A. *Conn*: A Functional Connectivity Toolbox for Correlated and Anticorrelated Brain Networks. **Brain Connectivity**, v. 2, n. 3, p. 125–141, 2012.

WILLIAMS, D. S. et al. Magnetic resonance imaging of perfusion using spin inversion of arterial water. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 89, n. 9, p. 212–216, 1992.

WINTERMARK, M. et al. Simultaneous measurement of regional cerebral blood flow by perfusion CT and stable xenon CT: a validation study. **American Journal of Neuroradiology**, v. 22, n. 5, p. 905–914, 2001.

WINTERMARK, M. et al. Comparative overview of brain perfusion imaging techniques. **Stroke; a Journal of Cerebral Circulation**, v. 36, n. 9, p. 83–99, 2005.

WONG, E. C. New developments in arterial spin labeling pulse sequences. **NMR in Biomedicine**, v. 26, n. 8, p. 887–891, 2013.

WONG, E. C. An introduction to ASL labeling techniques. **Journal of Magnetic Resonance Imaging**, v. 40, n. 1, p. 1–10, 2014.

WONG, E. C.; BUXTON, R. B.; FRANK, L. R. Implementation of quantitative perfusion imaging techniques for functional brain mapping using pulsed arterial spin labeling. **NMR in Biomedicine**, v. 10, n. 4–5, p. 237–249, 1997.

WRIGHT, B. L. C.; LAI, J. T. F.; SINCLAIR, A. J. Cerebrospinal fluid and lumbar puncture: A practical review. **Journal of Neurology**, v. 259, n. 8, p. 1530–1545, 2012.

- WU, W.C. et al. Physiological modulations in arterial spin labeling perfusion magnetic resonance imaging. **IEEE Transactions on Medical Imaging**, v. 28, n. 5, p. 703–709, 2009.
- WU, W. C. et al. A theoretical and experimental investigation of the tagging efficiency of pseudocontinuous arterial spin labeling. **Magnetic Resonance in Medicine**, v. 58, n. 5, p. 1020–1027, 2007.
- XU, G. et al. Reliability and Precision of Pseudo-continuous Arterial Spin Labeling Perfusion MRI on 3.0 T and Comparison with 15 O-water PET in Elderly Subjects at Risk for Alzheimer’s Disease. **NMR in Biomedicine**, v. 23, n. 3, p. 286–293, 2010.
- Y, U. et al. Clinical Application of Arterial Spin-Labeling MR Imaging in Patients with Carotid Stenosis : Quantitative Comparative Study with Single-Photon Emission CT. **American journal of neuroradiology**, v. 32, p. 1545–1551, 2011.
- YUJIE QIU et al. Tissue specific arterial spin labeling fMRI: a superior method for imaging cerebral blood flow in aging and disease. **Engineering in Medicine and Biology Society. Annual International Conference of the IEEE**, p. 6687–6690, 2014.
- ZANZONICO, P. Positron Emission Tomography: A Review of Basic Principles, Scanner Design and Performance, and Current Systems. **Seminars in Nuclear Medicine**, v. 34, n. 2, p. 87–111, 2004.
- ZELMANN, R. et al. Trends in Neurocognitive Aging. **Clinical Neurophysiology**, v. 123, n. 3, p. 106–116, 2013.
- ZHANG, N.; GORDON, M. L.; GOLDBERG, T. E. Cerebral blood flow measured by arterial spin labeling MRI at resting state in normal aging and Alzheimer’s disease. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 72, p. 168–175, 2017.
- ZHAO, L. et al. Rapid 3D dynamic arterial spin labeling with a sparse model-based image reconstruction. **NeuroImage**, v. 121, p. 205–216, 2015.
- ZIEGLER, D. A. et al. Cognition in healthy aging is related to regional white matter integrity, but not cortical thickness. **Neurobiology of Aging**, v. 31, n. 11, p. 1912–1926, 2010.
- ZIEGLER, S. I. Positron emission tomography: Principles, technology, and recent developments. **Nuclear Physics A**, v. 752, n. 1–4, p. 679–687, 2005.

8. ANEXOS

ANEXO A – PARECER FFCLRP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Cognição e Conectividade Funcional Cerebral em Repouso por meio de Imagens por Ressonância Magnética

Pesquisador: Renata Ferranti Leoni

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 49718215.1.0000.5407

Instituição Proponente: Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto- USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.426.868

Apresentação do Projeto:

vide relato anterior

Objetivo da Pesquisa:

vide relato anterior

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

vide relato anterior

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

vide relato anterior

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos adequados

Recomendações:

As alterações no TCLE visaram atender às solicitações do relato anterior. Entretanto, o nível de detalhamento apresentado culminou em um documento extenso. Como recomendação, pode-se retirar as informações do recrutamento do TCLE (mantendo-se apenas no projeto) e as informações sobre os testes a que os participantes serão submetidos durante o exame de ressonância magnética podem ser abreviadas (mas não retiradas por completo). Além disso, as

Endereço: Av. Bandeirantes 3.900

Bairro: Monte Alegre

CEP: 14.040-901

UF: SP

Município: RIBEIRÃO PRETO

Telefone: (16)3315-4811

Fax: (16)3315-9101

E-mail: coetp@ffclrp.usp.br

Continuação do Parecer: 1.426.868

assinaturas não devem ficar "solitas" na terceira página.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_556573.pdf	21/12/2015 19:10:38		Aceito
Outros	TCLE_RevisadoComentado.pdf	21/12/2015 19:09:13	Renata Ferranti Leoni	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Revisado.pdf	21/12/2015 19:07:59	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoPesquisa_Revisado.pdf	21/12/2015 19:07:14	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Outros	CartaResposta.pdf	21/12/2015 19:06:13	Renata Ferranti Leoni	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLERevisado.pdf	18/09/2015 10:41:36	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDePesquisa.pdf	08/09/2015 13:54:21	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Outros	SymbolDigit.pdf	08/09/2015 13:53:27	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Outros	BeckAnsiedade.pdf	08/09/2015 13:52:53	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Outros	BeckDepressao.pdf	08/09/2015 13:52:28	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Outros	ProtocoloDeAnamnese.pdf	08/09/2015 13:51:37	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Orçamento	OrcamentoFinanceiro.pdf	08/09/2015 13:49:45	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Outros	ManifestacaoInstituicaoCoparticipante.pdf	08/09/2015 13:48:34	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Outros	ProjetoDePesquisa.pdf	08/09/2015 13:45:50	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto.pdf	08/09/2015	Renata Ferranti	Aceito

Endereço: Av. Bandeirantes 3.900

Bairro: Monte Alegre

CEP: 14.040-901

UF: SP

Município: RIBEIRÃO PRETO

Telefone: (16)3315-4811

Fax: (16)3315-9101

E-mail: coetp@ffclrp.usp.br

FACULDADE DE FILOSOFIA,
CIÊNCIAS E LETRAS DE
RIBEIRÃO PRETO- USP

Continuação do Parecer: 1.426.868

Folha de Rosto	FolhaDeRosto.pdf	13:45:19	Leoni	Aceito
----------------	------------------	----------	-------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRAO PRETO, 26 de Fevereiro de 2016

Assinado por:
Marina Rezende Bazon
(Coordenador)

Endereço: Av. Bandeirantes 3.900

Bairro: Monte Alegre

CEP: 14.040-901

UF: SP

Município: RIBEIRAO PRETO

Telefone: (16)3315-4811

Fax: (16)3315-9101

E-mail: coetp@ffclrp.usp.br

Página 03 de 03

ANEXO B – PARECER HCFMRP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Cognição e Conectividade Funcional Cerebral em Repouso por meio de Imagens por Ressonância Magnética

Pesquisador: Renata Ferranti Leoni

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 49718215.1.3001.5440

Instituição Proponente: Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto- USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.428.742

Apresentação do Projeto:

De acordo com o parecer da Instituição Proponente.

Objetivo da Pesquisa:

De acordo com o parecer da Instituição Proponente.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo com o parecer da Instituição Proponente.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

De acordo com o parecer da Instituição Proponente.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentou carta de anuência do responsável pelo local de coleta no HCFMRP-USP.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O CEP tomou ciência e concorda com o parecer da Instituição Proponente.

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
UF: SP Município: RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 Fax: (16)3633-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br

Considerações Finais a critério do CEP:

"O CEP do HC e da FMRP-USP concorda com o parecer ético emitido pelo CEP da Instituição Proponente, que cumpre as Resoluções Éticas Brasileiras, em especial a Resolução CNS 466/12. Diante disso, o HCFMRP-USP, como instituição co-participante do referido projeto de pesquisa, está ciente de suas co-responsabilidades e de seu compromisso no resguardo da segurança e bem-estar dos sujeitos desta pesquisa, dispondo de infra-estrutura necessária para a garantia de tal segurança e bem-estar".

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_556573.pdf	21/12/2015 19:10:38		Aceito
Outros	TCLE_RevisadoComentado.pdf	21/12/2015 19:09:13	Renata Ferranti Leoni	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Revisado.pdf	21/12/2015 19:07:59	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoPesquisa_Revisado.pdf	21/12/2015 19:07:14	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Outros	CartaResposta.pdf	21/12/2015 19:06:13	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_556573.pdf	18/09/2015 10:42:07		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLERevisado.pdf	18/09/2015 10:41:36	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_556573.pdf	08/09/2015 13:55:47		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDePesquisa.pdf	08/09/2015 13:54:21	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Outros	SymbolDigit.pdf	08/09/2015 13:53:27	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Outros	BeckAnsiedade.pdf	08/09/2015 13:52:53	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Outros	BeckDepressao.pdf	08/09/2015 13:52:28	Renata Ferranti Leoni	Aceito

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
UF: SP Município: RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 Fax: (16)3633-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br

Continuação do Parecer: 1.428.742

Outros	ProtocoloDeAnamnese.pdf	08/09/2015 13:51:37	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Orçamento	OrcamentoFinanceiro.pdf	08/09/2015 13:49:45	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Outros	ManifestacaoInstituicaoCoparticipante.pdf	08/09/2015 13:48:34	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Outros	ProjetoDePesquisa.pdf	08/09/2015 13:45:50	Renata Ferranti Leoni	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto.pdf	08/09/2015 13:45:19	Renata Ferranti Leoni	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRÃO PRETO, 29 de Fevereiro de 2016

Assinado por:
MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
(Coordenador)

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
UF: SP Município: RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 Fax: (16)3633-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br

ANEXO C – TCLE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: COGNIÇÃO E CONECTIVIDADE FUNCIONAL CEREBRAL EM REPOUSO POR MEIO DE IMAGENS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

O senhor(a) está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa que tem como objetivo avaliar a circulação e o funcionamento do cérebro de pessoas saudáveis durante a execução de tarefas simples e durante o repouso (ausência de tarefas). O motivo da realização deste estudo é a importância de entender como o cérebro de pessoas saudáveis funciona para depois entender os problemas cerebrais existentes em pacientes com diferentes doenças. Os participantes, homens e mulheres, com idade mínima de 18 anos, são recrutados entre alunos e funcionários do Departamento de Física da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (FFCLRP – USP) e do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP – USP), por meio de cartazes colocados nas duas instituições.

Será realizado um exame na máquina de Ressonância Magnética no HCFMRP – USP, no Campus de Ribeirão Preto. Esse aparelho tem a forma de um grande tubo de metal, largo, com uma abertura por onde o senhor(a) entrará deitado(a) de barriga para cima. Essa máquina produz um campo magnético, como se fosse um ímã, que passa através do seu corpo sem prejudicar qualquer parte dele. A função dela será de produzir imagens do seu cérebro, além de demonstrar o funcionamento dele. Nada disso será sentido e não fará mal a sua saúde. Durante o exame, é necessário executar algumas tarefas e permanecer o mais parado possível. As tarefas que serão realizadas dentro da máquina são simples. Uma delas será de geração de palavras, ou seja, categorias (por exemplo, utensílios de cozinha) serão mostradas para o senhor(a), que deverá pensar em palavras pertencentes a essa categoria (por exemplo, garfo, faca, colher, etc). A outra tarefa será de associação de símbolos com números, ou seja, serão apresentados símbolos para o senhor(a), que deverá falar o número correspondente a cada símbolo de acordo com uma chave de resposta. Antes do início do exame, essas tarefas serão explicadas ao senhor(a) detalhadamente. Para comparação do desempenho, essas tarefas também serão realizadas fora da máquina de Ressonância Magnética, juntamente com a realização de uma avaliação neuropsicológica em que o senhor(a) deverá responder a alguns questionários para coleta de dados pessoais e demográficos, antecedentes clínicos, uso de medicação, histórico familiar de doenças, aspectos comportamentais e cognitivos, e avaliação de sintomas depressivos e de ansiedade. Essa avaliação levará de 30 a 45 minutos. Além disso, o senhor(a) passará por uma entrevista de aproximadamente 5 minutos com um enfermeiro do HC; essa entrevista é obrigatória para todas as pessoas que irão fazer exames de imagem por ressonância magnética. Com os dados dessas avaliações, os pesquisadores decidirão se irão incluir o senhor(a) no estudo.

A permanência dentro da máquina será por um período médio de 45 minutos. Dependendo da roupa que estiver usando, poderá ser pedido a utilizar um roupão do Hospital, a fim de garantir seu conforto e não gerar problema nas imagens. Assim, se concordar em participar do estudo, o senhor(a) deverá comparecer ao HC do Campus, por um dia, a ser agendado pelos pesquisadores e autorizar esses pesquisadores a analisar seu exame. Durante o exame, o senhor(a) poderá sentir-se desconfortável pois a máquina fará um barulho alto, bem como pela permanência, por um período de 45 minutos, sem realizar muitos movimentos. Para minimizar esse desconforto, serão utilizados protetores de ouvido e almofadas. Além disso, o senhor(a) poderá ser retirado da máquina a qualquer momento. A realização do exame não prejudicará sua saúde e o senhor(a) não sentirá dor. Após ser realizado, o exame será avaliado por um médico radiologista experiente do HC; e, no caso de observação de alguma alteração no exame, o senhor(a) será prontamente encaminhado para o serviço de saúde mais apropriado.

As informações coletadas neste estudo serão anexadas ao seu prontuário no HC, os médicos e outros profissionais autorizados a terem acesso ao prontuário terão acesso às informações. Além disso, estas informações serão vistas e analisadas apenas pelos pesquisadores responsáveis por este estudo. As informações poderão ser comunicadas para outros pesquisadores e médicos, mas sua identidade será mantida em sigilo. Nenhuma informação que possa revelar sua identidade estará disponível para quaisquer pessoas ou em quaisquer textos ou publicações. Essas informações serão mantidas em um banco de dados do Centro de Ciências das Imagens da Física Médica no HC.

É importante que saiba que sua participação é completamente voluntária e que poderá decidir não participar do estudo quando quiser, sem perder o direito de receber cuidados médicos de rotina, ou quaisquer outros benefícios aos quais tenha direito, oferecidos pelas instituições envolvidas neste estudo, qualquer que seja sua decisão. Além disso, o senhor(a) não receberá compensação financeira relacionada a sua participação neste estudo. Da mesma forma,

o senhor(a) não terá despesa pessoal em qualquer fase do estudo, incluindo o exame. Durante o período de sua participação, a despesa relacionada ao transporte até o HC será reembolsada. Este documento é um termo de consentimento que o senhor(a) deverá assinar se concordar em participar do estudo, após entender todas as informações presente nele e esclarecer todas as dúvidas que tiver. Após assinar este termo, o senhor(a) receberá uma cópia dele. Em caso de eventuais dúvidas sobre questões éticas deste estudo, o senhor(a) poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP.

Comitê de Ética em Pesquisa

Avenida Bandeirantes, 3900 - Bloco 23 - Casa 37 - 14040-901 - Ribeirão Preto - SP - Brasil

Fone: (16) 3315-4811 / Fax: (16) 3633-2660

E-mail coetp@ffclrp.usp.br

Caso o senhor(a) tenha perguntas, dúvidas ou qualquer outra informação que deseje saber a respeito deste estudo, poderá entrar em contato com os pesquisadores do Departamento de Física (FFCLRP - USP), citados abaixo.

Profa. Dra. Renata Ferranti Leoni. Telefone: (16) 3315-0083 / (16) 99401-6368

Luciana da Mata Mônaco. Telefone: (16) 3315-3721 / (16) 99141-9299

Pedro Henrique Rodrigues da Silva. Telefone: (16) 3315-3721 / (19) 991960857

Os detalhes deste estudo foram explicados a você, que teve a oportunidade de fazer todas as perguntas aos pesquisadores. Se tiver lido o termo de consentimento livre e esclarecido (ou se ele tiver sido explicado para você), tiver entendido a informação e concordar voluntariamente em participar deste estudo, por favor, assine abaixo:

_____ Nome do Voluntário (impresso ou em letra de forma)	_____ Assinatura do Voluntário
---	-----------------------------------

Data: ____/____/____ Hora: _____

_____ Nome da Testemunha (impresso ou em letra de forma)	_____ Assinatura da Testemunha
---	-----------------------------------

Data: ____/____/____ Hora: _____

Declaração do Pesquisador

Declaro que revisei este estudo e o termo de consentimento com o participante. Segundo meu entendimento, ele compreendeu os objetivos, os procedimentos, riscos e benefícios do estudo.

_____ Nome do Pesquisador (impresso ou em letra de forma)	_____ Assinatura do Pesquisador
--	------------------------------------

Data: ____/____/____ Hora: _____

ANEXO D – PARCELAMENTO ANATÔMICO HARVARD-OXFORD

Figura 8.1: Atlas de Parcelamento Anatômico Harvard-Oxford.

#	ROI	AB
1	Polo Frontal direito	10
2	Polo Frontal esquerdo	10
3	Córtex Insular direito	16
4	Córtex Insular esquerdo	16
5	Giro Frontal Superior direito	6
6	Giro Frontal Superior esquerdo	6
7	Giro Frontal Médio direito	8
8	Giro Frontal Médio esquerdo	8
9	Giro Frontal Inferior direito (triangular)	45
10	Giro Frontal Inferior esquerdo (triangular)	45
11	Giro Frontal Inferior direito (opercular)	45
12	Giro Frontal Inferior esquerdo (opercular)	45
13	Giro pré central direito	6
14	Giro pré central esquerdo	6
15	Polo Temporal direito	38
16	Polo Temporal esquerdo	38
17	Giro Temporal Superior direito (divisão anterior)	22
18	Giro Temporal Superior esquerdo (divisão anterior)	22
19	Giro Temporal Superior direito (divisão posterior)	22
20	Giro Temporal Superior esquerdo (divisão posterior)	22
21	Giro Temporal Médio direito (divisão anterior)	21
22	Giro Temporal Médio esquerdo (divisão anterior)	21
23	Giro Temporal Médio direito (divisão posterior)	21
24	Giro Temporal Médio esquerdo (divisão posterior)	21
25	Giro Temporal Médio direito (parte temporo-occipital)	37
26	Giro Temporal Médio esquerdo (parte temporo-occipital)	37
27	Giro Temporal Inferior direito (divisão anterior)	20
28	Giro Temporal Inferior esquerdo (divisão anterior)	20
29	Giro Temporal Inferior direito (divisão posterior)	20
30	Giro Temporal Inferior esquerdo (divisão posterior)	20
31	Giro Temporal Inferior direito (parte temporo-occipital)	37
32	Giro Temporal Inferior esquerdo (parte temporo-occipital)	37

33	Giro pós central direito	4
34	Giro pós central esquerdo	4
35	Lóbulo Parietal Superior direito	7
36	Lóbulo Parietal Superior esquerdo	7
37	Giro Supramarginal direito (divisão anterior)	40
38	Giro Supramarginal esquerdo (divisão anterior)	40
39	Giro Supramarginal direito (divisão posterior)	40
40	Giro Supramarginal esquerdo (divisão posterior)	40
41	Giro Angular direito	39
42	Giro Angular esquerdo	39
43	Córtex Occipital Lateral direito (divisão superior)	7
44	Córtex Occipital Lateral esquerdo (divisão superior)	7
45	Córtex Occipital Lateral direito (divisão anterior)	19
46	Córtex Occipital Lateral esquerdo (divisão anterior)	19
47	Córtex Intracalcarino direito	17
48	Córtex Intracalcarino esquerdo	17
49	Córtex Frontal Medial	11
50	Córtex Motor Suplementar direito	6
51	Córtex Motor Suplementar esquerdo	6
52	Córtex Subcalosal	25
53	Giro Paracingulado direito	9
54	Giro Paracingulado esquerdo	9
55	Giro Cingulado (divisão anterior)	24
56	Giro Cingulado (divisão posterior)	23
57	Precúneo	31
58	Córtex Cuneal direito	18
59	Córtex Cuneal esquerdo	18
60	Córtex Frontal Orbital direito	47
61	Córtex Frontal Orbital esquerdo	47
62	Giro Parahipocampal direito (divisão anterior)	36
63	Giro Parahipocampal esquerdo (divisão anterior)	36
64	Giro Parahipocampal direito (divisão posterior)	36
65	Giro Parahipocampal esquerdo (divisão posterior)	36

66	Giro Lingual direito	19
67	Giro Lingual esquerdo	19
68	Córtex Temporal Fusiforme direito (divisão anterior)	20
69	Córtex Temporal Fusiforme esquerdo (divisão anterior)	20
70	Córtex Temporal Fusiforme direito (divisão posterior)	37
71	Córtex Temporal Fusiforme esquerdo (divisão posterior)	37
72	Córtex Fusiforme direito (divisão temporo-occipital)	37
73	Córtex Fusiforme esquerdo (divisão temporo-occipital)	37
74	Giro Occipital Fusiforme direito	36
75	Giro Occipital Fusiforme esquerdo	36
76	Córtex Frontal Opercular direito	44
77	Córtex Frontal Opercular esquerdo	44
78	Córtex Central Opercular direito	4
79	Córtex Central Opercular esquerdo	4
80	Córtex Parietal Opercular direito	40
81	Córtex Parietal Opercular esquerdo	40
82	Planum Polare direito	-
83	Planum Polare esquerdo	-
84	Giro Heschl's direito	41
85	Giro Heschl's esquerdo	41
86	Planum Temporale direito	41
87	Planum Temporale esquerdo	41
88	Córtex Supracalcarino direito	17
89	Córtex Supracalcarino esquerdo	17
90	Polo Occipital direito	18
91	Polo Occipital esquerdo	18
92	Tálamo direito	50
93	Tálamo esquerdo	50
94	Caudado direito	48
95	Caudado esquerdo	48
96	Putâmen direito	49
97	Putâmen esquerdo	49
98	Globo Pálido direito	51

99	Globo Pálido esquerdo	51
100	Hipocampo direito	54
101	Hipocampo esquerdo	54
102	Amígdala direita	53
103	Amígdala esquerda	53
104	Núcleo Accumbens direito	48
105	Núcleo Accumbens esquerdo	48
106	Tronco Encefálico	-
107	Cerebelo 1 esquerdo	-
108	Cerebelo 1 direito	-
109	Cerebelo 2 esquerdo	-
110	Cerebelo 2 direito	-
111	Cerebelo 3 esquerdo	-
112	Cerebelo 3 direito	-
113	Cerebelo 4 5 esquerdo	-
114	Cerebelo 4 5 direito	-
115	Cerebelo 6 esquerdo	-
116	Cerebelo 6 direito	-
117	Cerebelo 7 esquerdo	-
118	Cerebelo 7 direito	-
119	Cerebelo 8 esquerdo	-
120	Cerebelo 8 direito	-
121	Cerebelo 9 esquerdo	-
122	Cerebelo 9 direito	-
123	Cerebelo 10 esquerdo	-
124	Cerebelo 10 direito	-
125	Vermis 1 2	-
126	Vermis 3	-
127	Vermis 4 5	-
128	Vermis 6	-
129	Vermis 7	-
130	Vermis 8	-
131	Vermis 9	-
132	Vermis 10	-

Tabela 8.1: Número, Nome e respectiva área de Brodmann (AB) das regiões do atlas Harvard-Oxford.

ANEXO E – ÁREAS DE BRODMANN

AB	Nome	Funções
1	Córtex somatossensorial primário	Sensações, posicionamento
2	Córtex somatossensorial primário	Sensações, posicionamento
3	Córtex somatossensorial primário	Sensações, posicionamento
4	Córtex motor primário	Atividades motoras
5	Córtex Somatossensorial Associativo	Associação de sensações
6	Córtex pré-motor	Atividades motoras
7	Córtex somatossensorial	Coordenação visuomotora
8	Campos oculares frontais	Situações de incerteza
9	Córtex pré-frontal dorsolateral	Tomada de decisão
10	Área frontopolar	Funções Executivas
11	Área orbitopolar	Tomada de decisão
12	Área orbitofrontal	Planejamento
13	Córtex insular	Emoções
14	Córtex insular	Saliência de estímulos
15	Lobo temporal anterior	Estresse, pânico
16	Córtex insular	Homeostase
17	Córtex visual primário (V1)	Visão, Informação Espacial
18	Córtex visual associativo (V2)	Memória visual
19	Córtex visual associativo (V3)	Área de associação visual
20	Giro temporal inferior	Reconhecimento de objetos
21	Giro temporal médio	Reconhecimento facial
22	Giro temporal superior	Compreensão de linguagem
23	Córtex cingulado ventral posterior	Emoção e memória
24	Córtex cingulado ventral anterior	Consciência
25	Córtex subgenial	Autocontrole
26	Área ectosplenial	--
27	Córtex piriforme	Olfato
28	Córtex entorrinal posterior	Processamento informação
29	Córtex cingulado retrosplenial	Funções executivas
30	Córtex cingulado	Memória de trabalho
31	Córtex cingulado dorsal posterior	Aprendizagem

32	Córtex cingulado dorsal anterior	Interação social
33	Córtex cingulado anterior	Sensação de dor
34	Córtex entorrinal anterior	Memória
35	Córtex perirrinal	Processamento informação
36	Área entorrinal	Identificação de palavras
37	Giro fusiforme	Identificação de cores
38	Área temporopolar	Emoções viscerais
39	Giro angular	Linguagem, atenção
40	Giro supramarginal	Percepção espacial
41	Córtex auditivo primário	Audição
42	Córtex auditivo associativo	Audição
43	Área subcentral	Percepção de sabores
44	Área de broca (opercular)	Tarefas semânticas
45	Área de broca (triangular)	Tarefas associativas
46	Córtex pré-frontal dorsolateral	Atenção sustentada
47	Giro pré-frontal inferior	Sintaxe oral
48	Área retrosubicular	Memória de trabalho
49	Parasubículo	Percepção espacial
50	Tálamo	Estado de alerta
51	Globo pálido	Coordenação motora
52	Área parainsular	Sistema límbico
53	Amígdala	Comportamento social
54	Hipocampo	Memória
55	Hipotálamo	Comportamento emocional

Tabela 8.2: Número, Nome e uma função das Áreas de Brodmann (AB) a serem analisadas. Tabela adaptada de (BRODMANN; GAREY, 2006).