LUÍS GUSTAVO BAPTISTA E RIBEIRO

Neuroimagem funcional em idosos saudáveis: correlação entre ressonância magnética funcional no estado de repouso e variáveis cognitivas, demográficas, e deposição de peptídeo amiloide

> Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Programa de Psiquiatria

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Busatto Filho

(Versão corrigida. Resoluação CoPGr 6018/11, de 1 de novembro de 2011. A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

SÃO PAULO 2021

LUÍS GUSTAVO BAPTISTA E RIBEIRO

Neuroimagem funcional em idosos saudáveis: correlação entre ressonância magnética funcional no estado de repouso e variáveis cognitivas, demográficas, e deposição de peptídeo amiloide

> Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Programa de Psiquiatria

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Busatto Filho

(Versão corrigida. Resoluação CoPGr 6018/11, de 1 de novembro de 2011. A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

SÃO PAULO 2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

```
Ribeiro, Luis Gustavo Baptista e
Neuroimagem funcional em idosos saudáveis :
correlação entre ressonância magnética funcional no
estado de repouso e variáveis cognitivas,
demográficas, e deposição de peptídeo amiloide / Luis
Gustavo Baptista e Ribeiro. -- São Paulo, 2021.
Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Psiquiatria.
Orientador: Geraldo Busatto Filho.
Descritores: 1.Idoso 2.Imagem por ressonância
magnética 3.Conectividade funcional 4.Tomografia
por emissão de pósitrons 5.Envelhecimento 6.Memória
episódica 7.Cognição
USP/FM/DBD-241/21
```

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) – processos nº 2012/50239-6 e 2018/16610-6.

Esta dissertação ou tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação: Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

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

SUMÁRIO

Lista de Figuras Lista de Tabelas Lista de Abreviaturas Resumo Abstract 1. INTRODUÇÃO......1 1.1 Envelhecimento Populacional.....1 1.2 Alterações cerebrais morfológicas e funcionais no envelhecimento......2 **1.3** Biomarcadores de doença de Alzheimer (DA) em idosos sem 1.4 Neuroimagem e envelhecimento......5 1.4.1 Ressonância Magnética Funcional......6 Redes funcionais do cérebro humano em repouso......8 1.4.1.1 Correlações positivas e anti-correlações em redes funcionais do 1.4.1.2 cérebro humano em repouso.....9 RMf no estado de repouso e envelhecimento saudável.....10 1.4.1.3 1.4.2 Uso de Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET) para avaliação de alterações metabólicas cerebrais associadas ao envelhecimento cerebral humano.....12 Composto B de Pittsburgh......13 1.4.2.1 2. OBJETIVOS......14 2.2 Objetivos específicos e hipóteses.....14 3.1 Recrutamento e avaliação clínica.....15 3.2 Aguisição de imagens de RM estrutural......18 3.3 Aguisição de RM funcional no estado de repouso......19 3.4 Pré-processamento de RMf-r.....19 3.5 Processamento de RMf-r.....21 **3.6** Produção farmacológica de ¹¹C-PiB......**21** 3.7 Aquisição de imagens de PET cerebral......22 3.8 Processamento de imagens de PET ¹¹C-PiB......23 3.9 Protocolo para definição de positividade amiloide e medidas de razão de valor de captação normalizado (SUVr).....24 Análise Estatística - Quadrados Parciais Mínimos......25 3.10 Classificação dos resultados......27 3.11 3.12 **4.2** Classificação dos sujeitos quanto à presença de plaças de peptídeo β-4.3 Resultados de conectividade funcional de repouso com ou sem significância estatística na investigação de correlações com variáveis demográficas, cognitivas e SUVr......30 4.4 Detalhamento das comparações dos dados de conectividade funcional de repouso (CF-r) entre os subgrupos menos e mais longevos......32

5.2 Classificação pelo perfil amiloide dos sujeitos	37
5.3 Associação entre CF de repouso e idade	38
5.3.1 Resultados inter-redes.	39
5.3.2 Resultados intra-redes	41
5.4 Associação entre CF de repouso e as demais variáveis	44
5.5 Limitações	16
6. CONCLUSÃO	47
7. REFERÊNCIAS	49

Lista de Figuras

Figura 1. Evolução da população idosa no Brasil entre 1950 e 2019, com
Figura 2. Sequências temporais de atividade cerebral nos córtex occipital
direito e esquerdo, córtex cingulado posterior (CCP) e córtex pré-frontal medial
(CPFm) de um sujeito
Figura 4. Dispersão das razões de valor de captação normalizado (SUVr) de
captação de ¹¹ C-PiB dos 26 idosos saudáveis incluídos no estudo31
Figura 5. Representação visual das alterações significativas entre redes
funcionais nos sujeitos menos idosos em comparação aos idosos mais longevos
-

Lista de Tabelas

Tabela 1. Dados demográficos da amostra total e subgrupos divididos pela idade3	0
Tabela 2. Valores de P e intervalos de confiança para análises de correlação entre CE e variáveis contínuas	32
Tabela 3. Razão de vulnerabilidade de cada rede funcional	33
Tabela 4. Classificação das alterações de CF inter-redes/intra-redes	34

Lista de Abreviaturas

¹¹C-PiB: Composto B de Pittsburgh; AMCN: aumento de magnitude de correlação negativa; AMCP: aumento de magnitude de correlação positiva; BOLD: dependente do nível de oxigenação sanguínea; CCL: comprometimento cognitivo leve; CCP: córtex cingulado posterior; CF: conectividade funcional; CPF: córtex pré-frontal; CPFm: córtex pré-frontal medial; CT: tomografia computadorizada; DA: doenca de Alzheimer: DAN: rede dorsal atencional; DMCN: diminuição de magnitude de correlação negativa; DMCP: diminuição de magnitude de correlação positiva; DMN: rede de modo padrão; ENF: emaranhado neurofibrilar; FTP: rede frontoparietal; FWHM: largura à meia altura; HC-FMUSP: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência; LIM: rede límbica. MCNP: mudança de correlação negativa para positiva; MCPN: mudança de correlação positiva para negativa; MMSE: Mini Exame do Estado Mental; PET: tomografia por emissão de pósitrons; PET ¹¹C-PiB: tomografia por emissão de pósitrons com composto B de Pittsburgh; PLS: quadrados parciais mínimos; PVE: efeito de volumes parciais; RAVLT: Teste de Aprendizagem Auditório-Verbal de Rey; RM: ressonância magnética; RMf: ressonância magnética funcional; RMf-r: ressonância magnética funcional no estado de repouso; SB: substância branca; SC: substância cinzenta; SMT: rede somatomotora; SPGR: spoiled gradient echo; SUV: valor de captação normalizado; SUVr: razão de valor de captação normalizado; TE: tempo de eco; TR: tempo de repetição; VAN: rede ventral atencional; VIS: rede visual:

VOI: volume de interesse.

RESUMO

Ribeiro LGB. *Neuroimagem funcional em idosos saudáveis*: correlação entre ressonância magnética funcional no estado de repouso e variáveis cognitivas, demográficas, e deposição de peptídeo amiloide [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

A compreensão das alterações cerebrais durante o envelhecimento saudável se torna imperativa no contexto global atual de aumento na expectativa de vida. A disponível sobre funcionamento cerebral reporta literatura alterações importantes na conectividade funcional (CF) durante o envelhecimento. Diversos estudos, no entanto, se restringem a áreas específicas do cérebro ao pesquisar essas mudanças. O presente trabalho investigou, em uma amostra de idosos saudáveis, associações entre a CF no cérebro inteiro, medida por meio da técnica de ressonância magnética funcional (RMf) no estado de repouso, e índices de deposição do peptídeo β-amiloide por meio do exame de tomografia por emissão de pósitron após injeção venosa do composto B de Pittsburgh (PET ¹¹C-PiB). Além disso, foram investigadas associações com outras variáveis relevantes nos processos de alterações de CF no envelhecimento segundo a literatura, a saber: a idade e escolaridade dos sujeitos; escores no Teste de Aprendizado Auditivo-Verbal de Rey (RAVLT), como medida de memória episódica: e escores no Mini Exame do Estado Mental (MMSE), como medida cognitiva geral. Participaram do estudo 26 idosos saudáveis que foram submetidos a extensa bateria de testes neuropsicológicos para exclusão de quaisquer doenças neurológicas ou psiguiátricas, e à análise de seus exames de ressonância magnética estrutural para exclusão de pacientes com lesões graves. Dois médicos nucleares realizaram uma avaliação visual do exame de PET ¹¹C-PiB dos participantes, dicotomizando a amostra com base em seu perfil amiloide nos subgrupos A- e A+. Também obtivemos uma medida semiquantitativa de deposição amiloide calculando valores de captação normalizados (SUV) de PET ¹¹C-PiB em diversas áreas do cérebro, obtendo sua média e normalizando-a pelo SUV cerebelar (SUVr-PiB). Após aquisição e préprocessamento dos dados de RMf de repouso, os dados de CF dos sujeitos foram parcelados em 278 regiões contíguas compreendendo o cérebro inteiro que tiveram sua conectividade média calculada. As conectividades médias de cada região foram então analisadas par a par, indicando para cada par se havia correlação positiva ou negativa, o que nos forneceu um panorama da CF de cada sujeito. Com o método de Quadrados Parciais Mínimos (PLS), verificamos se havia associação entre as diferenças de CF dos nossos sujeitos e suas variáveis cognitivas, demográficas e o SUVr-PiB. Quando as análises de PLS se mostraram estatisticamente significativas, realizamos nova dicotomização da amostra para comparar as conectividades médias de cada subgrupo, dividindo a amostra em idosos jovens e longevos. As diferenças entre subgrupos foram categorizadas pela natureza da mudança de conectividade (aumentos ou diminuições de correlações positivas ou negativas) e mapeadas de acordo com a sua localização em uma de sete grandes redes funcionais. Pela avaliação visual, foram identificados 5 sujeitos que apresentam deposição amiloide visual (grupo A+), enguadrando-os no espectro da Doença de Alzheimer (DA). Não foi encontrada significância estatística nas análises buscando associação entre CF do cérebro inteiro e SUVr-PiB, escolaridade, escores nos testes RAVLT ou

escores no MMSE. Encontrou-se resultado significativo na análise de associação entre CF e a idade dos sujeitos. Após dicotomizar a amostra em subgrupos de sujeitos idosos mais jovens e mais longevos, encontramos um padrão complexo e difuso de alterações funcionais no cérebro inteiro. Tanto entre redes funcionais quanto intrinsecamente a cada uma delas, notaram-se em maior grau diminuições de conectividade, mas em padrões muito distintos entre os dois casos. Em um grau menor, aumentos de conectividade também foram encontrados em proporção ao avanço da idade. Embora não tenhamos encontrado associação entre CF e deposição amiloide, nota-se que, excetuando os 5 sujeitos do grupo A+, todos os demais participantes apresentavam valores muito próximos de SUVr-PiB. Isto indica que amostras maiores serão necessárias para aumentar o poder estatístico das análises e confirmar este achado. Por outro lado, os achados da análise de correlação entre CF e idade cronológica estão respaldados pela literatura, mostrando associação significativa mesmo em uma amostra de faixa etária restrita, e demonstrando tanto presença de diminuições de CF com o decorrer da idade quanto aumento de CF em função de mecanismos compensatórios.

Descritores: Idoso; Imagem por ressonância magnética; Conectividade funcional; Tomografia por emissão de pósitrons; Envelhecimento; Memória episódica; Cognição.

ABSTRACT

Ribeiro LGB. *Functional neuroimaging of healthy elderlies*: correlation between resting-state functional magnetic resonance imaging and cognitive and demographic variables, and amyloid peptide deposition [dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2021.

The comprehension of brain alterations due to aging becomes imperative in the global context of life expectancy increase. Available literature on brain functioning reports important alterations in functional connectivity (FC) during aging. Several studies, however, are restricted to certain brain areas when looking for those changes. The present study investigated associations between the whole-brain functional connectivity (FC) of a sample of healthy elderlies measured by restingstate magnetic resonance imaging (rs-fMRI) and β -amyloid deposition indexes evaluated by the positron emission tomography after venous injection of the Pittsburgh compound B (¹¹C-PiB PET). Furthermore, we investigated association to other relevant variables to the FC alterations process according to the literature, such as: the participants' age and years of education; their scores on the Rey Auditory-Verbal Learning Test (RAVLT) as measure of episodic memory; and scores on the Mini Mental State Examination (MMSE) as measure of general cognition. The 26 healthy elderlies enrolled in this study underwent a thorough neuropsychological test battery to exclude subjects presenting neurological and psychiatric diseases, and structural magnetic resonance imaging to exclude any patients with gross brain lesions. A visual inspection of our sample's ¹¹C-PiB PET was carried out by two expert nuclear medicine physicians dichotomizing it by amyloid profile, thus dividing A- and A+ subgroups. We also obtained a semiquantitative measure of amyloid deposition by calculating standard uptake values (SUV) of ¹¹C-PiB PET in several brain regions, averaging them and normalizing the result by the cerebellar SUV (SUVr-PiB). After rs-fMRI acquisition and preprocessing, the participants' FC data were parceled into 278 whole-brain contiguous regions that had their mean connectivity calculated. The mean connectivity of each region was then analysed in pairs, indicating whether the correlation was positive or negative in each pair, thus providing a FC panorama for each subject. Using the Partial Least Squares (PLS) method, we verified whether the FC differences between our subjects were associated with the subjects' cognitive and demographic variables, and SUVr-PiB. In the case of statistically significant PLS analyses, we performed a new dichotomization of the sample to compare the mean connectivity of each subgroup, dividing our sample into younger and older elderlies. We categorized the differences between subgroups by the nature of the FC change (increases or decreases of positive or negative correlations) and mapped the results according to their location in the brain in one of seven functional networks. The visual inspection led to the identification of 5 subjects presenting important amyloid deposition (the A+ subgroup), placing them on the Alzheimer's Disease (AD) continuum. We did not find statistically significant results in the analyses searching associations between whole-brain FC and SUVr-PiB, education, RAVLT or MMSE scores. We found significant association between FC and age. After dichotomization into younger and older elderlies subgroups, we found a complex pattern of FC alterations widespread across the whole brain. Both between- and intra-networks

results were mostly categorized as FC decreases, but with very different patterns in each case. To a lesser extent, FC increases due to aging were also noted. Even though we did not find association between FC and amyloid deposition, it is notable that all but our five A+ subjects had close SUVr-PiB values. This indicates that bigger samples are warranted to augment statistical power and confirm this result. On the other hand, our results from the FC and age analysis are backed by the available literature, showing significant association even in a sample with small age difference between subjects, and demonstrating both FC decreases during aging and FC increases because of compensatory mechanisms.

Descriptors: Aged; Magnetic resonance imaging; Functional connectivity; Positron emission tomography; Aging; Episodic memory; Cognition.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Envelhecimento populacional

Dados atuais da constituição demográfica global indicam um processo importante de envelhecimento da população geral (ONU, 2019). Em países de alta renda, observa-se com clareza a inversão da pirâmide etária, mostrando uma população idosa superando o número de indivíduos de idades intermediárias (de 18 a 60 anos). Nos países ditos em desenvolvimento (ou de renda mais baixa), caso do Brasil, o que se observam são pirâmides etárias "amendoadas", nas quais a queda na taxa de natalidade é representada por uma base estreita; ademais, há uma predominância dos indivíduos em faixas etárias

Pirâmides etárias dessa natureza denotam o processo de envelhecimento populacional quando aliadas a um aumento da expectativa de vida. Embora seja importante ressaltar as discrepâncias entre a esperança de vida ao nascer no Brasil quando contabilizados raça e situação de domicílio (PNUD, 2017), a expectativa média de vida brasileira já ultrapassa os 75 anos de idade (IBGE, 2014). Esse quadro implica, portanto, uma tendência de crescimento da população idosa no país. Prospecta-se para os próximos 50 anos que o número de idosos acima de 65 anos triplique, chegando a 60 milhões de indivíduos (Figura 1). Nesse sentido, pesquisas robustas acerca da população idosa são cada vez mais priorizadas graças à crescente demanda por um gerenciamento eficiente a nível de políticas públicas sociais (Pool et al., 2017). Para garantir



Figura 1. Evolução da população idosa no Brasil entre 1950 e 2019, com projeções probabilísticas até 2100. O tracejado vermelho delimita os intervalos de confiança das projeções de população acima de 65 anos, contendo 85% e 90% das 60 simulações realizadas (linhas cinzas). Adaptado de (ONU, 2019).

qualidade de vida a essa população, é mister o estudo das alterações causadas pela senescência, que engendra no cérebro alterações metabólicas, cognitivas, estruturais e funcionais (Constantino et al., 2015; Grady, 2012; Mattson e Arumugam, 2018; Wyss-Coray, 2016). Apenas com relação a síndromes demenciais associadas a processos neurodegenerativos durante o envelhecimento, sabe-se que são gastos anualmente bilhões de dólares com as consequências do processo demencial, com tendência de aumento dessa cifra sobretudo nos países em desenvolvimento (ONU, 2019a).

1.2 Alterações cerebrais morfológicas e funcionais no envelhecimento

Uma miríade de alterações cerebrais morfológicas e funcionais são percebidas durante o envelhecimento humano. Diversos fatores podem influir em reduções volumétricas de substância cinzenta (SC) e perda de integridade de substância branca (SB) e, como consequência, um processo de declínio cognitivo é esperado em sujeitos idosos, mesmo que de maneira discreta (Jaroudi et al., 2017). Embora haja funções cognitivas preservadas durante o envelhecimento saudável, como a memória semântica e habilidades espaciais (Cohen et al., 2019), outras tantas são comumente observadas, como queixas de atenção, função executiva e comprometimentos de memória episódica mensuráveis sobretudo a partir da aplicação de testes neuropsicológicos, os quais podem revelar significativas dificuldades de armazenamento e recuperação de conteúdo nos idosos (Cohen et al., 2019).

Há também mudanças de ordem funcional no cérebro correlatas ao envelhecimento. Sabe-se que o envelhecimento normal acarreta, não raro, uma diminuição de assimetria cerebral e reduções significativas da conectividade funcional (CF) entre áreas distintas do cérebro (Ferreira e Busatto, 2013; Onoda et al., 2012). Também consta na literatura, por outro lado, que é comum entre idosos saudáveis a hiperativação de determinadas áreas (como o córtex pré-frontal - CPF) como mecanismo compensatório contra a neurodegeneração; sujeitos de maior sucesso no desempenho de tarefas de memória e de percepção em geral apresentam um recrutamento maior das áreas cerebrais (Cabeza et al., 2018).

1.3 Biomarcadores de doença de Alzheimer (DA) em idosos sem comprometimento cognitivo

envelhecimento também é fator correlacionado a alterações 0 metabólicas no cérebro. Tanto no envelhecimento sem déficits cognitivos significativos quanto nos casos de perda cognitiva patológica, alguns biomarcadores são de grande importância para a compreensão desse processo. Assim, destaca-se a prevalência da doença de Alzheimer (DA), que constitui a forma mais comum de demência na população idosa (Blennow et al., 2006). Esse processo neurodegenerativo é exponencialmente mais prejudicial de acordo com a idade, atingindo de 25% a 33% da população acima dos 85 anos (Blennow et al., 2006). Como biomarcadores característicos da DA presentes na análise anatomopatológica do tecido cerebral post-mortem, encontram-se OS emaranhados neurofibrilares (ENF) e os aglomerados ou placas de peptídeo ßamiloide (para uma descrição atualizada dos biomarcadores e da fisiopatologia da DA, ver Blennow e Zetterberg, 2018). Sabe-se também que algumas moléculas que participam no foco de acúmulo amiloide extracelular, como as citocinas e os radicais livres, desencadeiam um processo inflamatório e estresse oxidativo (Singh et al., 2019).

Os biomarcadores típicos de DA, entretanto, são também encontrados em indivíduos assintomáticos e de cognição preservada. Estudos recentes indicam que de 20% a 33% dos idosos saudáveis apresentam uma quantidade expressiva de placas amiloides (Rodrigue et al., 2009; Oh et al., 2012; Zwan et al., 2014). Atualmente, entende-se que a deposição amiloide tenha início bastante precoce, antecedendo assim em torno de 15 anos a incidência da

neurodegeneração característico da DA (Rowe et al., 2013). Uma meta-análise de estudos longitudinais conduzida por Chen e colaboradores (2014) revela um risco 3.7 vezes maior de desenvolvimento de demência nos idosos cognitivamente normais que possuem depleção amiloide exuberante. A relação entre declínio cognitivo e a presença das placas amiloides, posto que muito prevalente, pode ser modificada por diversos fatores, como a existência de uma reserva cognitiva própria do indivíduo (Oh et al., 2012; Pike et al., 2007). Sendo assim, uma parcela de indivíduos com sinais de deposição amiloide podem nunca apresentar deficits cognitivos desproporcionais, ou somente irão apresentar tal declínico patológico apenas em idades muito avançadas.

A Associação de Alzheimer do Instituto Nacional de Envelhecimento dos Estados Unidos (NIA-AA, *National Institute on Aging - Alzheimer's Association*) passou em 2018 a definir a DA para fins de pesquisa como patologia marcada simultaneamente pela presença de neurodegeneração e dos biomarcadores clássicos, notadamente os aglomerados de peptídeo β-amiloide e os ENF de tau, detectados *in vivo* pela análise liquórica e por técnicas de neuroimagem; ou por estudo *post-mortem* (Jack et al., 2018). Nesse sentido, embora seja comum tratar os idosos sem comprometimento cognitivo e no geral assintomáticos por "indivíduos saudáveis", cabe a ressalva de que esses pacientes podem, a depender do seu metabolismo cerebral e atrofia neuronal, apresentar traços anatomopatológicos que indicam incidência de DA. Nestes casos, estes indivíduos assintomáticos passam a ser classificados como pacientes com DA (Jack et al., 2018).

1.4 Neuroimagem e envelhecimento

A partir desse panorama de consideráveis mudanças devidas ao processo de senescência, as modalidades de neuroimagem estrutural e funcional se colocam como métodos seguros e não-invasivos de investigação das alterações morfológicas, funcionais e metabólicas do cérebro. Esse ferramental possibilita estudos *in vivo*, que podem, por exemplo, ser usados para descartar o diagnóstico de DA, diferenciando-a de outras demências, bem como documentar padrões de progressão das referidas alterações degenerativas do envelhecimento saudável ou subjacentes aos quadros demenciais (vede Risacher e Saykin, 2019 para uma revisão compreensiva). A seguir, explicitamos duas técnicas não-invasivas de neuroimagem funcional úteis ao presente trabalho: a Ressonância Magnética Funcional (RMf) e a Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET).

1.4.1 Ressonância Magnética Funcional

A RMf é um método que permite avaliar variações do nível de atividade funcional de regiões cerebrais bem determinadas (Ahmed et al., 2014). Essa técnica monitora mudanças locais na atividade de neurônios a partir da concentração de hemoglobina ligada ou não a oxigênio. Essa relação se dá a pártir do princípio de que quando uma região cerebral apresenta atividade neuronal elevada, ocorre um influxo regional de sangue oxigenado, fornecido pelo sistema vascular. A hemoglobina oxigenada apresenta propriedades magnéticas distintas da hemoglobina desoxigenada, de forma que a variação na proporção entre elas em uma dada região pode ser detectada pelo aparelho de

ressonância magnética (RM) e transparecerá nas imagens ponderadas em T2*. A essa medida se dá o nome de efeito BOLD (sigla em inglês para efeito "dependente do nível de oxigenação sanguínea"). Com métodos de aquisição rápida de RM podem-se obter imagens do cérebro todo com resolução satisfatória em menos de 3 segundos, permitindo a aferição das variações do sinal BOLD no tempo (Huettel et al., 2009).

Os primeiros estudos de RMf lançaram mão de um protocolo consistindo na execução de uma tarefa pelo sujeito durante a aquisição das imagens, para verificar quais áreas do seu cérebro são ativadas. Nas últimas décadas houve um crescimento vertiginoso no uso desta modalidade de neuroimagem, que vem contribuindo de forma significativa para o conhecimento sobre o funcionamento do cérebro humano (conforme mostram diversas revisões recentes, como as de Esteves et al., 2021 e Yap et al., 2021). Uma limitação desta linha de investigação consiste na pluralidade de comportamentos possíveis durante a realização de uma mesma tarefa por sujeitos distintos, resultando na ativação de diferentes áreas cerebrais em cada indivíduo (Gusnard et al., 2001). Entretanto, esta limitação é superada através do uso de "tarefas-controle" engenhosamente desenhadas para serem utilizadas durante a mesma sessão de aquisiçao de imagens.

Em anos recentes, tem sido prática corrente também estudos de RMf nos quais é feita a análise da sincronia de áreas cerebrais quando o sujeito está rigorosamente imóvel e em repouso na máquina de RM, portanto sem se engajar a qualquer tarefa específica, num tipo de técnica que é chamada de RMf de estado de repouso (Biswal et al., 1995). Também a RMf de repouso tem sido muito utilizada nos últimos anos para estudar a atividade cerebral intrínseca,

sobretudo relacionadas ao envelhecimento (vede revisões em Foo et al, 2020; e Ibrahim et al, 2021). A RMf de repouso é simples na sua execução, o que constitui importante aspecto em estudos cujos sujeitos apresentem dificuldades para se engajar em tarefas específicas. Entrentanto, ainda que intuitivamente possa se imaginar que durante o protocolo de repouso o cérebro permaneça ocioso, a realidade é muito distinta, apresentando um mapa bem definido de ativação cerebral persistente (Buckner et al., 2008). Mais do que isso, sabe-se que essa atividade cerebral de base é importante para um funcionamento saudável do cérebro (Fox e Raichle, 2007). Por isso, correlações funcionais entre diferentes regiões podem ser estimadas no estado de repouso, constituindo um mapa do que se chama de CF do sistema nervoso no estado de repouso (Friston et al., 1993).

1.4.1.1 Redes funcionais do cérebro humano em repouso

A medição do efeito BOLD mostra que o cérebro compreende diversas regiões que, sejam anatomicamente adjacentes ou distantes entre si, apresentam correlação funcional, compartilhando informações umas com as outras (Van den Heuvel & Hulshoff Pol, 2010). As regiões cujas trocas de informações são mais profícuas possuem flutuação BOLD coerente entre si no decorrer do tempo (De Luca et al., 2006) – dizemos que suas séries temporais apresentam uma correlação positiva. A partir desse comportamento funcional coincidente, é possível delimitar grandes redes funcionais que se estendem pelo cérebro inteiro com uma organização quase horizontal (isto é, que por vezes não estabelece hierarquia entre si). Usando o método de RMf no estado de repouso, é possível delimitar sete grandes redes funcionais: uma rede somatosensorial;

uma rede ligada ao processamento visual; uma rede da região frontoparietal, que exerce função moduladora; uma rede do sistema límbico, duas redes atencionais e a rede de modo padrão (*default mode network*, DMN), associada diretamente com recuperação de memórias, autorreferência, comportamento social e divagação mental (De Luca et al., 2006; Yeo et al., 2011).

1.4.1.2 Correlações positivas e anti-correlações em redes funcionais do cérebro humano em repouso

Dizemos que quaisquer duas regiões do cérebro apresentam correlação funcional positiva quando ambas apresentam padrões temporais semelhantes de ativação e desativação (Figura 2). Analogamente, duas regiões apresentam



Figura 2. Sequências temporais de atividade cerebral nos córtex occipital direito e esquerdo, córtex cingulado posterior (CCP) e córtex pré-frontal medial (CPFm) de um sujeito. Nota-se forte correlação positiva entre as séries na primeira curva, entre os lobos occipital direito e esquerdo (coeficiente de correlação de Pearson: $r \cong 1$), correlação moderada entre o CCP e o CPFm ($r \cong 0.5$), e correlação fraca entre CCP e o córtex occipital direito ($r \cong 0$). Adaptado de (Ferreira e Busatto, 2013).

correlação negativa (ou anti-correlação) quando, no decorrer de suas séries temporais de RM funcional no estado de repouso, nota-se que a ativação de uma região implica inativação da outra, e vice-versa.

É interessante destacar que correlações positivas costumam ser reportadas com mais frequência na literatura, mas anti-correlações são igualmente importantes para o desenvolvimento cognitivo, para o estabelecimento de especificidade na função de cada rede e para garantir o funcionamento orquestrado entre redes (Barber et al., 2013; Chai et al., 2014).

1.4.1.3 RMf no estado de repouso e envelhecimento saudável

A importância da investigação usando a RMf no cérebro de idosos saudáveis tem sido reiterada em conformidade com a proeminência de seus resultados. Sabe-se que o envelhecimento cerebral apresenta correlação com alterações de CF de repouso (Ferreira e Busatto, 2013). Diversos estudos sinalizam, por exemplo, que adultos mais velhos apresentam diminuição de conectividade se comparados a adultos jovens, especialmente na DMN (Chong et al., 2019; Mancho-Fora et al., 2020; Mevel et al., 2011; Hafkemeijer et al., 2012). Por outro lado, alguns estudos de cérebro inteiro também reportam aumentos de conectividade correlatos ao envelhecimento entre redes funcionalmente independentes em adultos mais jovens (Chan et al., 2014; Ferreira et al., 2016; Song et al., 2014). Em geral, essas mudanças são creditadas à perda de lateralização cerebral de forma a auxiliar o cumprimento de uma determinada tarefa (Logan et al., 2002; Rypma e D'Esposito, 2000; Stebbins et al., 2002). Nos estudos sobre envelhecimento, são frequentemente percebidas diminuições na especificidade funcional de diversas estruturas

cerebrais, processo que se nomeia como desdiferenciação (Goh, 2011). Isso pode se traduzir, no nível funcional, em uma diminuição de correlações negativas no cérebro (Geerligs et al., 2015).

A maioria dos estudos de RMf de estado de repouso em idosos se concentra sobre a DMN, em parte em função da localização coincidente desta grande rede com as áreas de neurodegeneração precoce e pronunciada na DA (Mevel et al., 2011). De fato, a DMN envolve o cíngulo posterior, o córtex préfrontal medial, o lóbulo parietal inferior e o hipocampo (Figura 3) (Mevel et al., 2011; Hafkemeijer et al., 2012). Não obstante, modificações na conectividade funcional de idosos são também observadas na rede sensório-motora e na rede límbica, entre outras (Chan et al., 2014; Geerligs et al., 2015; Onoda et al., 2012). Essas evidências sugerem a necessidade de estudos abrangentes que analisem a conectividade cerebral de forma integral, sem se ater a redes específicas, a fim de documentar as alterações em sua totalidade. Entretanto, na literatura se



Figura 3. Rede de Modo Padrão (DMN). a) Corte sagital; b) Corte coronal; c) Corte axial. A DMN inclui o córtex pré-frontal medial, córtex cingulado posterior, lóbulo parietal inferior e o hipocampo. Adaptado de (Hafkemeijer et al., 2012).

concentram os trabalhos que analisam o cérebro a partir de uma região de interesse única, estratégia que diminui substancialmente o número de análises e não carece de um aporte estatístico mais complexo.

Na contramão dessa tendência, alguns estudos recentes analisaram a CF de repouso do cérebro inteiro, definindo padrões espaciais estatisticamente relevantes em que mudanças na conectividade do estado de repouso estavam correlacionados à idade dos indivíduos. Esses estudos apontaram alta incidência do aumento de magnitude das correlações positivas no envelhecimento do cérebro (Ferreira et al., 2016; Geerligs et al., 2015; Meier et al., 2012), sobretudo entre redes distintas. Esse fenômeno pode ser explicado pela perda de lateralização funcional e pela fusão de redes que, em jovens, funcionam isoladamente (Chan et al., 2014; Geerligs et al., 2015; Song et al., 2014).

Em adição a isso, a literatura sobre envelhecimento também indica a relevância da perda de anti-correlações, que também é mais frequente entre redes distintas (Ferreira et al., 2016; Meier et al. 2012; Wu et al., 2011). Num estudo recente conduzido por Ferreira et al. (2016), no qual foram avaliados sujeitos de 20 a 75 anos de idade, aproximadamente 93% das conexões que apresentaram correlação com a idade dos indivíduos ligavam redes diferentes. Esse estudo ainda destaca uma porcentagem significativa de diminuição de correlações positivas majoritariamente intra-redes - o que sugere uma diminuição da sua coerência interna. Alguns estudos recentes usando teoria dos grafos para analisar alterações de CF correlatas à idade também apresentam alterações em índices que sugerem tanto aumento quando diminuição de conectividade em idosos (Chong et al., 2019; Mancho-Fora et al., 2020).

1.4.2 Uso de Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET) para avaliação de alterações cerebrais associadas ao envelhecimento cerebral humano

Nos exames de imagem por PET, um radioisótopo emissor de pósitrons (composto marcado pela presença de um carbono 11 ou flúor 18, por exemplo) é administrado. No decaimento desse radioisótopo, ocorrerá conversão de um próton em nêutron com a emissão de um pósitron e um neutrino. Pósitrons são partículas que apresentam exatamente as mesmas características dos elétrons, excetuando-se sua carga elétrica, que é igual em módulo à do elétron, mas positiva; neutrinos, por sua vez, são partículas sem carga e quase sem matéria e que não interagem com matéria (Lameka et al., 2016).

Quando um pósitron emitido se choca a um eventual elétron próximo a ele, ocorre um evento de aniquilação com emissão de dois fótons (outrossim chamados raios gama). Esses dois raios gama viajam na mesma direção e em sentidos opostos, e são captados simultaneamente pelos detectores presentes no aparelho de PET (Lameka et al., 2016).

1.4.2.1 Composto B de Pittsburgh

O método de PET mais usado para avaliação de alterações cerebrais metabólicas envolve o uso do traçador fluoro-deoxi-glucose marcado com flúor-18 para o mapeamento do metabolismo de glucose cerebral. Além disso, destaca-se também a utilização do composto B de Pittsburgh (¹¹C-PiB) nos exames de PET (PET ¹¹C-PiB), que tem permitido nas últimas décadas identificar e mapear *in vivo* os agregados de peptídeo ß-amiloide em humanos pela primeira vez (Klunk et al., 2004). O ¹¹C-PiB, composto derivado da tioflavina-T, é capaz de penetrar a barreira hematoencefálica e se liga especificamente às placas amiloides, sendo, portanto, eficaz no monitoramento de mudanças no

perfil amiloide de sujeitos idosos (Coutinho et al., 2020; Klunk et al., 2003; Mathis et al., 2005).

Exames com detecção proeminente de placas amiloides se provaram alta e positivamente correlacionados com o achado *post-mortem* dessas placas extracelulares, indicando confiabilidade do exame. Além disso, valores de *cutoff* de captação de PiB já estão estabelecidos na literatura para interpretação dos resultados tanto para análise visual no caso de discordância entre múltiplos examinadores, quanto para métodos semi-quantitativos (Clark et al., 2012; La Joie et al., 2019; Lopresti et al., 2005). Com isto, o exame de PET ¹¹C-PiB é hoje considerado um método não-invasivo eficaz para detecção de placas ß-amiloide no cérebro idoso, e pode indicar também em idosos livres de comprometimento cognitivo o avanço da patologia amiloide.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estabelece-se como objetivo primário deste trabalho a investigação das alterações de CF de repouso no cérebro inteiro de idosos saudáveis a partir da análise de imagens de RMf no estado de repouso. Sem regiões cerebrais de interesse definidas *a priori*, buscamos entender se fatores socio-demográficos descritos na literatura e patologia do tipo DA se relacionam significativamente com o panorama de mudanças de conectividade funcional no cérebro de idoso saudáveis.

2.2 Objetivos específicos e hipóteses

(i) Estudar a correlação entre alterações na CF de repouso dos idosos participantes com sua idade. Hipotetizamos que a idade dos sujeitos saudáveis será o fator mais significativamente associado a alterações de CF, de forma a permitir traçar um padrão para as mudanças de CF relacionadas à idade nos idosos.

(ii) Estudar a correlação entre alterações de CF e a escolaridade dos sujeitos, e seus escores em testes de avaliação cognitiva geral e de memória episódica verbal. Hipotetizamos que a correlação entre essas variáveis cognitivas e conectividade seja mais fraca do que a correlação com idade cronológica, por se tratar de uma amostra de idosos saudáveis.

(iii) Estudar a correlação entre alterações de CF e o nível de deposição amiloide em placas extracelulares medida por PET ¹¹C-PiB. Nossa hipótese, com base em dados da literatura disponível, é de que a presença de idosos com abundante depleção amiloide ainda que a amostra seja composta por sujeitos de performance cognitiva normal segundo a avaliação neuropsicológica. A partir disso, hipotetizamos que também essa variável se correlacione com CF de repouso nos participantes.

3. MÉTODOS

3.1 Recrutamento e avaliação clínica

O presente trabalho é do tipo transversal. O estudo se vale de um banco de dados adquirido pela equipe do Centro de Medicina Nuclear do Instituto de Radiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC- FMUSP) em conjunto com o Laboratório de Neuroimagem em Psiquiatria da FMUSP (LIM-21). A constituição desse banco de dados ocorreu durante o desenvolvimento do Projeto Temático de número 2012/50329-6 da FAPESP, intitulado "Neurociência translacional da doença de Alzheimer: estudos pré-clínicos e clínicos do peptídeo amiloide e outros biomarcadores" sob coordenação do Prof. Dr. Geraldo Busatto Filho. O estudo cujo banco de dados utilizamos foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HC-FMUSP (CAPPesq 368.037). Todos os participantes assinaram termo de consentimento após terem sido adequadamente informados sobre o estudo.

Os participantes (vinte e sete idosos cognitivamente saudáveis) foram recrutados por anúncios online e panfletos distribuídos em centros de atividade para idosos, por convites feitos a familiares de sujeitos com DA e comprometimento cognitivo leve (CCL) arrolados em outras pesquisas do LIM21, e por convites a outros idosos que passaram por triagem em outros laboratórios parceiros na nossa instituição. Apenas idosos com pelo menos 60 anos de idade foram incluídos.

Os sujeitos foram submetidos a: um questionário neurológico que determinou a inexistência de histórico de doenças neurológicas (tais como doença de Parkinson, epilepsia, doenças inflamatórias ou derame cerebral - enxaqueca não foi adicionada como critério de exclusão); e entrevista estruturada usando a versão traduzida da Entrevista Clínica Estruturada para o

DSM-IV (Structured Clinical Interview for DSM-IV, SCID-IV; Del-Ben, 2001), por meio do qual também determinou-se ausência de transtornos psiquiátricos maiores. Histórico de depressão, ansiedade ou abuso de álcool prévios também não entraram como critérios de exclusão. Uma extensa avaliação neuropsicológica foi igualmente conduzida, consistindo em testes avaliando memória episódica verbal e não-verbal, função visuoconstrutiva, memória semântica, atenção, velocidade de processamento, linguagem e funções executivas (a descrição de todos os testes cognitivos utilizados está em Squarzoni e colaboradores, 2020). Todos os sujeitos arrolados apresentaram performance cognitiva normal para sua faixa etária e ausência dos transtornos psiquiátricos e condições neurológicas descritos acima. Dois testes cognitivos foram selecionados para investigação de associações com a conectividade funcional de cérebro inteiro nos pacientes, a saber: o escore de recordação tardia no Teste de Aprendizagem Auditório-Verbal de Rey (Rey Auditory-Verbal Learning Test, RAVLT), usado como medida de memória episódica verbal (Ivnik et al., 1990); e o escore no Mini Teste do Estado Mental (Mini Mental State Examination, MMSE; Folstein et al., 1975), usado como índice de performance cognitiva geral.

Todos os sujeitos foram classificados com relação ao seu status socioeconômico e lateralidade dos membros superiores. Esta última foi avaliada pelo Inventário de Lateralidade de Edinburgo (*Edinburgh Handedness Inventory*; Oldfield, 1971), enquanto o critério socioconômico utilizado foi a escala ABA validada para uso no Brasil (<u>http://www.aba.com.br/wp-content/uploads/content/7727632a373615b34f2a5726fcc5c9e2.pdf</u>). Essa escala utiliza a renda mensal da família dos participantes para categorizá-los em

cinco faixas (de "A", representando as famílias com renda mais alta, até "E", com renda mais baixa). A educação foi medida de acordo com o número total de anos de educação formal informado pelos participantes; não houve indagação quanto a repetência no nível educacional.

Os critérios adicionais para exclusão de sujeitos foram: presença de condição médica grave e transtornos sistêmicos associados com comprometimento cognitivo; histórico familiar de demência com padrão dominante de hereditariedade; comprometimentos visuais ou auditivos que afetassem a avaliação cognitiva; e presença de lesões cerebrais grosseiras detectadas incidentalmente pelo exame de RM.

3.2 Aquisição de imagens de RM estrutural

Para a aquisição das imagens de RM, foi utilizado equipamento de 3 Tesla localizado no InRad do HC-FMUSP (Software Versão 3.2; Philips Achieva Healthcare, Best, the Netherlands), equipado com uma bobina phased array de oito canais para anatomia de cabeça. Uma sequência *spoiled gradient echo* (SPGR) foi adquirida simultaneamente à sessão de escaneamento usando o seguinte protocolo: TR 7 ms, TE 3.2 ms, ângulo de giro 8º, Sense 1.5, campo de visão 240 x 240, matriz 240 x 240, 180 camadas de 1 mm cada sem espaço entre elas, resultando em um tamanho de voxel de 1 x 1 x 1 mm. Uma sequência ponderada em T2 também foi adquirida de acordo com os seguintes parâmetros: TR 2500 ms, TE 233 ms, ângulo de giro 90º, campo de visão 228 x 226, matriz 228 x 226, 43 camadas de 3 mm cada sem espaço entre elas, resultando em um tamanho de voxel de visão 228 x 226, matriz 228 x 0.98 x 0.98 x 3 mm.

Todos os dados de RM foram examinados por radiologistas experientes que não foram informados dos objetivos do estudo. Eles identificaram a presença, número e localização de quaisquer lesões cerebrais graves, incluindo infartos cerebrais (os quais foram detectados como regiões de baixa intensidade de sinal na sequência SPGR) ou sinais de hiperintensidade nas imagens ponderadas em T2. Lesões vasculares de 3 a 15mm de diâmetro foram classificadas como lacunares (Fanning et al., 2014; Wardlaw et al., 2013).

3.3 Aquisição de RM funcional no estado de repouso

As imagens de RM funcional no estado de repouso (RMf-r) foram adquiridas usando um scanner Philips Achieva 3T no Instituto de Radiologia da Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo. Foi usada uma sequência de pulsos do tipo eco-planar pesada em T2* com os seguintes parâmetros: TE 30 ms, TR 2000 ms, ângulo de giro 80º, campo de visão 240x240, matriz 80x80, com camadas de 4mm (tamanho do voxel: 3 x 3 x 4 mm), número de fatias 31-32, com espaço entre elas de 0.5mm, Sense 2.5, Softone 3.7 - redução de ruído acústico (Rondinoni et al., 2013). Os participantes foram instruídos a manter os olhos abertos e fixados em uma cruz. Durante 6 minutos e 48 segundos, foram adquiridos 204 volumes; os 4 primeiros foram descartados de forma que cada sujeito totalizou 200 volumes. Durante a aquisição, foram usados 4 eletrodos de eletrocardiograma afixados ao peito dos sujeitos e uma faixa de respiração colocada no abdomen para monitorar os sinais de batimento cardíaco e movimentos respiratórios. A RMf-r foi realizada imediatamente após o scan de referência e no dia da RM, e os testes neuropsicológicos ou tarefas cognitivas foram administrados dias antes do exame.

3.4 Pré-processamento de RMf-r

As imagens de RMf-r dependem de um pré-processamento que envolve inicialmente a ferramenta AZTEC (van Buuren et al., 2009) (http://www.niutrecht.nl/downloads/aztec). Esse software remove os fatores de confusão gerados por processos cardiorrespiratórios, como diferenças no ciclo respiratório, volume de respiração, pulsação cardíaca e flutuações na frequência cardíaca; esses fatores causam alterações no efeito BOLD (van Buuren et al., 2009). Em seguida, utilizamos o AFNI - Analysis of Functional NeuroImages (Cox and Hyde 1997), Versão AFNI_2011_12_21_1014 (http://afni.nimh.nih.gov/afni/), um programa especializado no pré-processamento de imagens de RMf.

Com o AFNI, correções foram realizadas nas imagens de RMf relativas à diferença de tempo entre a aquisição de cada camada e à movimentação do paciente durante o exame. As imagens de RMf foram normalizadas usando as imagens de RM ponderadas em T1, as quais foram submetidas a uniformização de intensidade usando AFNI para guiar o registro espacial e por skull-stripping manual, realizado pela equipe do LIM-21 usando o *software* MRIcro (http://www.mccauslandcenter.sc.edu/mricro/). Após skull-stripping as imagens em T1 foram corregistradas ao centésimo volume de RMf de cada sujeito e normalizado linear e não-linearmente para corresponder ao template MNI ponderado em T1 do AFNI; as transformações lineares e não-lineares foram aplicadas a todos os volumes de RMf-r de cada sujeito para completar a normalização. Em seguida, demarcamos o sinal das regiões de substância branca e líquor nos baseando no sinal de 4 voxels reconhecidamente pertencentes a cada um. Foram aplicados também um filtro temporal passa-faixa (de 0.01 a 0.08 Hz) e um filtro gaussiano

para realizar a suavização espacial (largura à meia-altura de 6mm). Por fim, dois censores de movimentação foram aplicados sobre as imagens de RMf conforme preconizado por Power e colaboradores (2012). Para o primeiro, calculou-se o deslocamento da cabeça entre cada *frame* e marcaram-se os frames com deslocamento acima de 0.5; no segundo filtro, a partir do cálculo da média quadrática da mudança de intensidade do sinal BOLD no cérebro inteiro, marcaram-se os *frames* excedendo 0.5% de mudança. Os *frames* marcados por ambos os censores, mais um *frame* anterior e dois posteriores foram removidos das imagens finais.

3.5 Processamento de RMf-r

Posteriormente, os dados de CF foram parcelados de acordo com um atlas que divide o cérebro em 278 regiões contíguas de sinal BOLD homogêneo (disponível em: <u>http://www.nitrc.org/frs/?group_id=51;</u> Shen et al., 2013). A análise de CF foi feita no cérebro inteiro, de forma que toda inter-relação entre cada uma das regiões seja levada em conta. Após correspondência do grid do atlas com o das imagens de RMf, calculamos as séries temporais de cada uma das 278 regiões a partir da média das séries temporais de cada voxel contido na região. Com o software Matlab, comparamos as séries temporais de cada par de regiões calculando o coeficiente de correlação de Pearson entre elas e submetemos esses coeficientes à transformação de r para z de Fischer (Andrews-Hanna et al., 2007). Assim, obtivemos 38.503 conexões por sujeito para análise.

3.6 Produção farmacêutica de ¹¹C-PiB

O composto N-metil-¹¹C₂-(4'-metilaminofenil)-6-hidroxibenzotiazol (¹¹C-PiB) foi produzido pela equipe do Centro de Medicina Nuclear (CMN) do InRad através do processo de metilação da molécula precursora com ¹¹C (Faria et al., 2019). O processo de metilação foi conduzido com [¹¹C]CH3OTf em 2-butanona (MEK). [¹¹C]-metiltriflato foi preparado a partir do ¹¹CO₂, e foi destilado dentro da solução precursora. A mistura de reação foi purificada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

A coleta de ¹¹C-PiB ocorreu com um tempo de retenção de 12 minutos. Acetonitrila foi removida da reação utilizando-se a unidade de formulação. Como etapa final, o ¹¹C-PiB foi filtrado com filtro estéril especial para essa finalidade. A atividade específica bem como a pureza radioquímica foram medidas com sistema padronizado de controle de qualidade por HPLC. O tempo total de síntese foi de 40 minutos. A preparação usando HPLC foi feita usando os seguintes parâmetros: coluna - Luna C18 (250 x 10 mm); fase móvel - acetonitrila / água: 40 / 60; fluxo – 5ml/min; loop de injeção – 2ml. Os tempos de retenção são: PiB: 12min; PiB precursor: ±8 min. O produto foi liberado para uso com pureza radioquímica maior ou igual a 95%.

3.7 Aquisição de imagens de PET cerebral

As imagens de PET ¹¹C-PiB foram obtidas no CMN durante 70 minutos, iniciando imediatamente após a administração intravenosa do radioligante (296-740MBq), em um scanner de tomografia por emissão de pósitrons/tomografia computadorizada (CT) (Discovery 710, GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA) usando uma matriz de 256 x 256 mm. As imagens foram obtidas em condição

de repouso; foram recostruídas usando algoritmo OSEM, 4 iterações e 16 subconjuntos e corrigidas para decaimento radioativo, tempo morto, atenuação e espalhamento. As imagens adquiridas de 40 a 70 minutos após a injeção foram condensadas no tempo para criar uma imagem de ¹¹C-PET PiB estática. Antes da aquisição de PET ¹¹C-PiB, foi realizada uma CT do crânio a 120 kVp e 70 mA (140 mA e 0.5 s por rotação), usada para correção de atenuação.

Um indivíduo foi excluído devido a problemas técnicos durante a aquisição de imagens de PET ¹¹C-PiB, deixando a amostra final com 26 sujeitos.

3.8 Processamento de imagens de PET ¹¹C-PiB

Inicialmente, os dados de PET ¹¹C-PiB foram analisados pelo *software* PMOD 3.4 (PMOD Technologies LTD., Suíça). Utilizando a ferramenta PNEURO, as imagens de PET ¹¹C-PiB de cada sujeito foram corregistradas com sua ressonância magnética estrutural ponderada em T1. O parcelamento cerebral foi realizado com base no atlas HAMMERS de 83 regiões para gerar diferentes volumes de interesse (VOIs).

Todas as imagens de PET ¹¹C-PiB foram corrigidas para efeitos de volume parcial (PVE) de forma a evitar efeitos de confusão secundários ao grau de atrofia cerebral regional (Thomas et al., 2011) e à alta captação de substância branca (Matsubara et al., 2016). As imagens de PET ¹¹C-PiB corregistradas foram corrigidas para PVE por meio do método de Meltzer (Meltzer et al., 2000), um algoritmo otimizado baseado em voxel completamente implementado no software PVElab (http://pveout.ibb.cnr.it/PVEOut_Software.htm) (Quarantelli et al., 2004).
Com a versão 8 do Statistical Parametric Mapping (SPM) (Wellcome Trust Centre of Neuroimaging, Londres, Reino Unido) executado sob a plataforma de comandos Matlab (versão R2012a; The MathWorks, Inc), o banco de dados de ressonância magnética T1 de cada indivíduo foi espacialmente normalizado para o espaço padrão MNI usando um registro anatômico difeomórfico que utiliza álgebra de Lie exponencial (Ashburner, 2007). Em seguida, os passos utilizados na normalização das imagens ponderadas em T1 de cada indivíduo serão aplicadas às imagens de PET PiB corrigidas para PVE de forma a normalizá-las espacialmente para o espaço MNI (Ashburner & Friston, 2005). Finalmente, as imagens de PET PiB corrigidas para PVE e normalizadas espacialmente foram suavizadas com um filtro Gaussiano de 8mm no FWHM.

3.9 Protocolo para definição de positividade amiloide e medidas de razão de valor de captação normalizado (SUVr)

Para gerar medidas semi-quantitativas de captação de ¹¹C-PiB, realizouse o cálculo da SUVr a partir da divisão dos valores de captação normalizados (*Standard Uptake Values* - SUV) de captação de ¹¹C-PiB de diferentes regiões cerebrais pelo SUV do cerebelo total (Klunk et al., 2015). Após o cálculo da SUVr para todas as regiões, foi criada uma "meta-VOI" combinando os valores de regiões frontais, temporais e parietais específicas, como sugerido por Jack e colaboradores (2019).

Além da medida semi-quantitativa acima, os indivíduos também foram classificados como apresentando ou não sinais de deposição β-amiloide (A+ ou A-) a partir de um protocolo de inspeção visual descrito por Coutinho e colaboradores (2020). Dois médicos nucleares analisaram as imagens de PET

¹¹C-PiB, categorizando um sujeito como A+ se houvesse aumento de captação em áreas de substância cinzenta (SC) cortical causando perda de contraste entre SC e substância branca (SB), de forma a ser impossível diferenciar SC de SB em ao menos duas das seis áreas a seguir: córtex frontal, córtex temporal, córtex parietal lateral, córtex anterior ou posterior cingulado e precúneo, ou se uma grande área cortical de SC apresentasse captação forte e difusa do radioligante. Os sujeitos foram classificados como A- se houvesse clara separação entre SC e SB, com alta captação de SB e captação não significante de SC. Esse método visual de análise foi validado com diferentes radioligantes (Camus et al., 2012; Clark et al., 2012; Yamane et al., 2017), e foi conduzido com a ajuda de um método 3D-SSP semi-quantitativo criado para análise clínica de PET ¹¹C-PiB cerebral (Cortex ID Suite, GE Healthcare).

3.10 Análise Estatística - Quadrados Parciais Mínimos

A fim de caracterizar a relação entre CF e variáveis clínicas e demográficas (SUVr de ¹¹C-PiB, índices de resiliência, idade e escolaridade), foi usado um método estatístico multivariado de Quadrados Parciais Mínimos - Behavioral Partial Least Squares (bPLS) para neuroimagem (McIntosh e Lobaugh, 2004; Krishnan et al., 2011), implementado para o Matlab. O PLS é uma ferramenta de procura por padrões que revelem correlações entre dois conjuntos de dados extensos organizados em matrizes. No nosso estudo, testamos a CF aferida por RMf-r, relacionando-a com fatores como idade, escolaridade e grau de deposição em placas β -amiloide, todas tratadas como variáveis contínuas. A aquisição das imagens de RMf é um método espaçotemporal em que o conjunto de todas as observações em um determinado

instante resulta em uma sub-matriz (vetor) que, disposta adjacente às demais, compõe a matriz principal. A matriz de dados clínicos (por exemplo, de valores de SUVr de PiB) é composta analogamente, sendo um vetor com um número de colunas igual ao número de medidas que se deseja procurar correlação.

Esses dados foram combinados em uma matriz de correlação que, por sua vez, passou por decomposição em valores singulares, resultando em 3 matrizes: a primeira, contendo os valores singulares; a segunda, contendo as saliências cerebrais; a terceira, contendo as saliências "comportamentais" (nome dado pelos autores para as saliências que no nosso estudo advêm dos dados clínicos e demográficos). As matrizes de saliências foram então combinadas com os dados originais (projeção da matriz de saliência sobre a matriz de dados original) a fim de obter variáveis latentes, que representam a maior quantidade de informação comum aos dois conjuntos de dados que servem como input do método. As variáveis latentes são compostas de "escores cerebrais" (combinação dos dados de RMf-r com a matriz de saliências cerebrais) e "escores comportamentais" (combinação dos dados clínicos e demográficos com a matriz de saliências comportamentais) (Krishnan et al., 2011).

Para obtenção de validade estatística, realizamos teste com 1000 permutações e, com a distribuição dos resultados obtidos, pudemos testar a validade da hipótese (a partir da porcentagem de vezes em que a rejeição da hipótese nula implique falha) (Krishnan et al., 2011). Definimos o *threshold* em p < 0.05. Também rodamos 1000 reamostragens com reposição (*bootstrap*), de forma a obter uma distribuição de valores de correlação entre escores cerebrais e nossas variáveis de estudo. Com ela, foi possível definir o intervalo de confiança dos valores de correlação; consideramos significativas as associações

que não continham o valor zero. Além disso, através da reamostragem obtevese uma distribuição de saliências cerebrais cuja média dividida pelo desvio padrão fornece a razão de *bootstrap*. Tal razão é considerada uma estimativa da estabilidade dos resultados em cada voxel; consideraram-se estáveis aqueles com razão \geq |3| (Grady, 2012).

3.11 Classificação dos resultados

Para as análises em que a correlação entre os dados de CF e as variáveis clínicas/demográficas apresentou significância estatística, realizou-se a dicotomização da amostra em dois subgrupos, com limiar definido pela variável em questão. Neste estudo, a única associação estatisticamente significativa foi encontrada na análise com a idade. Por isso, dividimos a amostra nos subgrupos de menos idosos e mais velhos usando a média aritmética simples da idade, e calculamos o sinal BOLD médio de cada uma das 38.503 conexões para cada subgrupo de forma a comparar as médias e entender a natureza das alterações entre subgrupos. Essa comparação levou a aumentos e diminuições de CF, que classificamos em 6 tipos, conforme o estudo de Ferreira e colaboradores (2016): aumentos de CF foram classificados como 1) aumentos de magnitude de correlação positiva (AMCP), 2) mudanças de correlação negativa para positiva (MCNP), ou 3) diminuições de magnitude de correlação negativa (DMCN); diminuições de CF foram classificadas como 4) diminuições de magnitude de correlação positiva (DMCP), 5) mudanças de correlação positiva para negativa (MCPN), ou 6) aumentos de magnitude de correlação negativa (AMCN).

3.12 Razão de vulnerabilidade de rede

Finalmente, foi usado um atlas funcional para determinar a localização dos achados em redes funcionais previamente determinadas, de forma a ressaltar quais redes foram as mais afetadas no nosso estudo. A partir do atlas de Yeo e colaboradores (2011) – disponível em <u>http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki/CorticalParcellation Yeo2011</u> -, o cérebro foi parcelado em 7 grandes redes funcionais de estado de repouso. Cada uma das 278 regiões do atlas de Shen foi classificada como pertencente à rede com a qual a região compartilhava o maior número de voxels. A maior rede foi a DMN, seguida, nessa ordem, pelas redes visual, somatomotora, frontoparietal, atencional dorsal, atencional ventral e límbica.

Caso as alterações de CF estivessem espalhadas uniformemente por todo o cérebro, as redes maiores em tamanho (portanto, com número maior de conexões possíveis) pareceriam mais afetadas, enquanto as redes menores (com menos conexões possíveis) falsamente apareceriam nos nossos resultados como mais protegidas, embora isto apenas apontasse para a disparidade de tamanho entre as redes. Para resolver essa questão, dividimos a porcentagem dos resultados afetando determinada rede pelo seu tamanho relativo no cérebro, obtendo o que chamamos de "razão de vulnerabilidade", uma variável que pode assumir valores menores ou maiores que 1: quanto maior a razão, mais afetada a rede; razões próximas a 1 mostram um número de alterações de CF simplesmente correspondente ao tamanho relativo da rede.

4. RESULTADOS

4.1 Dados sociodemográficos e cognitivos da amostra

Os dados sociodemográficos da amostra estão descritos na Tabela 1. A idade média da amostra foi de 70,8 (\pm 6,7) anos, numa proporção de 20 mulheres para 6 homens. Os escores médios do MMSE e de memória episódica medida pelo escore no RAVLT foram respectivamente de 28,0 (\pm 3,92) e 10,8 (\pm 4,69), e não houve diferença na comparação estatística entre os subgrupos de sujeitos menos e mais longevos. Também não houve diferenças significativas na comparação de subgrupos nos critérios socioeconômico, lateralidade dos membros superiores ou escolaridade (média de 12,4 anos; \pm 5,17). Quanto à classificação amiloide dos sujeitos, 2 sujeitos A+ se enquadraram no subgrupo mais jovem, ao passo que os 3 restantes estavam no subgrupo mais longevo.

4.2 Classificação dos sujeitos quanto à presença de placas de peptídeo βamiloide

A dicotomização dos idosos participantes nos grupos A+ e A- com base nos sinais presentes de deposição β -amiloide mostrou que, na nossa amostra, 5 sujeitos se enquadraram no grupo A+, e os demais 21, no grupo A-. Levando em consideração o critério semi-quantitativo de classificação da presença de placas amiloides, o valor médio de SUVr da meta-VOI definida na nossa amostra foi de 1,16 (desvio padrão – DP – de 0,34). Dentre os 5 sujeitos A+, a média do SUVr foi de 1,55 (DP = 0,33); no grupo A-, a média foi 1,07 (DP = 0,34). Comparando os dois subgrupos a partir do teste U de Mann-Whitney, verificamos que há diferença estatisticamente significativa entre as duas médias (P = 0,0007).

	Amostra total (n = 26)	Idosos jovens (n = 12)	ldosos longevos (n = 14)	Valor P
Idade média em anos (DP)	70,8 (6,67)	65,3 (3,03)	75,6 (3,13)	< 0,0001*
Mulheres:Homens	20:6	8:4	12:2	0,25
Educação em anos (DP)	12,4 (5,17)	12,8 (4,73)	12,1 (5,68)	0,86
Lateralidade (Destros: Canhotos: Ambidestros)	24:1:1	10:1:1	14:0:0	0,28
Socioeconômico (A:B:C:D:E)	9:14:3:0:0	5:6:1:0:0	4:8:2:0:0	0,75
MMSE (DP)	28,0 (3,92)	27,6 (1,38)	28,3 (2,13)	0,34
RAVLT (DP)	10,8 (4,69)	11,1 (3,00)	10,5 (3,05)	0,63

Tabela 1. Dados demográficos da amostra total e subgrupos divididos pela idade

Comparações entre grupos usando Teste U de Mann-Whitney para idade, educação e escore no MMSE, teste t de Student bicaudal para escores de RAVLT e teste quiquadrado para as variáveis categóricas. *Resultado com significância estatística (P < 0,05). Socioeconômico: classe socioeconômica determinada por renda familiar; DP: desvio-padrão.

Na Figura 4, apresentamos um gráfico de dispersão dos SUVr da nossa amostra dividida nos subgrupos A- e A+. Enquanto no grupo A- todos os SUVr orbitam em torno do valor 1, observa-se uma distribuição mais espaçada entre os sujeitos A+, todos com valores acima de 1,3, e chegando até aproximadamente 1,8.



Figura 4. Dispersão das razões de valor de captação normalizado (SUVr) de ¹¹C-PiB dos 26 idosos saudáveis incluídos no estudo divididos nos subgrupos A- e A+ por inspeção visual.

4.3 Resultados de conectividade funcional de repouso com ou sem significância estatística na investigação de correlações com variáveis demográficas, cognitivas e SUVr

Dentre os dados demográficos, a análise realizada através do método de bPLS para investigar correlações com CF mostrou-se significante para a variável idade, mas não para a escolaridade dos sujeitos (Tabela 2).

Já a investigação realizada com o método de bPLS para encontrar correlação entre CF e SUVr de ¹¹C-PiB mostrou-se não-significativa. Igualmente, não se atingiu o limiar estatístico em ambas as análises feitas com escores de RAVLT e MMSE (Tabela 2). Todas as análises de *bootstrap* apresentaram

intervalos de confiança de 95% que não continham o valor zero, portanto foram significativas (Tabela 2).

Análise	Valor P	Intervalo de confiança
SUVr-PiB	0,59	[0,861, 0,97641]
RAVLT	0,18	[0,85785, 0,95983]
MMSE	0,18	[0,85518, 0,95835]
Escolaridade	0,89	[0,84913, 0,95522]
Idade	0,04*	[0,85749, 0,96009]

Tabela 2. Valores de P e intervalos de confiança para análises de correlação entre CF e variáveis contínuas

SUVr-PiB: razão de valor de captação normalizado de ¹¹C-PiB; RAVLT: escore de recordação tardia no Teste de Aprendizagem Auditório-Verbal de Rey; MMSE: escore no Mini Exame do Estado Mental; escolaridade e idade em anos. *Resultado significativo: P < 0,05. Intervalos que não contêm o valor zero são considerados significativos.

4.4 Detalhamento das comparações dos dados de conectividade funcional de repouso (CF-r) entre os subgrupos menos e mais longevos

A partir da análise de bPLS com resultado significativo para a variável idade (escrita no sub-item acima), dicotomizamos nossa amostra de 26 sujeitos em um subgrupo de "sujeitos menos idosos" (n = 12) e um subgrupo de "idosos longevos" (n = 14). Os dados sociodemográficos de cada subgrupo mencionado são mostrados na Tabela 1, incluindo os resultados dos testes de comparações adequados para cada variável de forma a investigar se há diferenças estatisticamente significativas entre os subgrupos. Houve apenas diferença significativa entre a idade média dos dois subgrupos, graças ao nosso critério de

dicotomização. Do ponto de vista dos testes cognitivos, não houve diferenças significativas entre os dois subgrupos (Tabela 1).

A comparação das conectividades médias entre os dois subgrupos acima levou à descoberta de diferenças em 736 conexões, das quais 644 (88% do total) foram entre redes funcionais, e apenas 92 foram conexões entre duas regiões intrínsecas a uma única rede funcional.

Rede	Tamanho relativo	Razão inter-redes	Razão intra-rede
DMN	24%	1.20	0.77
VIS	16%	0.60	1.43
SMT	15%	1.04	1.30
FTP	13%	0.67	0.08
DAN	13%	1.13	1.59
VAN	11%	1.35	0.99
LIM	7%	1.09	0.93

Tabela 3. Razão de vulnerabilidade de cada rede funcional

A razão é definida pela porcentagem de alterações em cada rede dividida por seu tamanho relativo. Redes: DMN: rede de modo padrão; VAN: ventral atencional; DAN: dorsal atencional; FTP: frontoparietal; VIS: visual; SMT: somatomotora; LIM: límbica.

Nas mudanças inter-redes observadas a partir da comparação da média dos dois subgrupos, a rede funcional mais afetada no subgrupo de idade mais avançada (levando-se em conta seu tamanho relativo) foi a VAN, seguida da DMN e DAN (razões de vulnerabilidade respectivas: 1,35, 1,20 e 1,13; Tabela 3). Quanto à classificação dos resultados, metade dos achados foram categorizados como SCPN, ou seja, áreas com correlação positiva no grupo menos idoso, passando a apresentar correlação negativa no subgrupo de idosos longevos. Os demais tipos de mudanças de CF inter-redes no subgrupo mais longevo se apresentaram da seguinte forma: 21% de AMCN, 11% de DMCP, 9% de SCNP, 7% de AMCP e, por fim, quase não houve DMCN (contabilizando menos de 0,5% das alterações significativas; Tabela 4).

No campo das alterações intra-rede, as redes funcionais que apresentaram maior vulnerabilidade com a idade mais avançada foram DAN, VIS e SMT (razões de vulnerabilidade respectivas: 1,59, 1,43 e 1,30; vede a Tabela 3). Após classificar a natureza dessas mudanças, encontraram-se sobretudo DMCP e AMCP (48% e 34% dos resultados, respectivamente); todos os outros tipos de alteração foram encontrados em quantidades menos expressivas (11% de SCPN, 8% de SCNP; não houve quaisquer DMCN ou AMCN, conforme descrito na Tabela 4). Para visualizar ambos os resultados inter e intra-redes,

	Aumento Positivo	Diminuição Negativo	Negativo p/ Positivo	Diminuição Positivo	Aumento Negativo	Positivo p/ Negativo	TOTAL
DMN	8/7	1/0	10/2	37/7	91/0	225/1	372/17
VIS	9/6	1/0	30/0	14/6	31/0	39/9	124/21
DAN	26/11	0/0	27/5	25/3	25/0	87/0	190/19
VAN	17/2	0/0	17/0	23/8	50/0	84/0	191/10
SMT	9/0	1/0	18/0	25/18	28/0	120/0	201/18
FTP	15/0	1/0	18/0	18/1	10/0	50/0	112/1
LIM	2/5	-	2/0	4/1	39/0	51/0	98/6

Tabela 4.Classificação das alterações de CF inter-redes/intra-redes

DMN: rede de modo padrão; VAN: ventral atencional; DAN: dorsal atencional; FTP: frontoparietal; VIS: visual; SMT: somatomotora; LIM: límbica. Aumento Positivo: AMCP; Diminuição Negativo: DMCN; Negativo p/ Positivo: MCNP; Diminuição Positivo: DMCP; Aumento Negativo: AMCN; Positivo p/ Negativo: MCPN. Resultados antes da barra são inter-redes; resultados depois da barra são intra-rede.

dispusemos as conexões com diferença significativa entre os subgrupos no gráfico circular apresentado na Figura 5.



Figura 5. Representação visual das alterações significativas entre e intra redes funcionais nos sujeitos menos idosos em comparação aos idosos mais longevos. Quanto mais larga a fita unindo duas redes, maior o número de conexões alteradas entre elas.

5. DISCUSSÃO

5.1 Considerações gerais

O presente estudo buscou investigar a CF de repouso em uma população de idosos livres de queixas cognitivas. Ao passo que muito estudos importantes sobre envelhecimento cerebral se debruçam sobre as patologias relacionadas com o processo de senescência (sobretudo na demência), é também significativo de um ponto de vista acadêmico que o processo saudável seja igualmente entendido. É sabido que a progressão da idade acarreta diversas alterações cerebrais, inclusive no aspecto funcional (Ferreira et al., 2016). Por isso, investigamos a relação da CF de repouso na amostra de participantes em uma faixa etária restrita, de forma a caracterizar as mudanças específicas entre os idosos menos e mais longevos, assim como a relação da CF de repouso com relação a outras variáveis correlatas com desempenho cognitivo, como anos de escolaridade e escores nos testes MMSE (avaliando performance cognitiva no geral) e o RAVLT (instrumento específico de avaliação de memória episódica verbal). Por fim, a partir do mapeamento do status amiloide desses idosos, investigamos também a relação entre CF e a deposição do peptídeo ß-amiloide em placas extracelulares, usando para isso o método de PET ¹¹C-PiB.

A metodologia de RMf utilizada neste trabalho pode fornecer novos insights para o estudo de padrões de CF no cérebro humano em envelhecimento. A maioria dos estudos de CF de repouso escolhem previamente alguns VOIs para estudar alterações de conectividade funcional. Em idosos, particularmente há um grande interesse na DMN pela sua correspondência com áreas afetadas na DA e pela deposição amiloide preferencial nessas regiões (Damoiseaux et al., 2008; Lim et al., 2014; Tomasi e Volkow, 2012; Wang et al., 2010); ou na relação de outras áreas cerebrais com a DMN (Lim et al., 2014). É comum que apenas algumas conexões funcionais sejam consideradas nesses estudos, com ênfase em entender o comportamento da ROI e desconsiderando outros dados. Aqui, buscamos entender o padrão de toda a conectividade funcional do cérebro humano usando um atlas que divide o órgão em 278 regiões contíguas, e

analisando a conectividade entre todas as regiões tomadas duas a duas. Isso permite um panorama mais completo das alterações funcionais em idosos.

Também a nossa categorização dos resultados permite uma compreensão maior das alterações do que geralmente é apresentado na literatura, em que geralmente são descritos aumentos ou diminuições de CF. Com a categorização escolhida, enfatizamos a diferença entre correlações positivas e negativas entre regiões cerebrais, e assim é possível hipotetizar com mais clareza o que significam as alterações. Por exemplo: um resultado descrito somente como diminuição de CF pode implicar atenuação de uma correlação positiva (DMCP), aumento em módulo de uma correlação negativa (AMCN), ou, ainda, mudança de correlação positiva para negativa (MCPN). Cada um desses resultados pode ter significados muito distintos no funcionamento cerebral: no nosso estudo, uma DMCP pode estar relacionada (mesmo que não exclusivamente) com morte neuronal e atrofia cerebral, processo esperado em idosos (Pfefferbaum et al., 2013); uma AMCN implica que a ativação de uma área está cada vez mais ligada a inativação de outra; e, por fim, um resultado do tipo MCPN mostra um processo profundo de dessincronização funcional. Nesse sentido, o presente trabalho procura discriminar com mais clareza o padrão de alterações funcionais no cérebro idoso.

5.2 Classificação pelo perfil amiloide dos sujeitos

Nosso estudo classificou, dentre os idosos livres de comprometimento cognitivo de acordo com a bateria de testes realizada, 5 sujeitos como apresentando deposição amiloide (enquadrados no grupo A+). Isto representa aproximadamente 20% da nossa amostra. Ainda que modesta, essa

porcentagem está de acordo com a literatura disponível sobre o tema – como já mencionado, Rodrigue e colaboladores (2009) sugerem que, na população, uma taxa de 20 a 33% dos idosos saudáveis apresentam processo expressivo de deposição em placas. Sabe-se que esses sujeitos estão predispostos a um maior declínio cognitivo nos anos subsequentes, ao passo que os indivíduos classificados como A- apresentam risco menor de declínio (Jack et al., 2014; Mormino et al., 2014). O presente trabalho, portanto, é corroborado por esses achados prévios ao mostrar que uma minoria dos idosos cognitivamente saudáveis se encontram no contínuo da DA, faltando apenas indício de tauopatia para definir o diagnóstico segundo o *framework* de Jack e colaboradores (2018). Ademais, a partir dos resultados dessa classificação, optou-se por não realizar análise de PLS comparando os subgrupos A- e A+, pois o poder estatístico dessa análise seria muito reduzido em virtude do baixo número de sujeitos A+ na amostra.

5.3 Associação entre CF de repouso e idade

Mesmo em uma amostra de tamanho relativamente modesto e com um intervalo de idade compreendendo somente participantes de 60 a 87 anos, a análise multivariada mostrou relação significativa entre os padrões de CF e a idade cronológica dos sujeitos investigados. Com o detalhamento dos resultados através da dicotomização da amostra em 2 subgrupos, pudemos observar uma diferença significativa na CF de repouso entre os idosos menos e mais longevos, atestando, portanto, a importância dessa variável mesmo entre indivíduos que já chegaram à terceira idade. Os resultados obtidos são interpretados e discutidos nos sub-itens abaixo.

5.3.1 Resultados inter-redes

A maioria dos nossos achados de comparação entre os subgrupos menos e mais longevos (88%) foram entre redes funcionais distintas. Essa predominância não é supreendente, pois intuitivamente sabe-se que o número de conexões possíveis entre redes distintas supera enormemente o número de conexões possíveis intrínsicas a cada rede – basta lembrar que cada uma das redes é um subconjunto do cérebro inteiro, e cada um dos seus elementos (aqui chamados de regiões) se liga a todas as outras regiões do restante do cérebro. Não obstante, a divisão entre achados intra e inter-redes é muito importante para uma análise correta das alterações de CF. Pela definição de rede funcional, espera-se que regiões intrínsecas a uma rede tenham correlação funcional positiva (Biswal et al., 1997; Damoiseaux et al., 2006; Fox e Raichle, 2007); esse quadro já não é verdadeiro para regiões pertencentes a determinadas redes distintas, que podem apresentar correlação fraca entre si ou até mesmo forte correlação negativa (Fox et al., 2005).

Duas redes atencionais (DAN e VAN) e a DMN foram as mais afetadas nas suas conexões com as demais redes quando comparamos os subgrupos de sujeitos menos idosos e mais longevos, levando ainda em consideração o tamanho relativo das redes. O achado de diferenças entre subgrupos na DMN corrobora a literatura de RMf em idosos, que, como comentado previamente, largamente cita o papel pivotal da DMN nas mudanças funcionais observadas (Ferreira e Busatto, 2013; Mevel et al., 2011). Da mesma forma, já foram reportadas na literatura alterações nas redes atencionais durante o envelhecimento (Chen et al., 2019; Tomasi e Volkow, 2012). Nosso achado, no entanto, aprofunda esse entendimento, ressaltando que o processo de perda de

sincronicidade nestas redes não se dá apenas internamente, mas também na relação com as demais redes funcionais.

No nosso estudo, mais de 20% dos achados inter-rede se traduzem em AMCN, isto é, correlações negativas que se intensificam com a progressão da idade (Figura 6). Embora incomuns, AMCNs inter-redes também já foram citadas associadas ao envelhecimento em estudos de CF de repouso por um outro grupo de pesquisadores, analisando uma amostra de faixa etária mais ampla do que a nossa (Geerligs et al., 2015). Não obstante, sabe-se que as conexões inter-redes (e sobretudo entre as redes atencionais e a DMN, as mais afetadas no presente trabalho) são, no funcionamento normal do cérebro, correlações negativas (Fox et al., 2015); e um estudo prévio de RMf, ao analisar a relação entre essas redes, descreveu uma associação entre o envelhecimento e perda de correlação negativa (ou seja, ocorrência de DMCN ou MCNP) entre as redes atencionais e a DMN (Ferreira et al., 2016). Isto contrasta com nossos resultados, que apresenta porcentagem significativa de AMCN. Este trabalho de Ferreira e colaboradores, entretanto, analisou as alterações de CF de repouso numa progressão etária desde adultos jovens até idosos, apresentando uma média de idade dos participantes muito inferior à do presente estudo. Por isso, hipotetizamos (tomando em conjunto esses resultados) que esse processo de perda de correlação negativa se dê em uma faixa etária anterior àquela por nós aqui estudada. Nesse sentido, o que parece se desenhar entre os idosos saudáveis da nossa amostra é uma preservação das correlações negativas que restaram, dado que o processo mais aviltante já teria ocorrido.

Por outro lado, a grande maioria dos nossos achados (quase 70%) diz respeito a correlações positivas que são alteradas com a progressão da idade

(Figura 6). De fato, verificamos que 50% dos nossos resultados na análise com idade foram SCPN, e mais 11% de DMCP. Isso mostra uma forte diminuição da CF inter-redes na nossa amostra. Esse resultado é respaldado pela literatura, que comumente descreve de forma geral perdas de conectividade como características ao envelhecimento (Allen et al., 2011; Damoiseaux et al., 2008; Onoda et al., 2012). O estudo supracitado de Ferreira e colaboradores (2016), por outro lado, descreve em sua análise correlações positivas preservadas ou até intensificadas (AMCP e MCNP) no envelhecimento (novamente, ao considerar uma população mais jovem). Neste quadro, estas correlações positivas restariam expressivamente ativas na população mais idosa, e, caso houvesse alterações de perda de conectividade, elas ocorreriam somente na terceira idade.



Figura 6. Porcentagem de cada tipo de alteração encontrada nas nossas análises (a) inter-redes e (b) intra-redes. Aumento Positivo: AMCP; Diminuição Negativo: DMCN; Negativo -> Positivo: MCNP; Diminuição Positivo: DMCP; Aumento Negativo: AMCN; Positivo -> Negativo: MCPN.

Além dessa aparente prevalência de alterações inter-rede afetando as conexões estabelecidas pelas redes atencionais e a DMN, reportamos alterações inter-redes significativas em todas as demais redes funcionais, no geral com uma destribuição parecida entre cada um dos 6 tipos de mudança. Isto explicita a importância do estudo se dar no cérebro inteiro, uma vez que as nossas análises mostram claramente que o padrão de mudanças com o avançar da idade é generalizado.

5.3.2 Resultados intra-redes

No campo dos resultados intrínsecos a cada uma das redes funcionais, por outro lado, o quadro se modifica. Embora quase todas as redes (com exceção da FTP, que se mostrou bastante preservada) apresentem diversas conexões internas significativamente alteradas. se destacam com razões de vulnerabilidades mais expressivas as redes DAN, VIS e SMT. Dentre elas, a DAN é a que apresenta um panorama de alterações mais distinto dos demais: suas alterações intra-rede representam na grande maioria aumento de CF (aproximadamente 58% são AMCP e 26% são MCNP), sugerindo nesta rede um mecanismo específico de compensação e/ou desdiferenciação cerebral (Cabeza et al., 2018; Logan et al., 2002; Grady et al., 2005).

Há na literatura disponível sobre CF de repouso no envelhecimento corroboração quanto aos resultados vinculados à SMT. Tanto aumentos quanto diminuições de CF foram percebidos no córtex motor (área pertencente à SMT) de previamente (Langan et al., 2010; Stumme et al., 2020; Tomasi e Volkow, 2012; Wu et al., 2007), inclusive correlacionados a dificuldade em tarefas

motoras (Wu et al., 2007). No presente estudo, todas as mudanças de conectividade da SMT foram diminuições de CF (em específico, DMCP).

Embora a rede visual (VIS) venha sendo menos mencionada na literatura, há também achados de diminuição de CF de repouso no córtex visual em idosos saudáveis (Yan et al., 2011; Stumme et al., 2020). Além disso, existem diversas evidências quanto a comprometimentos visuais durante a DA (para uma revisão, ver Cerquera-Jaramillo et al., 2018). Esse processo, que pode ocorrer por deposição β-amiloide tanto em estruturas corticais e subcorticais relacionadas à visão guanto na própria retina (Armstrong, 1996; Chiu et al., 2012; Pelak e Hills, 2018), pode também ter efeito na nossa amostra, em que sujeitos sem queixas cognitivas, mas com perfil amiloide heterogêneo foram incluídos. Soma-se a isso, por fim, o protocolo de RMf utilizado neste estudo, em que se pediu aos participantes que ficassem com os olhos abertos, fitando uma cruz na máguina de ressonância. É possível que isso tenha gerado diferentes comportamentos visuais entre os subgrupos comparados, o que por sua vez também explicaria esse resultado. Aproximadamente 70% dos achados na VIS foram diminuições de correlação positiva ou mudança de correlação positiva para negativa; os outros 30% foram categorizados como aumento de correlação positiva, contando igualmente como mecanismo compensatório (como no caso da DAN).

Também cabe mencionar aqui que, dentre as alterações intra-rede, encontramos nos nossos resultados uma rede funcional quase completamente preservada. Apenas uma conexão entre duas regiões da rede FTP foi considerada significativamente alterada (classificada como DMCP) após aplicação do método PLS, o que rendeu, após nossa normalização pelo tamanho relativo de cada rede, uma razão de vulnerabilidade nesta rede de apenas 0.08.

A título de comparação, todas as outras redes tiveram em torno de 20 conexões alteradas, exceto pela LIM, com apenas seis; no entanto, como a rede LIM compreende aproximadamente metade do número de regiões da FTP, na normalização dos resultados ela aparece com razão muito maior (0.93). A FTP funciona como uma rede de controle cognitivo, atuante sobretudo em processos que requerem controle altamente adaptativo (Dosenbach et al., 2007). Ela se comporta como hub, com conexões ativas com todo o cérebro, atuando sobre outras redes funcionais (Cole et al., 2010; Power et al., 2011). Por causa dessa natureza de hub da FTP, achados prévios descrevem diminuições de CF correlatas à idade dos participantes essencialmente entre ela e as demais redes, e não mudanças internas (Meunier et al., 2009), reforçando a preservação das conexões intra-rede aqui encontradas. Ademais, em se tratando de um grupo de idosos numa faixa etária bastante restrita e de cognição preservada, também é possível aventar que dentro da nossa amostra, todos apresentem um mesmo nível de controle cognitivo adequado para a idade, enquanto outras alterações são mais decisivas.

Como esperado, nossos resultados intra-rede mostraram em sua ampla maioria alterações em correlações positivas com o avançar da idade (92% das conexões no grupo de sujeitos idosos jovens eram desse tipo; Figura 6). Como mencionado anteriormente, a própria definição de rede funcional explora o conceito de regiões (contíguas espacialmente ou não) que apresentam correlação positiva na CF de repouso; sendo assim, é intuitivo que a maioria das conexões seja desse tipo. Ainda mais, quase metade dos resultados foram DMCP, revelando perda de coerência nas redes afetadas, o processo mais descrito na literatura do tema (Ferreira e Busatto, 2013). No entanto, uma parcela

significativa dos achados (aproximadamente 34%), como já comentamos, foi categorizada como AMCP (Figura 6), revelando um processo complexo de alterações funcionais na senescência.

5.4 Associação entre CF de repouso e as demais variáveis

Nossas demais análises, investigando associação da CF de repouso na nossa amostra com variáveis sociodemográficas (escolaridade), cognitivas (escores nos testes MMSE e RAVLT) e com o marcador de deposição amiloide, não apresentaram resultados significativos. Esses resultados devem ser tomados com cautela, pois pesa contra eles o número baixo de idosos envolvidos no nosso estudo, o que prejudica o uso do método escolhido, tolhendo seu poder estatístico (Biswal et al., 2010). Além disso, buscamos fazer com que a nossa amostra fosse a mais homogênea possível, excluindo quaisquer participantes que apresentassem transtorno psiquiátrico, doença neurológica ou ainda artefatos importantes nos seus exames de neuroimagem. No entanto, como resultado, obtivemos uma amostra que também apresenta baixa variabilidade nos quesitos acima descritos, sobretudo no escore de testes neuropsicológicos e no perfil amiloide dos sujeitos incluídos. Isso também é um fator que contribuiu para resultados aquém do limiar de significância estatística.

Há alguns exemplos na literatura de estudos que encontraram de fato associação entre a CF de repouso de idosos saudáveis e memória ou performance cognitiva (Antonenko et al., 2012; Charroud et al. 2016, Stumme et al., 2020; Wang et al., 2010; Zheng et al., 2018). Da mesma forma, dois estudos prévios indicaram alterações de CF relacionadas à escolaridade dos sujeitos. Arenaza-Urquijo e colaboradores (2013) mostram uma tendência de associação

entre escolaridade e aumento na conectividade do córtex cingulado anterior; outro grupo descreve associação negativa entre nível de educação e CF de várias regiões da DMN (Chen et al., 2019). Esses resultados, embora em direções opostas, destacam a escolaridade (enquanto sinal de reserva cognitiva) como um fator determinante no funcionamento cerebral (Arenaza-Urquijo et al., 2013). De uma forma geral, esses estudos usam métodos de análise de CF muito diversos dos nossos. Mesmo assim, eles servem como indicativos que, uma vez aplicados a uma análise de CF de repouso no cérebro inteiro, podem fornecer novos caminhos importantes para desenvolvimento destas questões, sobretudo com o uso de amostras numerosas de idosos sem comprometimento cognitivo.

O nosso levantamento da literatura para esta dissertação não identificou trabalhos até o presente momento que analisem alterações de CF em idosos sem comprometimento cognitivo, mas com perfil heterogêneo de deposição do peptídeo amiloide. Como já mencionado, sabe-se que a deposição amiloide pode preceder em anos o declínio cognitivo nesses sujeitos - que serão, portanto, considerados clinicamente saudáveis. Nosso trabalho, nesse sentido, é um primeiro esforço em mapear em idosos sem queixas cognitivas um dos biomarcadores que definem a DA, investigando se há relação entre a presença de placas amiloides nessa população e sua CF. Neste primeiro movimento nesta direção, no entanto, a resposta é negativa.

5.5 Limitações

Nosso trabalho apresenta algumas limitações importantes de serem destacadas. A principal delas, como já mencionado, diz respeito ao número

modesto de participantes (26 idosos saudáveis foram arrolados após aplicarmos todos os critérios de exclusão). Esse fato notadamente diminui o alcance estatístico dos nossos resultados; com um maior número de sujeitos, a variabilidade entre sujeitos pode ser melhor contornada. O supracitado estudo de Biswal et al. (2010) preconiza que os estudos de RMf de repouso com menos de 50 sujeitos estão propensos a falsos negativos, colocando em suspeição nossos achados negativos (mas não a correlação encontrada entre idade e CF). Estudos com número maior de participantes se fazem necessários para confirmá-los.

Ademais, não foi feito um controle para o alelo ε4 do gene APOE, amplamente associado com desenvolvimento de DA (ver Belloy et al., 2019, para uma revisão recente do tema) e com mudanças de CF de repouso (Reivang et al., 2013). Como o alelo ε4 também influencia o estabelecimento tardio da DA (Saunders et al., 1993), é possível que uma parcela dos participantes deste estudo apresentassem-no mesmo que sua cognição fosse preservada. Contudo, um estudo anterior (Ferreira et al., 2016) com adultos de diferentes faixas etárias verificou que as alterações percebidas na CF durante o envelhecimento não são secundárias à presença do gene, mas antes função do próprio envelhecimento. De qualquer forma, resta responder se e como, em uma amostra constituída exclusivamente por idosos, este alelo do gene APOE se coloca como importante fator de mudanças de CF de repouso.

Também não houve aprofundamento da questão de CF e sexo, outro fator que foi associado na literatura com alterações funcionais tanto em adultos mais jovens quanto em idosos (Sie et al., 2019; Stumme et al., 2020). Este tipo de análise não foi empreendida no presente trabalho em função do número diminuto

de homens. No entanto, deve-se ressaltar que os subgrupos dicotomizados para a análise relacionando CF à idade estavam pareados para sexo, de tal forma que não houvesse diferença estatística significativa na proporção de homens e mulheres entre eles (conforme visto na Tabela 1); nesse sentido, não houve interferência dessa variável nos nossos resultados referentes à relação entre CF e idade cronológica dos sujeitos.

6. CONCLUSÃO

No presente trabalho, procuramos associação da CF de repouso com algumas variáveis contínuas em uma amostra de idosos saudáveis. Mesmo com uma amostra de faixa etária restrita, verificamos associação da idade dos participantes com a CF de várias regiões do cérebro, apresentando um padrão complexo e difuso de alterações funcionais quando comparadas as CF médias dos subgrupos de sujeitos menos idosos e mais longevos. Tanto entre redes funcionais quanto intrinsecamente a cada uma delas, observou-se em maior grau diminuições de conectividade, mas em padrões muito distintos para cada uma dessas análises. Aumentos de conectividade também foram encontrados, mas em menor quantidade. Não encontramos associação da CF da nossa amostra com o perfil amiloide dos sujeitos, escolaridade, memória episódica ou desempenho cognitivo. Tanto a escolha de uma análise de cérebro inteiro quanto a forma de caracterização dos resultados, que dá igual importância a conexões positivas e negativas, analisando-as separadamente, permitiram o desenho de um panorama abrangente da CF em idosos saudáveis.

7. REFERÊNCIAS

Ahmed RM, Paterson RW, Warren JD, Zetterberg H, O'Brien JT, Fox NC, ..., Schott JM. Biomarkers in dementia: clinical utility and new directions. *J Neurol Neurosurf Psychiatry.* 2014; 85, 1426-1434.

Allen EA, Erhardt EB, Damaraju E, Gruner W, Segall JM, Silva RF, ..., Calhoun VD. A baseline for the multivariate comparison of resting-state networks. *Front Syst Neurosci.* 2011; 5, 2.

Andrews-Hanna JR, Snyder AZ, Vincent JL, Lustig C, Head D, Raichle ME, Buckner RL. Disruption of large-scale brain systems in advanced aging. *Neuron*. 2007; 56(5), 924-35.

Antonenko D, Meinzer M, Lindenberg R, Witte AV, Floel A. Grammar learning in older adults is linked to white matter microstructure and functional connectivity. *NeuroImage*. 2012; 62, 1667–1674.

Arenaza-Urquijo EM, Landeau B, La Joie R, Mevel K, Mézenge F, Chételat G. Relationships between years of education and gray matter volume, metabolism and functional connectivity in healthy elders. *NeuroImage*. 2013; 83, 450-457.

Armstrong R. Visual field defects in Alzheimer's disease patients may reflect differential pathology in the primary visual cortex. *Optom Vis Sci.* 1996; 73, 677-682.

Ashburner J. A fast diffeomorphic image registration algorithm. *NeuroImage*. 2007; 38, 95-113.

Ashburner J, Friston KJ. Unified segmentation. NeuroImage. 2005; 26, 839-851.

Barber AD, Caffo BS, Pekar JJ, Mostofsky SH. Developmental changes in withinand between-network connectivity between late childhood and adulthood. *Neuropsychologia*. 2013; 51, 156-167.

Belloy ME, Napolioni V, Greicius MD. A Quarter Century of APOE and Alzheimer's Disease: Progress to Date and the Path Forward. *Neuron*. 2019; 101(5), 820-838.

Biswal BB, Mennes M, Zuo XN, Gohel S, Kelly C, Smith SM, ..., Milham MP. Toward discovery science of human brain function. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010; 107, 4734–4739. Biswal BB, Van Kylen J, Hyde JS. Simultaneous assessment of flow and BOLD signals in resting-state functional connectivity maps. *NMR Biomed*. 1997; 10(4–5), 165–170.

Biswal BB, Yetkin FZ, Haughton VM, Hyde JS. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magnetic Resonance in Medicine: Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine*. 1995; 34, 537–541.

Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's Disease. *Lancet*. 2006; 368, 387-403.

Blennow K, Zetterberg H. Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future. *J Intern Med.* 2018, 284(6), 643-663.

Buckner RL, Andrews-Hanna JR, Schacter DL. The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease. *Ann NY Acad Sci.* 2008; 1124, 1–38.

Cabeza R, Albert M, Belleville S, Craik F, Duarte A, Grady C, ..., Rajah MN. Cognitive neuroscience of healthy aging: Maintenance, reserve and compensation. *Nat Rev Neurosci*. 2018; 19(11): 701-710.

Cabeza R, Anderson N D, Locantore JK, McIntosh AR. Aging gracefully: compensatory brain activity in high-performing older adults. *NeuroImage*. 2002; 17: 1394-1402.

Camus V, Payoux P, Barré L, Desgranges B, Voisin T, Tauber C, ..., Guilloteau D. Using PET with 18F-AV-45 (florbetapir) to quantify brain amyloid load in a

clinical environment. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2012; 39(4), 621-631. doi:10.1007/s00259-011-2021-8.

Cerquera-Jaramillo MA, Nava-Mesa MO, González-Reyes RE, Tellez-Conti C, de-la-Torre A. Visual Features in Alzheimer's Disease: from basic mechanisms to clinical overview. *Neural Plast.* 2018; 2941783.

Charroud C, Le Bars E, Deverdun J, Steffener J, Molino F, Abdennour M, ..., Champfleur NM. Working memory performance is related to intrinsic resting state functional connectivity changes in community-dwelling elderly cohort. *Neurobiol Learn Mem.* 2016; 132:57-66.

Chiu K, Chan TF, Wu A, Leung IYP, So KF, Chang RCC. Neurodegeneration of the retina in mouse models of Alzheimer's disease: what can we learn from the retina? *Age*. 2012; 34(3), 633–649.

Chen Y, Qi D, Qin T, Chen K, Ai M, Li X, ..., Zhang Z. Brain network Connectivity Mediates Education-related Cognitive Performance in Healthy Elderly Adults. *Curr Alzheimer Res.* 2019; 16(1), 19-28.

Cohen RA, Marsiske MM, Smith GE. Handbook of Clinical neurology. Chapter 10 – Neuropsychology of aging. In: Dekosky ST, Ashtana S. *Volume 167: Geriatric Neurology*. Elsevier 2019, 149-180.

Cole MW, Pathak S, Schneider W. Identifying the brain's most globally connected regions. *NeuroImage.* 2010; 49(4), 3132–3148.

Constantino S, Paneni F, Cosentino F. Ageing, metabolism and cardiovascular disease. *J Physiol*. 2016; 594(8), 2061-2073.

Chai XJ, Ofen N, Gabrieli JDE, Whitfield-Gabrieli S. Selective development of anticorrelated networks in the intrinsic functional organization of the human brain. *J Cogn Neurosci.* 2014; 26, 501-513.

Chan MY, Park DC, Savalia NK, Petersen SE, Wig GS. Decreased segregation of brain systems across the healthy adult lifespan. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014; 111, E4997–E5006.

Chen Q, Xia Y, Zhuang K, Wu X, Liu G, Qui J. Decreased inter-hemispheric interactions but increased intra-hemispheric integration during typical aging. *Aging*. 2019; 11(22), 10100–10115.

Chen X, Li M, Wang S, Zhu H, Xiong Y, Liu X. Pittsburgh compound B retention and progression of cognitive status — a meta-analysis. Eur J of Neurol. 2014; 21: 1060-1067.

Chong JSX, Ng KK, Tandi J, Wang C, Poh JH, Lo JC, ..., Zhou JH. Longitudinal Changes in the Cerebral Cortex Functional Organization of Healthy Elderly. *J Neurosci*. 2019; 39(28), 5534-5550.

Clark CM, Pontecorvo MJ, Beach TG, Bedell BJ, Coleman RE, Doraiswamy PM, ..., Skovronsky DM. Cerebral PET with florbetapir compared with neuropathology at autopsy for detection of neuritic amyloid-β plaques: a prospective cohort study. *Lancet Neurol.* 2012; 11(8), 669-678. doi:10.1016/S1474-4422(12)70142-4.

Coutinho AM, Busatto GF, de Gobbi Porto FH, Faria DP, Ono CR, Garcez AT, ..., Buchpiguel CA. Brain PET amyloid and neurodegeneration biomarkers in the

context of the 2018 NIA-AA research framework: an individual approach exploring clinical-biomarker mismatches and sociodemographic parameters. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2020, doi:10.1007/s00259-020-04714-0.

Cox RW, Hyde JS. Software tools for analysis and visualization of fMRI Data. *NMR Biomed*. 1997; 10, 171–178.

Damoiseaux JS, Beckmann CF, Arigita EJS, Barkhof F, Scheltens P, Stam CJ, Rombouts SA. Reduced resting-state brain activity in the "default network" in normal aging. *Cereb Cortex*. 2008; 18, 1856–64.

Damoiseaux JS, Rombouts SA, Barkhof F, Scheltens P, Stam CJ, Smith SM, Beckmann CF. Consistent resting- state networks across healthy subjects. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006; 103(37), 13.848–13.853.

De Luca M, Beckmann CF, De Stefano N, Matthews PM, Smith SM. fMRI resting state networks define distinct modes of long-distance interactions in the human brain. *NeuroImage.* 2006; 29, 1359–1367.

Del-Ben CM, Vilela JAA, Crippa JAS, Hallak EC, Labate CM, Zuardi AW. Confiabilidade da "Entrevista Clínica Estruturada para o DSM-IV - Versão Clínica" traduzida para o português. *Revista Brasileira de Psiquiatria.* 2001; 23, 4.

Dosenbach N, Fair D, Miezin F, Cohen A, Wenger K, Dosenbach R, ..., Petersen SE. Distinct brain networks for adaptive and stable task control in humans. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007; 104, 11073–11078.

Esteves M, Ganz E, Sousa N, Leite-Almeida H. Asymmetrical Brain Plasticity: Phisiology and Pathology. *Neurosci.* 2021; 454, 3-14.

Fanning JP, Wesley AJ, Wong AA, Fraser JF. Emerging spectra of silent braininfarction.Stroke.2014;45(11),3461-3471.doi:10.1161/STROKEAHA.114.005919.

Faria DP, Duran FL, Squarzoni P, Coutinho AM, Garcez AT, ..., Busatto GF. Topography of 11C-Pittsburgh compound B uptake in Alzheimer's disease: a voxel-based investigation of cortical and white matter regions. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 2019; 41, 101-11.

Ferreira LK, Busatto GF. Resting-state functional connectivity in normal brain aging. *Neurosci and Biobehav Reviews.* 2013; 37, 384-400.

Ferreira LK, Regina ACB, Kovacevic N, Martin MGM, Santos PP, Carneiro CG, ..., Busatto GF. Aging Effects on Whole-Brain Functional Connectivity in Adults Free of Cognitive and Psychiatric Disorders. *Cereb Cort.* 2016; 26, 3851-3865.

Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res.* 1975; 12(3), 189-198. doi:10.1016/0022-3956(75)90026-6.

Foo H, Mather KA, Jiang J, Thalamuthu A, Wen W, Sachdev PS. Genetic influence on ageing-related changes in resting-state brain functional networks in healthy adults: a review. *Neurosci Biobehav Rev.* 2020; 113, 98-110.

Fox MD, Raichle ME. Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. *Nat Rev Neurosci.* 2007; 8, 700–711.

Fox MD, Snyder AZ, Vincent JL, Corbetta M, Van Essen DC, Raichle ME. The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102, 9673–9678.

Friston KJ, Frith CD, Liddle PF, Frackowiak RSJ. Functional connectivity: the principal-component analysis of large (PET) data sets. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1993; 13: 5–14.

Grady CL. The cognitive neuroscience of ageing. *Nat Rev Neurosci.* 2012; 13, 491–505.

Grady CL, McIntosh AR, Craik F. Task-related activity in prefrontal cortex and its relation to recognition memory performance in young and old adults. *Neuropsychologi*a. 2005; 43, 1466-1481.

Geerligs L, Renken RJ, Saliasi E, Maurits NM, Lorist MM. A brain-wide study of age-related changes in functional connectivity. *Cereb Cortex*. 2015; 25, 1987–1999.

Goh JOS. Functional dedifferentiation and altered connectivity in older adults: neural accounts of cognitive aging. *Aging Dis.* 2011; 2, 30-48.

Gusnard DA, Raichle ME, Raichle ME. Searching for a baseline: functional imaging and the resting human brain. *Nat Rev Neurosci.* 2001; 2, 685–94.

Hafkemeijer A, van der Grond J, Rombouts SARB. Imaging the default mode network in aging and dementia. *Biochim Biophys Acta*. 2012; 1822, 431–41.

Huettel SA, Song AW, McCarthy G. Functional Magnetic Resonance Imaging, 2nd ed., Sinauer Associates, 2009.

Ibrahim B, Suppiah S, Ibrahim N, Mohamad M, Hassan HA, Nasser NS, Saripan MI. Diagnostic power of resting-state fMRI for detection of network connectivity in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a systematic review. *Hum Brain Mapp.* 2021; 42(9), 2491-2968.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Projeção da População do Brasil, por Sexo e Idade, para o Período 2000/2060 [internet]. São Paulo; 2014. Disponível em: <u>https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1174</u>.

Ivnik RJ, Tangalos EG, Petersen RC, Kokmen E, Kurland LT. The Auditory– Verbal Learning Test (AVLT): Norms for Ages 55 Years and Older. *Psychological Assessment: A Journal of Consulting and Clinical Psychology.* 1990 2(3), 9. doi:10.1037/1040-3590.2.3.304

Jack CR, Bennett DA, Blennow K, et al. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2018; 14, 535-562.

Jack CR, Therneau TM, Weigand SD, Wiste HJ, Knopman DS, Vemuri P, ..., Petersen RC. Prevalence of Biologically vs Clinically Defined Alzheimer Spectrum Entities Using the National Institute on Aging-Alzheimer's Association Research Framework. *JAMA Neurol.* 2019, doi:10.1001/jamaneurol.2019.1971. Jack CR, Wiste HJ, Knopman DS, Vemuri P, Mielke MM, Weigand SD, ..., Petersen RC. Rates of β -amyloid accumulation are independent of hippocampal neurodegeneration. *Neurol.* 2014; 82(18), 1605–12.

Jaroudi W, Garami J, Garrido S, Hornberger M, Keri S, Moustafa AA. Factors underlying cognitive decline in old age and Alzheimer's disease: the role of the hippocampus. *Rev. Neurosci.* 2017; 28(7), 705–714.

Klunk WE, Engler H, Nordberg A, Bacskai BJ, Wang Y, Price JC, ..., Mathis CA. Imaging the pathology of Alzheimer's disease: amyloid imaging with positron emission tomography. *Neuroimaging Clin N Am.* 2003; 13, 781–9.

Klunk W, Engler H, Nordberg A, Wang Y, Blomqvist G, Holt D, et al. Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh compound-B. *Ann Neurol.* 2004; 55, 306–19.

Klunk WE, Koeppec RA, Priced JC, Benzingere TL, Devous MD Sr, Jagust WJ, et al. The Centiloid project: standardizing quantitative amyloid plaque estimation by PET. *Alzheimers Dement*. 2015; 11, 1-15.e1-4.

Krishnan A, Williams LJ, McIntosh AR, Abdi H. Partial Least Squares (PLS) Methods for Neuroimaging: A Tutorial and a Review. *NeuroImage*. 2011; 56, 455-75.

La Joie R, Ayakta N, Seeley WW, Borys E, Boxer AL, ..., Rabinovici GD. Multisite study of the relationships between antemortem [11C]PiB-PET Centiloid values and postmortem measures of Alzheimer's disease neuropathology. *Alzheimers Dement*. 2019; 15, 205–216.

Lameka K, Farwell MD, Ichise M. Chapter 11: Positron Emission Tomography. In: Masdeu JC, Gonzalez RG. *Handbook of Clinical Neurology, Vol 135 (3rd series)*. Elsevier, 2016.

Langan J, Peltier SJ, Bo J, Fling BW, Welsh RC, Seidler RD. Functional implications of age differences in motor system connectivity. *Front Syst Neurosci*. 2010; 4, 17.

Lim HK, Nebes R, Snitz B, Cohen A, Mathis C, Price J, Weissfeld L, Klunk W, Aizenstein HJ. Regional amyloid burden and intrinsic connectivity networks in cognitively normal elderly subjects. *Brain*. 2014; 137(12), 3327-3338. doi: 10.1093/brain/awu271.

Lindenberger U. Human cognitive aging: corriger la fortune? *Science*. 2014; 346, 572-578.

Logan JM, Sanders AL, Snyder AZ, Morris JC, Buckner, RL. Under-recruitment and nonselective recruitment: dissociable neural mechanisms associated with aging. *Neuron.* 2002; 33, 827–840.

Lopresti BJ, Klunk WE, Mathis CA, Hoge JA, Ziolko SK, Lu X, ..., Price JC. Simplified quantification of Pittsburgh compound B amyloid imaging PET studies: a comparative analysis. *J Nucl Med*. 2005; 46, 1959–72.

Mancho-Fora N, Montalà-Flaquer M, Farràs-Permanyer L, Bartrés-Faz, Vaqué-Alcázar L, Peró-Cebollero M, Guàrdia-Olmos J. Resting-state functional dynamic connectivity and healthy aging: A sliding-window network analysis. *Psicothema.* 2020; 32(3), 337-345.
Meier TB, Desphande AS, Vergun S, Nair VA, Song J, Biswal BB, ..., Prabhakaran V. Support vector machine classification and characterization of age-related reorganization of functional brain networks. *NeuroImage*. 2012; 60, 601–613.

Meunier D, Achard S, Morcom A, Bullmore E. Age-related changes in modular organization of human brain functional networks. *NeuroImage*. 2009; 44, 715–723.

Mathis CA, Klunk WE, Price JC, DeKosky ST. Imaging technology for neurodegenerative diseases: progress toward detection of specific pathologies. *Arch Neurol.* 2005; 62, 196–200.

Matsubara K, Ibaraki M, Shimada H, Ikoma Y, Suhara T, Kinoshita T, Itco H. Impact of spillover from white matter by partial volume effect on quantification of amyloid deposition with [11C]PiB PET. *NeuroImage*. 2016; 143, 316-324.

Mattson MP, Arumugam TV. Hallmarks of Brain Aging: Adaptive and pathological modification by metabolic states. *Cell Metab.* 2018; 27(6), 1176-1199.

McIntosh AR, Lobaugh NJ. Partial least squares analysis of neuroimaging data: applications and advances. *NeuroImage*. 2004; 23, S250-63.

Meltzer CC, Cantwell MN, Greer PJ, Ben-Eliezer D, Smith G, Frank G, ..., Price JC. Does cerebral blood flow decline in healthy aging? A PET study with partial-volume correction. *J Nucl Med*. 2000; 41, 1842-1848.

Mevel K, Chetelat G, Eustache F, Desgranges B. The default mode network in healthy aging and Alzheimer's disease. International Journal of Alzheimer's Disease. 2011; 5(35): 8-16.

Mormino E, Betensky R, Hedden T, Schultz A, Amariglio R, Rentz D, ..., Sperling RA. Synergistic effect of β-amyloid and neurodegeneration on cognitive decline in clinically normal individuals. *JAMA Neurol.* 2014; 71, 1379–1385.

Oh H, Madison C, Haight TJ, Markley C, Jagust WJ. Effects of age and betaamyloid on cognitive changes in normal elderly people. *Neurobiol Aging*. 2012; 33(12), 2746- 2755.

Oldfield RC. The Assessment and analysis of handedness: The Edinburgh inventory. *Neuropsychologia*. 1971; 9(1), 97-113.

Onoda K, Ishihara M, Yamaguchi S. Decreased functional connectivity by aging is associated with cognitive decline. *J Cogn Neurosci*. 2012; 24, 2186-2198.

Organização das Nações Unidas (ONU). Department of Economic and Social Affairs, Population Division. World Population Prospects 2019 [internet]. Nova York: DESA; 2019. Disponível em: https://population.un.org/wpp/Graphs/Probabilistic/OADR/60plus/15-59/76.

Organização das Nações Unidas (ONU), Population Division. World Population Prospects — The 2019 Revision, Highlights [internet]. Nova York, 2019a. Disponível em: https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2019_Highlights.pdf.

Pelak VS, Hills W. Vision in Alzheimer's disease: a focus on the anterior afferent pathway. *Neurodegener Dis Management*. 2018; 8(1), 49–67.

Pike KE, Savage G, Villemagne VL, Ng S, Moss SA, Maruff P, ..., Rowe CC. ßamyloid imaging and memory in non-demented individuals: evidence for preclinical Alzheimer's disease. *Brain*. 2007;130(11),2837-2844.

Pool MS, Agyemang CO, Smalbrugge M. Interventions to improve social determinants of health among elderly ethnic minority groups: a review. *European J Public Health*. 2017; 27(6), 1048-1054.

Power JD, Barnes KA, Snyder AZ, Schlaggar BL, Petersen SE. Spurious but systematic correlations in functional connectivity MRI networks arise from subject motion. *NeuroImage*. 2012; 59, 2142–2154.

Power JD, Cohen AL, Nelson SM, Wig GS, Barnes KA, Church JA, ..., Petersen SE. Functional Network Organization of the Human Brain. *Neuron.* 2011; 72, 665–678.

Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento (PNUD). Desenvolvimento Humano para Além das Médias. Brasília: PNUD: IPEA: FJP; 2017.

Quarantelli M, Berkouk K, Prinster A, Landeau B, Svarer C, Balkay L, ..., Salvatore M. Integrated software for the analysis of brain PET/SPECT studies with partial-volume-effect correction. *J Nucl Med*. 2004; 45, 192-201.

Reinvang I, Espeseth T, Westlye LT. APOE-related biomarker profiles in nonpathological aging and early phases of Alzheimer's disease. *Neurosci Biobehav Rev.* 2013; 37, 1322–1335.

Risacher SL, Saykin AJ. Chapter 12 – Neuroimaging in aging and neurologic diseases. In: Dekosky ST, Ashtana S. *Handbook of Clinical Neurology, Volume 167 (Geriatric Neurology)*. Elsevier, 2019; 191-227.

Rodrigue KM, Kennedy KM, Park DC. Beta-amiloid deposition and the aging brain. *Neuropsychol Rev.* 2009; 19(4), 436-450.

Rondinoni C, Amaro E, Cendes F, Santos dos AC, Salmon CEG. Effect of scanner acoustic background noise on strict resting-state fMRI. *Braz J Med Biol Res.* 2013; 46, 359–367.

Rowe CC, Bourgeat P, Ellis KA, Brown B, Lim YY, Mulligan R, ..., Villemagne VL. Predicting Alzheimer disease with beta-amyloid imaging: results from the Australian imaging, biomarkers, and lifestyle study of ageing. *Ann Neurol* 2013; 74, 905–13.

Rypma B, D'Esposito M. Isolating the neural mechanisms of age-related changes in human working memory. *Nature Neurosci*. 2000; 3, 509–515.

Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D, St. George-Hyslop PH, Pericak-Vance MA, Joo BS, ..., Roses AD. Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurol.* 1993; 43, 1467–1472. Shen X, Tokoglu F, Papademetris X, Constable RT. Group-wise whole-brain parcellation from resting-state fMRI data for network node identification. *NeuroImage*. 2013; 82, 403–415.

Sie JH, Chen YH, Shiau YH, Chu WC. Gender- and Age-Specific Differences in Resting-State Functional Connectivity of the Central Autonomic Network in Adulthood. *Front Hum Neurosci.* 2019; 13, 369. doi: 10.3389/fnhum.2019.00369.

Singh A, Kukreti R, Saso L, Kukreti S. Oxidative Stress: A Key Modulator in Neurodegenerative Diseases. *Molecules*. 2019; 24(8), 1583.

Song J, Birn RM, Boly M, Meier TB, Nair VA, Meyerand ME, Prabhakaran V. Agerelated reorganizational changes in modularity and functional connectivity of human brain networks. *Brain Connect*. 2014; 4, 662–676.

Squarzoni P, Faria DP, Yassuda MS, Porto FHG, Coutinho AM, Costa NA, ..., Busatto GF. Relationship Between PET-Assessed Amyloid Burden and Visual and Verbal Episodic Memory Performance in Elderly Subjects. *J Alzheimers Dis*. 2020; 78, 229-244.

Stumme J, Jockwitz C, Hoffstaedter F, Amunts K, Caspers S. Functional network reorganization in older adults: Graph-theoretical analyses of age, cognition and sex. *NeuroImage*. 2020; 214, 116756.

Stebbins GT, Carrillo MC, Dorfman J, Dirksen C, Desmond JE, Turner DA, ..., Gabrieli JD. Aging effects on memory encoding in the frontal lobes. *Psychol Aging*. 2002; 17, 44–55. Thomas BA, Erlandsson K, Modat M, Thurfjell L, Vandenberghe R, Ourselin S, Hutton BF. The importance of appropriate partial volume correction for PET quantification in Alzheimer's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2011; 38, 1104-19.

Tomasi D, Volkow ND. Aging and functional brain networks. *Mol Psychiatry*. 2012; 17(471), 549–558.

Tzourio-Mazoyer N, Landeau B, Papathanassiou B, Crivello F, Etard O, Delcroix N, ..., Joliot M. Automated anatomical labeling of activations in SPM using a macroscopic anatomical parcellation of the MNI MRI single-subject brain. *NeuroImage*. 2002; 15, 273-289.

Van Buuren M, Gladden TE, Zandbelt BB, van den Heuvel, M Ramsey NF, ..., Vink M. Cardiorespiratory effects on default-mode network activity as measured with fMRI. *Hum Brain Mapp.* 2009; 30, 3031-42.

Van den Heuvel MP, Hulshoff Pol HE. Exploring the brain network: a review on resting-state fMRI functional connectivity. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2010; 20(8), 519-534.

Wang L, Laviolette P, O'Keefe K, Putcha D, Bakkour A, Van Dijk KR, ..., Sperling RA. Intrinsic connectivity between the hippocampus and posteromedial cortex predicts memory performance in cognitively intact older individuals. *NeuroImage*. 2010; 51, 910–917.

Wardlaw JM, Smith EE, Biessels GJ, Cordonnier C, Fazekas F, Frayne R, ..., Dichgans M; STandards for ReportIng Vascular changes on nEuroimaging

(STRIVE v1). Neuroimaging standards for research into small vessel disease and its contribution to ageing and neurodegeneration. *Lancet Neurol.* 2013; 12(8), 822-838. doi:10.1016/S1474-4422(13)70124-8.

Wirth M, Madison CM, Rabinovici GD, Oh H, Landau SM, Jagust WJ. Alzheimer's disease neurodegenerative biomarkers are associated with decreased cognitive function but not ß-amyloid in cognitively normal older individuals. *J Neurosci.* 2013; 33(13), 5553-5563.

Wu JT, Wu HZ, Yan CG, Chen WX, Zhang HY, He Y, Yang HS. Aging-related changes in the default mode network and its anti-correlated networks: a resting-state fMRI study. *Neurosci Lett.* 2011; 504, 62–67.

Wu T, Zang Y, Wang L, Long X, Hallett M, Chen Y, Li K, Chan P. Aging influence on functional connectivity of the motor network in the resting state. *Neurosci Letters*. 2007; 422, 164–168.

Wyss-Coray T. Ageing, neurodegeneration and brain rejuvenation. *Nature.* 2016; 539(7628), 180-186.

Yamane T, Ishii K, Sakata M, Ikari Y, Nishio T, Kato T, ..., Senda M; J-ADNI Study Group. Inter-rater variability of visual interpretation and comparison with quantitative evaluation of [11C]PiB-PET amyloid images of the Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (J-ADNI) multicenter study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2017; 44(5), 850-857. doi:10.1007/s00259-016-3591-2.

Yan L, Zhuo Y, Wang B, Wang DJ. Loss of coherence of low frequency fluctuations of BOLD FMRI in visual cortex of healthy aged subjects. *The Open Neuroimaging J.* 2011; 5, 105–111.

Yap KH, Manan HA, Sharip S. Heterogeneity in brain functional changes of cognitive processing in ADHD across age: A systematic review of task-based fMRI studies. *Behav Brain Res.* 2021; 397, 112888.

Yeo BTT, Krienen FM, Sepulcre J, Sabuncu MR, Lashkari D, Hollinshead M,, Buckner RL. The organization of the human cerebral cortex estimated by intrinsic functional connectivity. *J Neurophysiol*. 2011; 106, 1125–1165.

Zwan MD, Ossenkoppele R, Tolboom N, et al. Comparison of Simplified Parametric Methods for Visual Interpretation of ¹¹C-Pittsburgh Compound-B PET Images. *J Nucl Med.* 2014; 55, 1305-1307.

Zheng Z, Li R, Xiao F, He R, Zhang S, Li J. Intrinsic spontaneous brain activity predicts individual variability in associative memory in older adults. *Psych J*. 2018; 7(2), 77-91.