PEDRO PAIM SANTOS

Relação entre volume de substância branca cerebral e risco cardiovascular em idosos saudáveis: estudo de ressonância magnética usando morfometria baseada em voxel

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

São Paulo
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Santos, Pedro Paim

Relação entre volume de substância branca cerebral e risco cardiovascular em idosos saudáveis : estudo de ressonância magnética usando morfometria baseada em voxel / Pedro Paim Santos. -- São Paulo, 2016.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Psiquiatria.

Orientador: Geraldo Busatto Filho.

Descritores: 1.Neuroimagem 2.Imagem por ressonância magnética 3.Doenças cardiovasculares 4.Fatores de risco 5.Idoso 6.Cognição 5.Apolipoproteínas E

USP/FM/DBD-211/16

À Família.

AGRADECIMENTOS

Ao professor e orientador Geraldo Busatto Filho, pelo incentivo constante durante esses anos.

À doutora Patrícia Rzezak, por todo o auxílio e pela parceria nas questões cognitivas.

Aos colegas (funcionários, alunos e pós-graduandos) do Laboratório de Neuroimagem em Psiquiatria (LIM 21), por todo o apoio, bom humor e auxílio ao longo de toda essa etapa.

Aos voluntários desta pesquisa, que se dispuseram a colaborar com o nosso estudo.

Aos meus pais e a minha irmã por todo o apoio e suporte ao longo desses anos.

E, por último, mas não menos importante, à Giovanna, por todo apoio, incentivo e paciência na reta final.

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta dissertação 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 SIGLAS E ABREVIATURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO	2
1.1 Fatores de risco cardiovascular e o envelhecimento cerebral humano	2
1.2 Alterações da anatomia cerebral em populações idosas associadas a fatores de risco cardiovascular	3
1.3 Métodos para avaliação de volumes de substância branca cerebral usando dados de ressonância magnética do crânio	5
1.4 Avaliações volumétricas de substância branca cerebral em proporção ao risco cardiovascular usando ressonância magnética	5
1.5 Índices para avaliação combinada de fatores de risco cardiovascular na população idosa	7
1.6 A influência de polimorfismos do gene APOE sobre a anatomia cerebral e relação com fatores de risco cardiovascular	8
1.7 Áreas ainda não exploradas nos estudos de ressonância magnética realizados até hoje	8
2 OBJETIVOS	11
3 HIPÓTESES	13
4 METODOLOGIA - DESENHO EXPERIMENTAL	15
4.1 Fonte de recrutamento de sujeitos	15
4.2 Critérios de inclusão	15
4.3 Critérios de exclusão	16
4.4 Avaliação clínica, cognitiva e demográfica	16
4.5 Recrutamento da amostra	19
4.6 Cálculo do risco cardiovascular: escore de risco cardiovascular de Framingham (ERF)	19
4.7 APOE: método de genotipagem	20
4.8 Exame de ressonância magnética: aquisição das imagens	21

4.9 Processamento das imagens cerebrais	21
4.10 Análise estatística	22
4.10.1 Dados clínicos e demográficos	22
4.10.2 Análises dos dados de neuroimagem	23
5 RESULTADOS	26
5.1 Características demográficas, genéticas e cognitivas da amostra.....	26
5.2 Comparações entre grupos de volumes de substância branca	27
5.3 Influência do alelo APOEε4 no volume de substância branca	31
5.4 Correlações entre volumes regionais de substância branca e performance cognitiva.....	31
6 DISCUSSÃO.....	35
6.1 Síntese de resultados e originalidade do estudo	35
6.2 Localização cerebral das alterações volumétricas de substância branca	36
6.3 Influência da presença da variante gênica APOEε4 sobre alterações volumétricas de substância branca	37
6.4 Substrato patofisiológico das alterações volumétricas de substância branca.....	38
6.5 Alterações volumétricas de substância branca e déficits cognitivos	39
6.6 Limitações metodológicas.....	40
7 CONCLUSÃO	43
8 REFERENCIAS	45

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANCOVA	Análise de covariância
ANOVA	Análise de variância
APOE	Apolipoproteína E
APOE ϵ 2	Alelo épsilon 2 da apolipoproteína E
APOE ϵ 3	Alelo épsilon 3 da apolipoproteína E
APOE ϵ 4	Alelo épsilon 4 da apolipoproteína E
CCL	Comprometimento cognitivo leve
CERAD	<i>Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease</i>
COGSCORE	<i>Scoring System for the Cognitive Scale</i>
CSI-D	<i>Community Screening Instrument for Dementia</i>
DA	Demência de Alzheimer
Dartel	<i>The diffeomorphic anatomical registration using exponentiated lie algebra</i>
DFSCORE	<i>Discriminant Function Score</i>
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DP	Desvio padrão
DSM-IV	<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Edition</i>
DTI	<i>Diffusion-Tensor Imaging</i>
EDTA	<i>Ethylenediaminetetra-Acetic Acid</i>
ERF	Escore de Risco Cardiovascular de Framingham
F	Teste F
FOV	Campo de visão
FRCV	Fatores de Risco Cardiovascular
FRS	<i>Escore Framingham Coronary Heart Disease Risk</i>
FWE	<i>Family-Wise Error</i>
FWHM	<i>Full-Width at Half-Maximum</i>
GE	<i>General Eletric</i>

GMS	<i>Geriatric Mental State</i>
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HWE	<i>Hardy-Weinberg Equilibrium</i>
InRad	Instituto de Radiologia
Matlab	<i>Matrix Laboratory</i>
MNI	<i>Montreal Neurological Institute</i>
MRI	<i>Magnetic Resonance Imaging</i>
NEX	Número de Medidas
NYHA	<i>New York Heart Association</i>
PROGENE	Programa de Genética e Farmacogenética
QI	Quociente de Inteligência
RELSCORE	<i>Scoring System for the Informant Scale</i>
RI	Região de interesse
RM	Ressonância magnética
SB	Substância branca
SC	Substância cinzenta
SKT	<i>Short Cognitive Performance Test</i>
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
SPAH	<i>Sao Paulo Ageing & Health Study</i>
SPGR	<i>Spoiled Gradient Recalled Acquisition</i>
SPM 8	<i>Statistical Parametric Mapping, Version 8</i>
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
SVC	<i>Small Volume Correction</i>
VBM	<i>Voxel-Based Morphometry</i>
WASI	<i>Wechsler Abbreviated Scale of Intelligence</i>
X ²	Teste do chi-quadrado

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características demográficas, cognitivas e do genótipo APOE dos subgrupos estudados divididos de acordo com o seu risco cardiovascular avaliado por meio do escore de risco de Framingham.	26
Tabela 2	Comparações de volumes de substância branca entre grupos em regiões cerebrais em que diferenças foram previstas <i>a priori</i>	28

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Comparações voxel a voxel de volume de substância branca (SB) entre os 3 subgrupos divididos de acordo com o seu grau de risco cardiovascular, incluindo sexo, idade e anos de educação como covariáveis de confusão.....30
- Figura 2** Análise voxel a voxel investigando diferenças no padrão de correlações significativas entre o volume de substância branca (SB) e o escore de resposta inibitória entre os subgrupos com baixo, médio e alto risco cardiovascular (incluindo volume total de SB, sexo, idade e anos de educação foram covariáveis de confusão).....33

RESUMO

PAIM PS. *Relação entre volume de substância branca cerebral e risco cardiovascular em idosos saudáveis: estudo de ressonância magnética usando morfometria baseada em voxel* [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2016.

Os fatores de risco cardiovascular (FRCV) podem estar associados com pior funcionamento cognitivo em idosos e afetar a estrutura cerebral. Usando ressonância magnética (RM) e morfometria baseada em voxel (*voxel-based morphometry*; VBM), foram avaliados neste estudo volumes regionais de substância branca (SB) cerebral em uma amostra de base populacional de indivíduos saudáveis com idades entre 65-75 anos ($n = 156$). Usando o escore de risco de Framingham (ERF) como índice de risco cardiovascular, subdividimos a amostra total em três subgrupos de acordo com a gravidade de FRCV. Comparamos os volumes regionais cerebrais de SB entre estes grupos, e investigamos a relação entre volume de SB e desempenho cognitivo. Por fim, dada a possível influência de variações no gene que codifica a apolipoproteína E (APOE) sobre cognição, anatomia cerebral e FRCV, avaliamos possíveis mudanças nos resultados das análises volumétricas cerebrais dependendo da presença do alelo APOE ϵ 4. No subgrupo de alto risco, detectamos clusters com volume significativamente menor de SB na região pré-frontal direita dorsolateral juxtacortical em comparação com ambos os subgrupos de baixo e médio risco cardiovascular. Estes achados permaneceram os mesmos quando a análise estatística levou em conta a presença do alelo APOE ϵ 4 como covariável de confusão. O desempenho em tarefa cognitiva de controle inibitório foi inversamente correlacionado com o volume de SB pré-frontal direita, em proporção direta com o grau de risco cardiovascular. Redução significativa na SB parietal profunda também foi detectada bilateralmente no subgrupo de alto RCV em comparação com os outros dois subgrupos. Este é o primeiro estudo de VBM usando amostra grande de idosos a documentar a topografia de déficits volumétricos de SB associados com alto ERF em todo o cérebro. A associação significativa entre menor volume de SB e pior desempenho cognitivo em termos de resposta inibitória indica que as mudanças de volume de SB pré-frontal relacionadas com FRCV são clinicamente significativas, uma vez que o controle inibitório é uma operação cognitiva amplamente reconhecida por depender da integridade cortical pré-frontal.

Descritores: neuroimagem; imagem por ressonância magnética; doenças cardiovasculares; fatores de risco; idoso; cognição; apolipoproteínas E.

ABSTRACT

PAIM PS. Relationship between white matter volumes in the brain and cardiovascular risk in healthy elderlies: a magnetic resonance imaging study using voxel-based morphometry [Dissertação]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2016.

Cardiovascular risk factors (CVRF) may be associated with poor cognitive functioning in elderlies and affect brain structure. Using magnetic resonance imaging (MRI) and voxel-based morphometry (VBM), we assessed regional white matter (WM) volumes in a population-based sample of healthy individuals aged 65-75 years (n=156). Using the Framingham Risk Score (FRS) to assess the severity of CVRF, we subdivided the sample in three subgroups. We compared regional WM volumes in the brain between these subgroups, and investigated the relationship between WM volumes and cognitive performance. Also, given the possible influence of variations in the gene that code the apolipoprotein E (APOE) on cognition, brain anatomy and CVRF, we evaluate changes in the results of our volumetric analysis depending on the presence of the APOE ϵ 4 allele. In the high-risk subgroup, we detected one cluster of significantly reduced WM volume in the right juxtacortical dorsolateral prefrontal region compared to both low- and intermediate-risk subgroups. This finding remained unchanged when the analysis was repeated taking into account the presence of the APOE ϵ 4 allele as a confounding covariate. Inhibitory control performance was negatively related to right prefrontal WM volume, in direct proportion to the degree of CVRF. Significantly reduced deep parietal WM was also detected bilaterally in the high-risk CVRF subgroup. This is the first large VBM study documenting the topography of WM volume deficits associated with high FRS across the whole brain. The significant association regarding poor response inhibition indicates that prefrontal WM volume changes related to CVR are clinically meaningful, since inhibitory control is a cognitive operation widely known to rely on prefrontal cortical integrity.

Descriptors: neuroimaging; magnetic resonance imaging; cardiovascular diseases; risk factors; aged; cognition; apolipoproteins E.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Fatores de risco cardiovascular e o envelhecimento cerebral humano

O envelhecimento da população é um fenômeno em franca expansão. No Brasil, a participação de idosos na população geral aumentou significativamente nos últimos anos (IBGE, 2010). As projeções do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) sugerem que, até 2025, teremos mais de 30 milhões de pessoas com idade superior a 60 anos (IBGE, 2010). Com isto, o principal desafio em termos de saúde pública para o século XXI será o de lidar com o aumento da prevalência de quadros de declínio cognitivo associados ao envelhecimento, incluindo a doença de Alzheimer (DA), (a principal causa de demência no idoso) e o comprometimento cognitivo leve (CCL), quadro de perda cognitiva pré-demencial que apresenta índices de cerca de 12% ao ano de conversão para DA (Rusinek *et al.*, 2003; Godinho *et al.*, 2012). Independentemente de outros elementos, déficits cognitivos associados ao envelhecimento são importantes fatores preditivos de perda de qualidade de vida e autonomia, e aumento de mortalidade (Petersen *et al.*, 2010; Kochhann *et al.*, 2011; Makino *et al.*; Camozzato *et al.*, 2014; Mortamais *et al.*, 2014).

Fatores de risco cardiovascular (FRCV), incluindo dislipidemia, diabetes, tabagismo, hipertensão e obesidade, são altamente prevalentes em populações idosas. Além do evidente impacto de tais fatores de risco sobre a incidência e prognóstico de doenças cardiovasculares, como doença coronariana e acidente vascular encefálico (Feigin *et al.*, 2016; Naylor *et al.*, 2016), em anos recentes, os FRCV passaram a gerar interesse também do ponto de vista de seu impacto potencial sobre o funcionamento cerebral humano.

Diversos estudos têm demonstrado de forma inequívoca que os FRCV estão associados a déficits de desempenho cognitivo (Yaffe *et al.*, 2014; Schneider *et al.*, 2015). Além disso, vários modelos sugerem que a presença de FRCV aumentam a chance de um indivíduo vir a desenvolver tanto a DA quanto a demência vascular, segunda principal causa de demência em idosos, comumente associada a infartos isquêmicos e outras formas de comprometimento cerebrovascular (Luca *et al.*; Ohara *et al.*, 2015). Tem-se proposto que danos microvasculares cerebrais relacionadas a FRCV e alterações microcirculatórias associadas ao envelhecimento cerebral contribuem para a etiopatogênese de ambas as formas de demências, havendo, portanto, um *continuum* entre a DA e a demência vascular (Deak *et al.*; Wolters *et al.*, 2016).

1.2 Alterações da anatomia cerebral em populações idosas associadas a fatores de risco cardiovascular

Métodos de neuroimagem propiciam excelentes oportunidades para a investigação do envelhecimento do cérebro humano *in vivo* (Grady, 2008). Entre as técnicas mais usadas para esta finalidade, destaca-se a ressonância magnética (RM) estrutural, que permite avaliações morfométricas quantitativas detalhadas das diferentes estruturas cerebrais, com alto grau de resolução anatômica (Callaert *et al.*, 2014).

Ao longo de várias décadas, um grande número de estudos de RM tem avaliado a presença de alterações anatômicas cerebrais associadas à DA e ao CCL, gerando informações que contribuem significativamente para elucidar a fisiopatologia destes transtornos (Chetelat *et al.*, 2005; Bottino *et al.*, 2008; Risacher *et al.*, 2010; Hayden *et al.*, 2014). Tais estudos demonstraram consistentemente a presença de padrões de atrofia cortical desproporcional em portadores de DA e CCL, afetando, inicialmente, o hipocampo e outras estruturas têmporo-límbicas (Marquis *et al.*, 2002; Ferreira e Busatto, 2011) com propagação progressiva para áreas de neocórtex temporal, parietal e, subsequentemente, para o lobo frontal à

medida que se agravam as perdas cognitivas (Busatto *et al.*, 2003; Alexander *et al.*, 2006; Petersen e Jack, 2009; Moller *et al.*, 2014).

Um número considerável de estudos de RM nos últimos anos tem investigado o impacto de FRCV sobre a anatomia cerebral em populações idosas. Por exemplo, estudos de RM demonstraram a presença de alterações cerebrais macroestruturais relacionadas à gravidade de FRCV em grupos de idosos aparentemente saudáveis, incluindo infartos cerebrais silenciosos. Em diferentes populações, tais achados macrovasculares silenciosos estão presentes em até 20% de grupos de idosos, e associados a déficits cognitivos (Longstreth *et al.*, 1998; Vermeer *et al.*, 2007; Delgado *et al.*; Fanning *et al.*, 2014). Além disso, há também achados de redução volumétrica na substância cinzenta cerebral, mais comumente envolvendo as regiões frontais temporais e parietais (De Toledo Ferraz Alves *et al.*, 2011; Hayden *et al.*, 2014; Smith *et al.*, 2015).

Um outro campo importante de investigação de idosos usando RM do crânio diz respeito a pesquisas sobre hiperintensidades de substância branca (SB). Tais lesões refletem a presença de desmielinização e perda axonal, e são vistas como consequência de processo isquêmico crônico causado por microangiopatia (Pantoni e Garcia, 1997; Van Dijk *et al.*, 2002). Vários estudos, nos últimos anos, têm demonstrado que indivíduos idosos apresentam um excesso de hiperintensidades de SB, possivelmente como reflexo de lesões microvasculares (Söderlund *et al.*, 2003; Gouw *et al.*, 2011; Barker *et al.*, 2014). Tais lesões são, mais frequentemente, localizadas nas regiões frontais de SB, estando significativamente relacionadas com o grau de FRCV (Markus *et al.*, 2005; Kearney-Schwartz *et al.*, 2009; Williams *et al.*, 2010; Maillard *et al.*; Rostrup *et al.*, 2012; Homayoon *et al.*, 2013), sendo, geralmente, associadas à deterioração da função cognitiva (Au *et al.*, 2006; Knopman *et al.*; Debette *et al.*, 2011).

1.3 Métodos para avaliação de volumes de substância branca cerebral usando dados de ressonância magnética do crânio

Além das investigações citadas no item anterior, o uso de RM também permite medições volumétricas de tratos de SB cerebrais e comparações estatísticas entre grupos. A quantificação de alterações volumétricas de SB pode ser realizada por meio do uso de regiões de interesse (RIs) posicionadas manualmente em porções circunscritas de substância branca, como o corpo caloso (Tapp *et al.*, 2006; Kennedy e Raz, 2009), ou usando métodos automatizados que realizam comparações de volume cerebral regional voxel a voxel (Asami *et al.*, 2012; Zhang e Arfanakis, 2014). A metodologia mais usada para análises volumétricas cerebrais voxel a voxel é a morfometria baseada no voxel (*voxel-based morphometry*; VBM). O uso de VBM consiste em várias etapas de processamento de imagens entre as quais as principais são: segmentação automática das imagens em extratos separados de substância cinzenta, SB e líquido céfalo-raquidiano; e normalização espacial das imagens de todos os sujeitos de um estudo para o mesmo espaço anatômico padronizado de acordo com atlas estereotático (Ashburner e Friston, 2005). Depois destes processamentos, é possível comparar a concentração local (ou volume local) de SB e/ou substância cinzenta entre grupos de sujeitos para cada um dos milhares de voxels de todo o volume cerebral (Ashburner e Friston, 2000; 2001).

Em estudos volumétricos de RM, a redução de volumes de SB pode refletir tanto deficiências locais primárias da integridade estrutural dos tratos de SB quanto degeneração Walleriana secundária a anormalidades adjacentes na substância cinzenta (O'brien, 2014; Ito *et al.*, 2015).

1.4 Avaliações volumétricas de substância branca cerebral em proporção ao risco cardiovascular usando ressonância magnética

Um pequeno número de estudos de RM até hoje investigaram a presença de volumes anormais de SB em proporção com a gravidade dos

FRCV em amostras de sujeitos idosos. Enquanto alguns destes estudos usaram técnicas baseadas na delineação de RIs (Raz *et al.*, 2003; Last *et al.*, 2007), outros empregaram a metodologia de VBM (Walther *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2012; Moran *et al.*, 2013; Van Bloemendaal *et al.*, 2016).

Estes estudos de RM têm, frequentemente, relatado reduções cerebrais difusas ou em volumes regionais de SB em indivíduos idosos com hipertensão (Raz *et al.*, 2003) e diabetes tipo 2 (Last *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2012; Moran *et al.*, 2013), bem como, resultados variáveis de aumento (Walther *et al.*, 2010) ou redução (Van Bloemendaal *et al.*, 2016) nos volumes de SB em proporção ao aumento no índice de massa corporal em indivíduos com sobrepeso.

As mudanças volumétricas regionais de SB nos estudos de RM acima foram, mais frequentemente, reportadas no lobo frontal (Raz *et al.*, 2003; Last *et al.*, 2007; Walther *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2012; Moran *et al.*, 2013), bem como, nas regiões temporais (Walther *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2012; Moran *et al.*, 2013) e parietais (Walther *et al.*, 2010; Van Bloemendaal *et al.*, 2016) do encéfalo.

A revisão sintética da literatura descrita acima mostra que há uma grande escassez de estudos de RM avaliando volumes de SB em idosos, sendo este um campo que precisa ser mais explorado. Além disso, deve-se notar que, com exceção do estudo de Moran *et al.* (2013), que avaliaram 350 voluntários com diabetes *versus* 363 controles saudáveis, os demais estudos usaram amostras pequenas: Raz, Rodrigue e Acker, 2003 n=40, Last *et al.*, 2007, 26 com diabetes e 24 controles saudáveis, Chen *et al.*, 2012, 16 com diabetes e 16 controles saudáveis, Walther *et al.*, 2010, 95 voluntárias com sobrepeso e Van Bloemendaal *et al.*, 2016, 16 voluntários com sobrepeso e 16 controles saudáveis.

1.5 Índices para avaliação combinada de fatores de risco cardiovascular na população idosa

Os FRCV, incluindo dislipidemia, diabetes, tabagismo, hipertensão e obesidade, raramente, estão presentes isoladamente em populações idosas, sendo isto demonstrado em diversos estudos clínicos e epidemiológicos (Bangen *et al.*, 2013). Ao contrário, espera-se que a população de meia idade e idosa apresente mais de 40% de prevalência de diabetes ou intolerância à glicose (Passos *et al.*, 2005; Cdc, 2014), 26% de hipertensão (Cipullo *et al.*, 2010; Gillespie e Hurvitz, 2013) e 33% de dislipidemias (Souza *et al.*, 2003; Kuklina *et al.*, 2011). Portanto, as pesquisas nesta área são mais informativas quando avaliam os fatores de risco cardiovascular de forma integrada, utilizando escores de risco cardiovascular combinados.

A fim de contemplar o aspecto acima, estudos epidemiológicos nas últimas décadas têm usado índices que combinam diversos fatores de risco cardiovasculares em um único índice. O mais conhecido destes índices é o escore de risco cardiovascular de Framingham (ERF), publicado, originalmente, em 1951, por Dawber *et al.* (Dawber *et al.*, 1951). O ERF constitui uma medida composta que leva em conta vários fatores de risco (tais como idade, sexo, pressão arterial, tabagismo, colesterol total e níveis da lipoproteína de alta densidade, assim como, a presença de diabetes) (Wilson *et al.*, 1998). O índice ERF tem sido amplamente utilizado em estudos epidemiológicos de populações idosas (Jeerakathil *et al.*, 2004; Seshadri *et al.*, 2006; Seshadri e Wolf, 2007).

Recentemente, em um estudo de base populacional usando RM e VBM em indivíduos idosos com idade entre 65 e 75 anos (De Toledo Ferraz Alves *et al.*, 2011), o uso do ERF permitiu que os pesquisadores do laboratório no qual foi realizada a presente dissertação detectasse achados significativos de perda regional na substância cinzenta em proporção com o grau de risco cardiovascular (De Toledo Ferraz Alves *et al.*, 2011).

1.6 A influência de polimorfismos do gene APOE sobre a anatomia cerebral e relação com fatores de risco cardiovascular

Um fator de natureza genética, que pode afetar tanto o volume cerebral como o desempenho cognitivo em idosos saudáveis, é o polimorfismo do gene que codifica a apolipoproteína E (APOE) com suas três variações alélicas (alelos $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$) (Honea *et al.*, 2009).

Enquanto o alelo APOE $\epsilon 2$ parece exercer um efeito protetor sobre o envelhecimento cerebral e a cognição (Berlau *et al.*, 2009; Cole *et al.*, 2010; Berge *et al.*, 2014), tem sido demonstrado que a presença do alelo APOE $\epsilon 4$ pode ser um preditor de diminuições tanto do volume de substância cinzenta quanto do compartimento de SB cerebral (Wishart *et al.*, 2006; Yokoyama *et al.*, 2015; Dowell *et al.*, 2016). O alelo APOE $\epsilon 4$ também é o fator de risco genético que foi, até hoje, mais claramente associado à DA de início tardio (Albrecht *et al.*; Jack *et al.*, 2015).

Por fim, várias investigações demonstram que a presença do alelo APOE $\epsilon 4$ está associada a níveis elevados de colesterol (Bennet *et al.*, 2007) e, também, pode ser relacionada com outros FRCV, tais como diabetes do tipo II (Janson *et al.*, 2004) e dislipidemia (Perna *et al.*, 2016).

1.7 Áreas ainda não exploradas nos estudos de ressonância magnética realizados até hoje

Uma limitação das investigações de RM acima citadas sobre volumes de SB diz a respeito à falta de avaliação concomitante da presença do alelo APOE $\epsilon 4$. Este é um aspecto relevante, visto que estudos de RM anteriores sugerem que portadores do alelo APOE $\epsilon 4$ têm reduções mais proeminentes, tanto de SB quanto de substância cinzenta, sendo um fator de risco para dano cerebral em ambos os compartimentos (Adluru *et al.*; Tsao *et al.*, 2014).

Outra limitação diz respeito ao fato de que os estudos de RM anteriores investigaram volumes de SB avaliando o impacto isolado de um único FRCV (Last *et al.*, 2007; Gunstad *et al.*; Paul *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2012). Visto que, em uma alta proporção de idosos, os FRCV aparecem combinados (Razay *et al.*, 2007), esses fatores risco quando avaliados individualmente podem apresentar efeitos distintos sobre volumes de SB nos sujeitos (Walther *et al.*, 2010; Van Bloemendaal *et al.*, 2016).

Na presente dissertação, realizou-se uma investigação de RM na qual foi avaliada a presença de anormalidades volumétricas de SB em relação ao grau de FRCV em uma amostra numerosa, de base populacional, composta por voluntários idosos recrutados na cidade de São Paulo. Procurou-se contemplar ambos os aspectos citados acima, já que usamos um índice composto de risco cardiovascular (ERF), e coletamos amostras de DNA para a detecção da presença do alelo APOE ϵ 4 do gene que codifica a APOE.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

- (a) Investigar, utilizando desenho transversal, as características da perda de SB cerebral em idosos saudáveis de uma comunidade da cidade de São Paulo;
- (b) Investigar a relação entre perda regional de SB cerebral e o escore de risco cardiovascular de Framingham;
- (c) Investigar a influência de polimorfismo do gene codificador da APOE e de fatores de risco cardiovascular sobre os padrões de perda de SB;
- (d) Investigar a influência do risco cardiovascular e perda regional de SB cerebral sobre o desempenho cognitivo em idosos saudáveis.

3 HIPÓTESES

3 HIPÓTESES

- (a) Será detectada redução dos volumes de SB em sujeitos idosos com valores mais altos no ERF em regiões do lobo frontal, temporal e parietal;
- (b) A redução dos volumes de SB em indivíduos com maior risco cardiovascular estará diretamente relacionada ao pior desempenho cognitivo.

4 METODOLOGIA - DESENHO EXPERIMENTAL

4 METODOLOGIA - DESENHO EXPERIMENTAL

Este é um estudo de corte transversal que caracterizou as alterações volumétricas de SB investigadas por meio da RM estrutural em uma amostra de idosos acima de 65 anos, sem queixas cognitivas ou neurológicas, de uma comunidade da cidade de São Paulo.

4.1 Fonte de recrutamento de sujeitos

A amostra de base populacional foi originada do projeto de pesquisa “Alterações cerebrais associadas a fatores de risco cardiovascular: um estudo de base populacional usando morfometria voxel a voxel por ressonância magnética e medidas de metabolismo de glicose por tomografia por emissão de pósitrons” coordenado pelos Profs. Dr. Geraldo Busatto Filho e Profa. Tânia Correa de Toledo Ferraz Alves (processo FAPESP 2004/15336-5), selecionada a partir de um *pool* de 2072 idosos avaliados em estudo epidemiológico e clínico realizado no bairro de Butantã em São Paulo, denominado *São Paulo Health and Aging Study* (SPAH) (Scazufca *et al.*, 2007).

4.2 Critérios de inclusão

Idosos da comunidade entre 65 e 75 anos de idade sem queixas cognitivas ou neurológicas ao tempo da avaliação de RM.

4.3 Critérios de exclusão

- (a) Presença de quadro demencial primário de acordo com os critérios diagnósticos do DSM-IV e com base em algoritmo gerado pelo estudo SPAH para indivíduos entre 65 a 75 anos;
- (b) Presença de CCL, definido pela identificação de declínio cognitivo desproporcional em relação à média populacional (n=2072) de idosos da comunidade;
- (c) Presença de próteses de metal, marcapasso ou clip vascular;
- (d) História de claustrofobia;
- (e) Presença de condições médicas gerais clinicamente descompensadas, incluindo hipotireoidismo, doença hepática e insuficiência cardíaca grave (classe funcional III ou IV da NYHA), doença de Cushing, neoplasias (exceto câncer de pele não melanoma), insuficiência renal;
- (f) Presença de doenças neurológicas como doença de Parkinson e epilepsia;
- (g) História atual ou prévia de transtorno depressivo maior de acordo com os critérios diagnósticos do *International Statistical Classification-10th Revision Criteria* (ICD-10);
- (h) Presença de analfabetismo.

4.4 Avaliação clínica, cognitiva e demográfica

A identificação dos casos de demência e outros transtornos psiquiátricos seguiu o protocolo desenvolvido pelo “Grupo de Pesquisa em Demência 10/66” (Prince *et al.*; Scazufca *et al.*, 2007; Group, 2009). Este protocolo, desenvolvido para estudos transculturais, inclui uma avaliação estruturada neurológica e cardiológica, entrevista padronizada psiquiátrica

com o instrumento “Estado Mental Geriátrico” (*Geriatric Mental State*; GMS), e o “Instrumento para Rastreamento de Demência na Comunidade” (*Community Screening Instrument for Dementia*; CSI-D). O CSI-D consiste em um teste cognitivo com 32 itens aplicado ao participante (20 minutos) e uma entrevista realizada com um informante com 26 itens, questionando o funcionamento geral e de saúde do participante (Hall *et al.*, 1993). Todos os protocolos foram aplicados antes do exame de neuroimagem.

Três escores são gerados a partir do CSI-D: COGSCORE, uma pontuação ponderada do teste cognitivo do participante com 32 itens (sete itens de nomeação de objeto, quatro itens definição do objeto, duas tarefas categóricas de fluência verbal, repetição de palavra, identificação de pessoa famosa, orientação temporal e espacial, recordar três palavras, recordação de uma história curta, dois desenhos de interseção (círculos e pentágonos), e, também, a incorporação de duas tarefas do *Consortium to Establish a Registry for Alzheimer’s Disease* (CERAD): a lista de 10 palavras com aprendizagem e evocação tardia, e nomeação de animais (fluência verbal) (Copeland *et al.*, 1986); RELSCORE, que consiste em uma pontuação total não ponderada da entrevista do informante; e o escore da função discriminante (DFSCORE), uma pontuação ponderada combinando COGSCORE e RELSCORE (Prince *et al.*, 2003). A aplicação anterior do algoritmo combinado (DFSCORE) para a identificação de sujeitos com demência resultou em sensibilidade de 94%, com especificidade de 94% (sujeitos com baixa educação) e 97% (alta educação) (Prince *et al.*, 2003). Os valores de referência para a validação transcultural foi descrita em detalhe anteriormente (Prince *et al.*, 2003). O uso apenas do COGSCORE mostrou que a sensibilidade foi influenciada na identificação dos casos de demência (Prince *et al.*, 2003). Especificamente para a amostra total do SPAH (n = 2072), a utilização do algoritmo combinado levou à detecção de uma prevalência de demência de 5,1% (com um intervalo de confiança de 95%, de 4,1% a 6,0%), com uma frequência semelhante para homens e mulheres, e aumentando as taxas com a idade (Sczufca *et al.*, 2007). Os valores de referência para a amostra total do SPAH também foram descritos

previamente, com sujeitos agrupados de 5 em 5 anos com idade entre 65 a 84 anos e um grupo com idosos a partir de 85 anos ou mais (Scazufca *et al.*, 2007). Foram excluídos do presente estudo os casos de demência com base no algoritmo composto gerado pelo estudo SPAH nos indivíduos entre 65 a 75 anos. Após a exclusão dos participantes com demência e aqueles com mais de 75 anos, a média do COGSCORE da amostra de idosos do SPAH com idade entre 65 a 75 anos ($n = 1101$) foi de 27,83 ($DP = 3.23$). A fim de excluir, também, aqueles indivíduos que apresentavam declínio cognitivo desproporcionalmente maior do que seria normalmente esperado para a faixa etária da amostra e seu meio ambiente, compatíveis com diagnóstico de CCL; utilizamos um limiar arbitrário definido como a média do desempenho cognitivo do COGSCORE de 1,5 desvio padrão abaixo do desempenho médio calculado para todos os sujeitos entre 65 e 75 anos de idade a partir da amostra original do SPAH ($COGSCORE [m - (1.5 \times DP) = 22.99]$) (Scazufca *et al.*, 2007).

Dados de escolaridade para cada sujeito foram extraídos a partir do banco de dados do estudo SPAH. Consideramos 4 anos de estudo se os indivíduos tivessem concluído a 4ª série, 8 anos se tivessem concluído a 8ª série, 11 anos se tivessem concluído o ensino médio, e 15 anos se tivessem concluído curso de graduação em faculdade.

No dia do exame de RM, os indivíduos foram também submetidos a uma avaliação cognitiva breve (10 minutos) usando o Teste Breve de Performance Cognitiva (*Short Cognitive Performance Test*; SKT), validado no Brasil por Flaks *et al.* (2006) (Flaks *et al.*, 2006). O SKT dá pontuação de desempenho cognitivo global, bem como subescores de memória e atenção, sendo que escores mais elevados indicam maior comprometimento cognitivo (Lehfeld *et al.*, 1997). Por fim, estimativas de coeficiente de inteligência (QI) foram obtidas em todos os sujeitos utilizando o *Wechsler Abbreviated Scale of Intelligence* (WASI).

4.5 Recrutamento da amostra

Dentro do banco inicial de idosos sem demência do estudo SPAH (n=2072), foram identificados 1.076 sujeitos entre 66 e 75 anos potencialmente elegíveis para o presente estudo. A partir deste banco, foram excluídos os indivíduos com história de doenças neurológicas ou depressão maior (n=52), bem como, aqueles com dados clínicos faltantes (n=107). Contatos telefônicos foram feitos com os sujeitos restantes, a fim de se checar a presença de contraindicações para a realização do exame de RM e para excluir história de trauma crânio-encefálico grave. Não foi possível localizar um total de 103 sujeitos. Entre os que foram localizados, foram excluídos 206 sujeitos que preencheram os critérios de exclusão, resultando num total de 608 sujeitos que poderiam ser convidados para realizar o exame de RM. Um número total de 306 indivíduos foram convidados, e 52 se recusaram a participar, resultando num grupo de 254 idosos sem demência (134 mulheres e 114 homens) que realizaram o exame de RM. Destes, 68 sujeitos foram excluídos do presente estudo pelos seguintes motivos: CCL; malformações vasculares; infartos cerebrais silenciosos identificados no exame de RM; meningioma; ou artefatos durante a aquisição das imagens. Por fim, excluímos 30 sujeitos que não realizaram genotipagem APOE. Desta forma, a amostra final para a presente investigação foi constituída de 156 sujeitos.

4.6 Cálculo do risco cardiovascular: escore de risco cardiovascular de Framingham (ERF)

O ERF é um modelo de predição de risco para doença cardiovascular e tem sido amplamente utilizado em estudos epidemiológicos de população idosa (Jeerakathil *et al.*; Seshadri *et al.*, 2004; Debette *et al.*, 2011), bem como, em estudos de corte transversal (Jefferson *et al.*, 2011) e longitudinais (Kaffashian *et al.*; Laughlin *et al.*, 2011) que investigam o declínio cognitivo no processo de envelhecimento associado ao risco cardiovascular. Por fim, o

ERF tem sido usado também em estudos com RM estrutural avaliando a associação entre as alterações cerebrais vasculares e doença cardiovascular (Williams *et al.*, 2010; Debette *et al.*, 2011).

O ERF é uma medida combinada única (em porcentagem) indicativa do risco cardiovascular para os próximos 10 anos de um indivíduo (Wilson *et al.*, 1998) levando em conta vários fatores de risco, como: idade, gênero, pressão arterial (mmHg), tabagismo, diabetes melitus e colesterol (frações de lipoproteínas de baixa densidade e de alta densidade) (Dawber, 1980; Farmer *et al.*, 1990). Com base na mensuração do grau de risco cardiovascular usando o ERF, os indivíduos selecionados para o presente estudo foram divididos em subgrupos de baixo (<9%), médio (10 - 19%) e alto risco (>20%) (Wilson *et al.*, 1998; D'agostino *et al.*, 2008).

4.7 APOE: método de genotipagem

Para a genotipagem da APOE, o ácido desoxirribonucleico (DNA) genômico foi extraído do sangue anticoagulado com EDTA (*Ethylenediaminetetra-Acetic Acid*) utilizando um método padrão de *salting-out* (Miller *et al.*, 1988). Os polimorfismos de nucleotídeo único [*Single Nucleotide Polymorphism* (SNPs)] rs 429358 e rs7412 que determinam as três isoformas do APOE (APOE ϵ 2, APOE ϵ 3 e APOE ϵ 4) foram genotipadas pelo *Prevention Genetics* (www.preventiongenetics.org) utilizando o sistema de genotipagem SNP Amplifluor (*Chemicon International, Temecula, California*). Os testes para o desvio de Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) foram realizados para toda a amostra do SPAH, e a distribuição para os dois loci que foram testados não desviaram do HWE.

Em relação aos procedimentos para o controle de qualidade, a genotipagem de todos os sujeitos foi realizada no laboratório do Programa de Genética e Farmacogenética (PROGENE, Departamento de Psiquiatria da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo), antes do envio para o *Prevention Genetics*. O grau de discrepância entre a genotipagem da

Progene e a da *Prevention Genetics* foi abaixo de 2% e, neste estudo, utilizamos as análises feitas pela *Prevention Genetics*. Foi considerado o *status* positivo para APOE ϵ 4 com a presença de, no mínimo, um alelo ϵ 4 no genótipo, incluindo tanto portadores heterozigotos como homozigotos. Dados referentes à distribuição e ao impacto dos alelos APOE ϵ 2 e APOE ϵ 4 na amostra idosa aqui relatada foram publicados anteriormente (Squarzoni *et al.*, 2012).

4.8 Exame de ressonância magnética: aquisição das imagens

Os dados de RM estrutural foram adquiridos no Setor de Ressonância Magnética do Instituto de Radiologia (InRad) do HC-FMUSP, usando aparelho GE Signa 1,5T. O protocolo de aquisição consiste em uma sequência de imagens gradiente eco 3D (*Spoiled Gradient Recalled Acquisition* – SPGR), com TE 5,2 ms, TR 21,7 ms, ângulo 20 graus, campo de visão (FOV) 22 cm, espessura de corte 1,5 mm, número de medidas (NEX) de 1, tamanho da matriz de aquisição 256 X 192, para obter 124 imagens englobando todo o cérebro; uma sequência axial T2 *fast spin echo* com 88 imagens; e uma sequência de *spin echo* em duplo pulso para obtenção de imagens no plano axial em T2 e em densidade de prótons com 120 imagens, ambas com o intuito de detectar lesões neurorradiológicas grosseiras (axial PD/T2).

4.9 Processamento das imagens cerebrais

Para o presente estudo, foi usada a metodologia de morfometria baseada em voxel (*voxel-based morphometry*; VBM), com imagens de RM processadas pelo programa SPM 8 (*Statistical Parametric Mapping*), Wellcome Department of Imaging Neuroscience Group, London, UK; (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm>), executado no Matlab 2012a

(www.mathworks.com/products/matlab/). Primeiramente, as imagens foram orientadas para a convenção neurológica, e tiveram a comissura anterior definida como ponto de origem adequado ao padrão tridimensional de coordenadas (x,y,z) do MNI (*Montreal Neurological Institute*). Todas as imagens foram segmentadas (substância cinzenta, SB e líquido cefalorraquidiano) utilizando os parâmetros do protocolo de segmentação unificada (Ashburner e Friston, 2005). Em seguida, as imagens foram processadas utilizando a caixa de ferramenta “Dartel” [*The diffeomorphic anatomical registration using exponentiated lie algebra* (<http://dbm.neuro.uni-jena.de/vbm/>)]. O registro de imagens difeomórfico implementado prevê uma melhor precisão anatômica comparada aos métodos anteriores de VBM (Ashburner, 2007). Outro passo adicional que foi realizado é a “modulação”, que consiste em aplicar o determinante Jacobiano a cada imagem de SB normalizada espacialmente para o seu volume relativo antes da normalização, que garante que a quantidade total de SC em cada voxel seja preservada. Por último, as imagens resultantes foram suavizadas com filtro gaussiano isotrópico de 8 mm *full-width at half-maximum* (FWHM) para assegurar uma distribuição normal dos dados como exigido pelos testes estatísticos paramétricos.

4.10 Análise estatística

4.10.1 Dados clínicos e demográficos

As comparações estatísticas dos dados demográficos e genéticos dos três subgrupos foi realizada utilizando o *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) para Windows (versão 17.0). O teste qui-quadrado foi usado para variáveis categóricas, enquanto a análise de variância (ANOVA) foi utilizada para as variáveis contínuas. O nível de significância estatística foi fixado em $p < 0,05$, bicaudal.

4.10.2 Análises dos dados de neuroimagem

Comparações voxel a voxel dos volumes regionais de SB em todo o cérebro foram realizadas entre os 3 subgrupos divididos de acordo com o risco cardiovascular, utilizando um modelo de ANCOVA. Volume total de SB no cérebro, sexo, idade e anos de estudo foram incluídos como variáveis de confusão. Os volumes totais de SB foram calculados a partir das imagens segmentadas de cada sujeito em espaço nativo, pelo script `get_totals` do MATLAB (http://www.cs.ucl.ac.uk/staff/g.ridgway/vbm/get_totals.m) implementado para o SPM8. Além disso, a fim de investigar se os nossos achados de VBM foram influenciados por variações do gene da APOE, repetiu-se a ANCOVA incluindo a presença do alelo APOE ϵ 4 como uma covariável adicional. Achados significativos da ANCOVA foram seguidos com testes *t post-hoc* comparando subgrupos dois a dois.

Em todas as análises acima, os valores estatísticos resultantes para cada voxel de todo o compartimento de SB foram transformados em escores *Z* e exibidos como mapas estatísticos paramétricos (*statistical parametric maps*; SPMs) em espaço padrão MNI, usando um limiar estatístico inicial de $Z > 3,09$ (correspondente a $p < 0,001$, não corrigido para comparações múltiplas), com extensão mínima de 50 voxels contíguos por cluster. A inferência estatística a partir destes mapas foi realizada em dois níveis. Inicialmente, inspecionamos os SPMs resultantes das ANCOVAs usando um limiar estatístico rigoroso de $p < 0,05$ corrigido para comparações múltiplas ao longo de todo o cérebro usando *family-wise error* (FWE). Em seguida, usamos a estratégia menos conservadora de aplicar correção para pequenos volumes (*small volume correction*; SVC) especificamente nas regiões frontais, temporais e parietais de SB, nas quais previmos *a priori* que haveria diferenças significantes no volume de SB em proporção ao grau de risco cardiovascular. Análises estatísticas baseadas em SVC foram conduzidas utilizando um limiar FWE-corrigido de $p < 0,05$ em relação ao volume de cada região de interesse, com um limite mínimo de tamanho de cluster de 50 voxels contíguos.

Para as análises baseadas em SVC, regiões de interesse na SB foram espacialmente delineadas pela aplicação de esferas com raio de 20 mm nas regiões pré-frontal dorsolateral, orbitofrontal, e temporal lateral. Além disso, uma região de interesse de SB parietal foi espacialmente delimitada com uma esfera de raio de 30 mm. Todas as esferas foram posicionadas nos dois hemisférios cerebrais. Os pontos centroides dessas esferas foram definidos visualmente, com base no conhecimento anatômico extraído do *MRI Atlas of the Human White Matter* (Mori *et al.*, 2008), usando coordenadas do sistema de Talairach e Tournoux. As coordenadas x, y, z dos centroides para cada esfera (hemisférios direito e esquerdo) foram os seguintes: área pré-frontal dorsolateral = 29,25,25 e -29,25,25; área orbitofrontal = 24,47,11 e -24,47,11; área temporal lateral = 39, -39,14 e -39, -39,14; e área parietal = 25, -33,35 e -25, -33,35.

Além das comparações entre grupos acima, análises de correlações voxel a voxel foram realizadas entre os volumes regionais de SB e o desempenho cognitivo segundo os escores do SKT, sempre incluindo volume total de SB, sexo, idade e anos de educação como covariáveis de confusão. Além disso, a fim de avaliar estatisticamente se os FRCV influenciam significativamente o padrão de relação entre o volume de SB regional e o desempenho cognitivo, incluímos "subgrupo ERF" como uma variável preditora nas análises que investigaram a presença de correlações significativas entre os volumes de SB e a pontuação do desempenho cognitivo nos subgrupos com baixo, médio e alto risco cardiovascular. Esta análise foi realizada em busca de voxels nos quais pudesse haver diferença significativa entre os três subgrupos no padrão das correlações entre volume de SB e cognição. Tais análises foram realizadas com a pontuação total do SKT, bem como separadamente para os subescores de memória, atenção e inibição de resposta.

Ao relatarmos achados significativos de todas as análises voxel a voxel acima, converteremos as coordenadas MNI dos voxels com significância estatística máxima para o sistema de Talairach e Tournoux (Brett *et al.*, 2002).

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 Características demográficas, genéticas e cognitivas da amostra

A Tabela 1 apresenta as características demográficas, cognitivas e características genótípicas da APOE para toda a amostra (n = 156).

Tabela 1 - Características demográficas, cognitivas e do genótipo APOE dos subgrupos estudados divididos de acordo com o seu risco cardiovascular avaliado por meio do escore de risco de Framingham.

	Baixo risco (n=40)	Médio risco (n=61)	Alto risco (n=55)	Teste estatístico	Significância estatística
Masculino/ Feminino	8/32	23/38	47/8	X ² =45,743	0,001
Idade média (±DP) em anos	70,35 (2,28)	70,07 (2,30)	70,60 (2,39)	F=0,762	0,468
Anos de educação (média ±DP)	4,65 (3,40)	5,26 (4,04)	4,15 (3,41)	F=1,346	0,263
APOEε4 positivo/negati vo	9/31	17/44	12/43	X ² =0,676	0,713
QI estimado (média ±DP)	78,7 (12,89)	76,15 (8,57)	76,62 (10,18)	F=0,779	0,461
Escore SKT total (média ±DP)	5,98 (4,31)	6,62 (3,95)	5,25 (4,20)	F=1,580	0,209
Subscore memória (média ±DP)	0,9 (1,12)	0,85 (1,09)	0,78 (1,01)	F=0,147	0,863
Subscore atenção (média ±DP)	5,07 (3,82)	5,77 (3,64)	4,47 (4,01)	F=1,672	0,191
Subescala atenção (média ±DP)	0,55 (0,81)	0,54 (0,67)	0,42 (0,73)	F=0,530	0,590
Subescala inibição de resposta (média ±DP)	1,3 (1,15)	1,52 (1,10)	1,13 (1,05)	F=1,897	0,154

APOEε4, alelo epsilon 4 do gene que codifica a apolipoproteína E; QI, quociente de inteligência; DP, desvio padrão SKT, Short Cognitive Performance Test; X², teste do chi-quadrado; F, teste F

Observou-se um desequilíbrio de gênero entre os três subgrupos ($p = 0,001$), com uma predominância de mulheres no subgrupo de baixo risco e uma maior prevalência de homens no subgrupo de alto risco. Não houve outras diferenças significativas entre os grupos, tanto em relação aos dados demográficos quanto aos dados genéticos da APOE (Tabela 1).

Os resultados das comparações cognitivas entre os 3 subgrupos também são apresentados na Tabela 1. Não houve diferenças significativas entre os grupos em nenhuma das medidas baseadas em SKT ou em relação ao QI estimado (Tabela 1).

5.2 Comparações entre grupos de volumes de substância branca

O volume total médio obtido a partir das imagens segmentadas de SB foi de $463,14 \pm 43,13$ mililitros na amostra de idosos investigados. Não houve diferenças significativas no volume total de SB entre os 3 subgrupos (ANCOVA, $F = 4,24$, $p = 0,16$).

Tabela 2 - Comparações de volumes de substância branca entre grupos em regiões cerebrais em que diferenças foram previstas *a priori*.

Região cerebral	Tamanho do Cluster ^a	Z escore máximo ^b	Coordenadas x,y,z ^c	P _{FWE} corrigido ^d
<i>Volume de SB maior no subgrupo de baixo risco em comparação ao subgrupo de alto risco</i>				
Região pré-frontal dorsolateral juxtacortical direita	170	3,75	36 31 14	0,027
Região parietal profunda direita	108	3,95	30 -46 37	0,041
<i>Volume de SB maior no subgrupo risco intermediário em comparação ao subgrupo de alto risco</i>				
Região pré-frontal dorsolateral juxtacortical direita	220	4,15	42 31 17	0,020
Região parietal profunda esquerda	380	4,20	-20 -53 22	0,017
Região parietal profunda direita	578	4,30	30 -46 37	0,011
<i>Volume de SB maior no subgrupo de baixo risco em comparação ao subgrupo de alto risco incluindo o polimorfismo APOEε4 como covariável de confusão</i>				
Região pré-frontal dorsolateral juxtacortical direita	190	3,73	36 31 14	0,025
Região parietal profunda direita	112	3,96	30 -46 37	0,040
<i>Volume de SB maior no subgrupo risco intermediário em comparação ao subgrupo de alto risco incluindo o polimorfismo APOEε4 como covariável de confusão</i>				
Região pré-frontal dorsolateral juxtacortical direita	218	4,13	42 31 17	0,021
Região parietal profunda esquerda	365	4,18	-20 -53 22	0,019
Região parietal profunda direita	557	4,28	30 -46 37	0,013

APOEε4, alelo epsilon 4 do gene que codifica a apolipoproteína; SB, substância branca.

^aNúmero de voxels contíguos que ultrapassaram o limiar inicial de $p < 0,001$ (não corrigido para comparações múltiplas) nos mapas estatísticos paramétricos. ^bEscore Z para o voxel de máxima significância estatística. ^cCoordenadas do atlas de Talairach e Tournoux (1998) do voxel de máxima significância estatística dentro de cada cluster. ^dSignificância estatística após correção para comparações múltiplas utilizando a abordagem de correção de pequeno volume; inferências foram feitas ao nível dos voxels individuais (FWE, *family-wise error correction*).

Em relação à análise de VBM, a inspeção do SPM para a comparação de volumes regionais ANCOVA de SB entre os 3 subgrupos (filtrado na probabilidade limite de $p < 0,001$ e com um limiar de extensão de 50 voxels contíguos) mostrou três clusters de voxel com diferença entre grupos, localizados, respectivamente, na região pré-frontal dorsolateral juxtacortical direita e, bilateralmente, nas regiões parietais profundas de SB (Figura 1). Embora nenhum dos achados ANCOVA tenha sido significativo com o uso estrito da correção FWE para comparações múltiplas ao longo de todo o cérebro ($p < 0,05$), a significância estatística foi alcançada para todos os três resultados quando utilizamos a abordagem SVC, incluindo: região pré-frontal dorsolateral juxtacortical direita ($F = 9,79$, $z = 3,72$, 89 voxels, FWE corrigida $P = 0,039$), a região parietal profunda esquerda ($F = 11,21$, $Z = 4,02$, 132 voxels, FWE corrigida $p = 0,041$) e a região parietal profunda direita ($F = 11,26$, $Z = 4,03$, 96 voxels, FWE corrigida $p = 0,039$). A Tabela 2 apresenta os resultados das comparações grupo a grupo *post-hoc* usando a abordagem SVC, que mostraram uma redução significativa do volume de SB no subgrupo de alto risco, em comparação com os outros dois subgrupos na região pré-frontal dorsolateral juxtacortical direita e bilateralmente na região parietal.

Figura 1 - Comparações voxel a voxel de volume de substância branca (SB) entre os 3 subgrupos divididos de acordo com o seu grau de risco cardiovascular, incluindo sexo, idade e anos de educação como covariáveis de confusão.

A figura destaca (em amarelo) três focos de diferença de volume de SB entre os subgrupos, sobrepostos a cortes cerebrais transaxiais, espacialmente normalizados para uma aproximação ao atlas estereotático de Talairach e Tournoux. Estes focos estão localizadas na região pré-frontal dorsolateral juxtacortical direita de SB e, bilateralmente, nas regiões parietais profundas. O mapa estatístico paramétrico foi filtrado em $p < 0,001$ (não corrigido para comparações múltiplas), com extensão mínima de 50 voxels no cluster. Todos os resultados mantiveram significância estatística quando foi feita correção para comparações múltiplas usando a estratégia de correção para pequenos volumes ao nível dos voxels individuais (FWE, *family-wise error correction*), $p = 0,05$. Comparações *post-hoc* de dois grupos mostraram uma redução significativa do volume de SB no subgrupo de alto risco, em comparação com os subgrupos de baixo risco e de risco intermediário nas três regiões (ver detalhes estatísticos para essas comparações na Tabela 2).

5.3 Influência do alelo APOE ϵ 4 no volume de substância branca

Resultados similares aos acima relatados foram obtidos quando se repetiu a comparação ANCOVA dos volumes regionais de SB em todo o cérebro entre o 3 subgrupos, incluindo a presença do alelo APOE ϵ 4 como covariável. Houve três clusters de diferença significativa entre os subgrupos, novamente localizados na região pré-frontal dorsolateral juxtacortical direita e, bilateralmente, nas regiões parietais profundas de SB. Embora nenhum dos achados ANCOVA tenham sido significativos com o uso estrito da correção FWE para comparações múltiplas ao longo de todo o cérebro ($p < 0.05$), a significância estatística foi alcançada para todos os três resultados quando utilizamos a abordagem SVC, incluindo: região pré-frontal dorsolateral juxtacortical direita ($F = 9,80$, $Z = 3,72$, 90 voxels, FWE corrigida $p = 0,039$), a região parietal profunda esquerda ($F = 10,94$, $Z = 3,96$, 116 voxels, FWE corrigida $p = 0,050$) e a região parietal profunda direita ($F = 11,20$, $Z = 4,02$, 97 voxels, FWE corrigida $p = 0,041$). Como mostrado na Tabela 2, testes-t *post-hoc* revelaram que o volume de SB nestas três regiões foi reduzido no subgrupo de alto risco, em comparação com os outros dois subgrupos quando o efeito da presença do alelo APOE ϵ 4 foi covariado.

Independentemente dos FRCV, não foram encontradas diferenças significativas no volume total de SB entre os portadores ($n = 38$) e não portadores do alelo APOE ϵ 4 ($n = 118$) (ANCOVA, $F = 1,97$, $p = 0,46$). Também não houve diferenças significativas de volume regional de SB quando comparamos os portadores do alelo APOE ϵ 4 ($n = 38$) com os não portadores ($n = 118$).

5.4 Correlações entre volumes regionais de substância branca e performance cognitiva

Usando o SPSS para investigar se os déficits cognitivos estavam associados com perda global de SB, não houve resultados estatisticamente

significativos ao calcularmos os coeficientes de correlações parciais entre volume total de SB e: escores totais de SKT; subescore atenção do SKT; subescore inibição do SKT; ou subescore memória do SKT ($r < 0,30$, $p > 0,82$). Posteriormente, as mesmas análises foram repetidas separadamente para cada um dos três subgrupos e, também, não houve resultados estatisticamente significativos.

Em relação à análise do VBM, a busca voxel a voxel de correlações entre volumes regionais de SB e performance cognitiva não resultou em nenhum achado significativo para qualquer um dos 4 índices cognitivos avaliados.

Finalmente, as análises incluindo "*status* dos subgrupos ERF" como variável preditora, a fim de avaliar estatisticamente a influência do FRCV na relação do volume de SB, e o desempenho cognitivo nos três subgrupos mostraram um foco de interação ($F = 13,30$; $P_{fwe} = 0,003$ SVC corrigido para múltiplas comparações) localizado na região pré-frontal dorsolateral juxtacortical direita para a análise de subescore de inibição de resposta do SKT (coordenadas 43, 29, 17; 243 voxels). Este achado é exibido na Figura 2. A inspeção *post-hoc* deste resultado indicou que houve um maior grau de correlação inversa entre o volume de SB e desempenho de inibição de resposta no SKT na região pré-frontal direita no grupo de alto risco em relação ao grupo de baixo risco. Não houve outros achados de interação significativa para os outros resultados dos testes cognitivos.

Figura 2 - Análise voxel a voxel investigando diferenças no padrão de correlações significativas entre o volume de substância branca (SB) e o escore de resposta inibitória entre os subgrupos com baixo, médio e alto risco cardiovascular (incluindo volume total de SB, sexo, idade e anos de educação foram covariáveis de confusão).

Os achados foram sobrepostos a cortes transaxiais espacialmente normalizadas para uma aproximação ao atlas estereotático de Talairach e Tournoux, filtrados em $p < 0,001$ (não corrigido para comparações múltiplas), com uma extensão mínima de 50 voxels no cluster. A figura destaca (em amarelo) um foco de interação localizado na região pré-frontal dorsolateral juxtacortical direita de SB (243 voxels, $p = 0,003$ corrigido para comparações múltiplas usando correção para pequenos volumes). A inspeção *post-hoc* deste resultado indicou que houve um maior grau de correlação inversa entre o volume de SB e escore de resposta inibitória na região pré-frontal direita no grupo de alto risco em relação ao grupo de baixo risco.

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

6.1 Síntese de resultados e originalidade do estudo

Até onde vai o nosso conhecimento, este é o primeiro estudo de morfometria voxel a voxel por RM de base populacional em idosos que investigou a presença de variações de volume de SB usando o ERF como uma medida composta de risco cardiovascular. A amostra avaliada estava livre de demência, CCL e lesões macrovasculares cerebrais silenciosas.

Análises voxel a voxel de volumes regionais de SB permitem a avaliação da distribuição topográfica de alterações de SB associadas a FRCV ao longo de todo o cérebro, proporcionando, assim, informações complementares às investigações de RM macroestruturais das hiperintensidades de SB (Smith *et al.*, 2010; Gebeily *et al.*, 2014; Nunley *et al.*, 2015), dos infartos cerebrais (Launer *et al.*, 2015; Petrou *et al.*, 2016) e das anormalidades volumétricas de substância cinzenta (Freedman *et al.*, 2015; Kharabian Masouleh *et al.*, 2016) relacionadas aos FRCV.

Os achados das comparações entre subgrupos aqui relatados confirmaram uma das hipóteses da dissertação, indicando que idosos com alto risco cardiovascular apresentam déficits de volume regional de SB, sendo tais alterações localizadas nos lobos frontais e parietais. Além disso, os resultados da análise de correlação com o desempenho cognitivo também confirmaram nossa hipótese ao mostrarem correlação mais significativa entre o volume reduzido de SB na região pré-frontal dorsolateral e pior desempenho cognitivo (especificamente no aspecto de inibição de resposta) no subgrupo de alto risco cardiovascular.

6.2 Localização cerebral das alterações volumétricas de substância branca

Os achados de diminuição no volume de SB em associação com alto risco cardiovascular no presente estudo foram seletivos para a região pré-frontal dorsolateral juxtacortical direita, e, bilateralmente, nas regiões parietais profundas de SB. Não foram detectadas diferenças entre grupos em qualquer outra região cerebral, tampouco no volume cerebral total de SB. Este padrão de resultados sugere uma predileção por anormalidades vasculares relacionadas à SB serem localizadas nos lobos frontais e em regiões parietais (Tullberg *et al.*, 2004).

Em estudos anteriores de morfometria cerebral por RM que investigaram volumes de SB em relação a FRCV avaliados isoladamente, os achados têm sido mais amplos, envolvendo o lobo temporal e outras regiões cerebrais (Walther *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2012; Moran *et al.*, 2013; Van Bloemendaal *et al.*, 2016). É pouco provável que a ausência de resultados em regiões cerebrais adicionais de SB no presente estudo pudesse ser atribuída a erros do tipo II relacionados ao tamanho amostral, pois a amostra populacional aqui estudada é maior do que a maioria dos estudos anteriores (Walther *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2012; Van Bloemendaal *et al.*, 2016). Considerando sugestões anteriores que FRCV separadamente pode apresentar efeitos distintos sobre volumes de SB (Walther *et al.*, 2010; Van Bloemendaal *et al.*, 2016), os nossos resultados podem indicar que, quando é usada uma medida de risco cardiovascular combinada como o ERF, é possível que o padrão seletivo de anormalidades frontais e parietais na SB são os que mais se destacam em termos de uma maior significância estatística.

No lobo frontal, os achados de variação volumétrica de SB do presente estudo tiveram localização dirigida somente ao hemisfério direito. Este padrão unilateral pré-frontal é consistente com a predileção hemisférica de achados de alterações vasculares relacionadas ao envelhecimento cerebral em estudos anteriores (Ito *et al.*, 2008). Além disso, achados seletivos para o hemisfério direito foram relatados também em investigações anteriores de

fluxo sanguíneo regional cerebral em idosos com insuficiência cardíaca (Alves *et al.*, 2005) e de volumes de substância cinzenta regional na mesma amostra de idosos aqui relatada (De Toledo Ferraz Alves *et al.*, 2011), ambas realizadas no laboratório de pesquisa coordenado pelo orientador desta dissertação do grupo.

A predileção de achados frontais no hemisfério direito não foi, até hoje, explicada, e é pouco provável que o hemisfério direito seja mais vulnerável a lesões cerebrais vasculares. Na verdade, há evidências empíricas sugerindo que tanto acidente vasculares cerebrais isquêmicos quanto as placas ateroscleróticas são mais comuns no hemisfério esquerdo (Naess *et al.*, 2006; Hedna *et al.*, 2013; Selwaness *et al.*, 2014). Deve-se ressaltar que, na população idosa a partir da qual foram selecionados os sujeitos para o presente estudo, foram excluídos os indivíduos com uma história de acidente vascular cerebral, bem como, aqueles com infartos cerebrais silenciosos detectados na RM. Por isso, é plausível que tenha havido um viés de seleção para a inclusão de mais indivíduos com alterações cerebrais vasculares no hemisfério direito no nosso estudo, ao passo que uma maior proporção de idosos com anormalidades vasculares predominantemente do lado esquerdo podem ter sido excluídos devido ao pior desfecho que tais alterações cerebrais no hemisfério esquerdo tem para o aparecimento de acidente vascular cerebral ou infartos cerebrais silenciosos.

6.3 Influência da presença da variante gênica APOE ϵ 4 sobre alterações volumétricas de substância branca

Como revisado na introdução desta dissertação, a presença do alelo APOE ϵ 4 pode exercer influência sobre variações do volume cerebral (Wishart *et al.*, 2006; Yokoyama *et al.*, 2015; Dowell *et al.*, 2016), estando também associada a níveis mais altos de colesterol (Bennet *et al.*, 2007) e, possivelmente, a outros FRCV, tais como diabetes tipo II (Janson *et al.*, 2004).

Consequentemente, qualquer diferença entre os subgrupos de idosos selecionados para este estudo em relação à frequência deste polimorfismo genético poderia exercer uma influência significativa sobre os padrões de mudanças volumétricas de SB relacionados ao risco cardiovascular aqui detectados. De fato, estudos anteriores de RM que usaram sequências de difusão (*diffusion-tensor imaging*; DTI) demonstraram, recentemente, que alterações microestruturais vasculares de SB podem ser exacerbadas em portadores do alelo APOE ϵ 4 (Wang *et al.*, 2015).

No entanto, a frequência do alelo APOE ϵ 4 não foi diferente entre os 3 subgrupos de risco cardiovascular no presente estudo. Além disso, o padrão das diferenças volumétricas regionais de SB permaneceu inalterado quando a presença ou ausência do alelo APOE ϵ 4 foi adicionada como variável de confusão nas análises de comparação entre subgrupos. Por fim, nenhuma diferença em volumes de SB foi detectada entre portadores e não portadores do alelo da APOE ϵ 4, independentemente da pontuação do ERF. Sendo assim, os resultados aqui apresentados sugerem que as alterações volumétricas de SB associadas com FRCV em idosos sem demência não é necessariamente exacerbado pela presença do alelo APOE ϵ 4.

6.4 Substrato patofisiológico das alterações volumétricas de substância branca

As bases histológicas/moleculares das diminuições volumétricas de SB em idosos com alto risco cardiovascular, tais como as que foram detectadas no presente estudo, não foram, até hoje, bem estabelecidas.

Lesões microvasculares isquêmicas (presumivelmente mais frequentes em idosos com alta taxa de FRCV) poderiam reduzir o volume de SB no cérebro (Ikram *et al.*, 2008; Launer *et al.*, 2015). Estudos anteriores sugerem que tal tipo de patologia microvascular está na base das hiperintensidades de SB, em investigações que combinaram aquisições de RM *in vitro* e avaliações neuropatológicas *post mortem* (Thomas *et al.*, 2002; Thomas *et al.*, 2003; Tham *et al.*, 2011; Thomas *et al.*, 2015). Tratos de SB frontais são

conhecidos por serem particularmente susceptíveis aos efeitos deste tipo de patologia microvascular cerebral (Craggs, Yamamoto, Deramecourt, *et al.*; Craggs, Yamamoto, Ihara, *et al.*, 2014).

Alternativamente, reduções de volume na SB poderiam refletir alterações microestruturais secundárias à degeneração neuronal em regiões de substância cinzenta conectadas por grandes tratos de SB (Gold *et al.*, 2012; Haroutunian *et al.*, 2014; Kawachi e Nishizawa, 2015). Em uma análise de VBM realizada anteriormente nesta mesma amostra de idosos, foram relatados menores volumes de substância cinzenta nos neocórtices temporal e parietal em proporção direta ao grau de risco cardiovascular de acordo com o ERF (De Toledo Ferraz Alves *et al.*, 2011). É importante notar que os focos nos quais encontramos déficits regionais de volumes de SB no presente estudo de VBM correspondem à localização do fascículo uncinado e do fascículo longitudinal superior, que interligam os córtices temporais e parietais ao lobo frontal (Catani e Thiebaut De Schotten, 2008; Thiebaut De Schotten *et al.*, 2014)

6.5 Alterações volumétricas de substância branca e déficits cognitivos

Os achados de correlação significativa com desempenho cognitivo no presente estudo sugerem que alterações de volumes de SB relacionadas com FRCV são clinicamente significativas. Isto decorre do fato de que se detectou no subgrupo de alto risco cardiovascular um maior grau de correlação significativa entre o volume reduzido de SB na região pré-frontal dorsolateral e pior desempenho em tarefa de inibição de resposta, uma operação cognitiva amplamente reconhecida por depender da integridade do córtex frontal (Picton *et al.*, 2007).

O achado acima dá suporte à visão de que alguns dos déficits cognitivos detectados em indivíduos idosos (sem demência ou infartos cerebrais silenciosos) podem ser mediados por anormalidades de SB relacionadas ao alto risco cardiovascular (Prins e Scheltens, 2015).

Nossos resultados de uma associação entre o volume da região pré-frontal dorsolateral juxtacortical direita e habilidades de controle inibitório medidos pelo escore de inibição do SKT são consistentes com a relação já bem estabelecida do córtex pré-frontal dorsolateral direito e habilidades de controle cognitivo (Wang *et al.*, 2016). Um estudo anterior mostrou que as habilidades de funções executivas foram afetadas pela presença de FRCV, como hipertensão e a relação cintura-altura (Wolf *et al.*, 2007). Nossos resultados estão de acordo com este estudo, pois controle inibitório é um subdomínio relevante do funcionamento executivo. Como referido anteriormente, o ERF inclui outros potenciais FRCV, além da hipertensão e da obesidade. Assim, os resultados aqui relatados dão uma contribuição à literatura atual ao demonstrar uma relação direta entre anormalidades de SB na região pré-frontal dorsolateral e habilidades de controle inibitório em pacientes com maior risco cardiovascular de acordo com medidas do ERF.

6.6 Limitações metodológicas

Os resultados aqui relatados devem ser interpretados com cautela, dadas as limitações metodológicas do estudo, as quais estão relacionadas à abordagem usada para aquisição e análise das imagens cerebrais.

Em primeiro lugar, não foram conduzidas avaliações quantitativas automatizadas de hiperintensidades de SB (Caligiuri *et al.*, 2015). Durante as rotinas de segmentação das imagens dentro da estratégia de VBM usando o programa SPM, hiperintensidades de SB podem ser erroneamente classificadas fora do extrato de SB. Isto pode potencialmente reduzir o número de voxels classificados como SB em estudos como o descrito nesta dissertação (Anbeek *et al.*, 2004).

Em segundo lugar, a etapa de normalização espacial empregada na metodologia de VBM faz com que as imagens cerebrais de cada indivíduo sejam deformadas para se conformar a um espaço anatômico padronizado. Este procedimento pode ser propenso a imprecisões que são mais prováveis de ocorrer quando o grau de variações cerebrais estruturais intersujeitos é maior, como no caso de conjuntos de dados de RM em idosos (Radanovic *et al.*, 2013).

Por fim, o protocolo de aquisição de RM empregado não incluiu uma sequência de difusão (DTI), o que teria permitido obter informações detalhadas sobre as características microestruturais dos tratos de SB no cérebro. Investigações recentes de DTI com indivíduos idosos sem demência sugeriram a presença de anormalidades na integridade microestrutural da SB em proporção ao grau de risco cardiovascular (Segura *et al.*, 2009; Segura *et al.*, 2010). Estudos futuros de RM multimodal em grandes amostras de idosos (incluindo medições volumétricas, avaliações quantitativas de hiperintensidades de SB e aquisições de DTI nos mesmos indivíduos) são necessários a fim de ampliar os resultados aqui relatados. Tal abordagem de RM multimodal tem sido utilizada recentemente com sucesso em estudos de transtornos neurodegenerativos, tais como a DA, proporcionam informações relevantes que se intercomplementam e ampliam o conhecimento sobre a fisiopatologia destes transtornos (Radanovic *et al.*, 2013).

7 CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

- 1- Sujeitos com elevado risco cardiovascular apresentaram reduções regionais de volume de SB quando comparados a grupos de menor risco cardiovascular, sendo que esse padrão permaneceu inalterado quando a presença ou ausência do alelo APOE ϵ 4 foi adicionada como variável de confusão. As áreas cerebrais implicadas apresentam um padrão mais seletivo de anormalidades frontais e parietais na SB, e apresentam um padrão unilateral pré-frontal compatível com a predileção hemisférica de achados de alterações vasculares relacionadas ao envelhecimento cerebral da literatura de neuroimagem estrutural.
- 2- Pacientes com elevado risco cardiovascular apresentaram um maior grau de correlação significativa entre o volume reduzido de SB na região pré-frontal dorsolateral e pior desempenho em tarefa de resposta inibitória. Este achado está de acordo com a já bem estabelecida relação entre funcionamento executivo e integridade do córtex pré-frontal, dando suporte à visão de que alguns dos déficits cognitivos presentes em idosos possam ser mediados por anormalidades de substância branca relacionadas ao alto risco cardiovascular.

8 REFERÊNCIAS

8 REFERENCIAS

Adluru N, Destiche DJ, Lu SY, Doran ST, Birdsill AC, Melah KE, Okonkwo OC, Alexander AL, Dowling NM, Johnson SC, Sager MA, Bendlin BB. White matter microstructure in late middle-age: effects of apolipoprotein E4 and parental family history of Alzheimer's disease. *Neuroimage Clin.* 2014;4:730-42.

Albrecht MA, Szoek C, Maruff P, Savage G, Lautenschlager NT, Ellis KA, Taddei K, Martins R, Masters CL, Ames D, Foster JK; AIBL Research Group. Longitudinal cognitive decline in the AIBL cohort: The role of APOE epsilon4 status. *Neuropsychologia.* 2015;75:411-9.

Alexander GE, Chen K, Merkley TL, Reiman EM, Caselli RJ, Aschenbrenner M, Santerre-Lemmon L, Lewis DJ, Pietrini P, Teipel SJ, Hampel H, Rapoport SI, Moeller JR. Regional network of magnetic resonance imaging gray matter volume in healthy aging. *Neuroreport.* 2006;17(10):10:951-6.

Alves TC, Rays J, Fráguas R Jr, Wajngarten M, Meneghetti JC, Prando S, Busatto GF. Localized cerebral blood flow reductions in patients with heart failure: a study using 99mTc-HMPAO SPECT. *J Neuroimaging.* 2005;15(2):150-6.

Anbeek P, Rays J, Fráguas R Jr, Wajngarten M, Meneghetti JC, Prando S, Busatto GF. Probabilistic segmentation of white matter lesions in MR imaging. *Neuroimage.* 2004;21(3):1037-44.

Asami T, Bouix S, Whitford TJ, Shenton ME, Salisbury DF, McCarley RW. Longitudinal loss of gray matter volume in patients with first-episode schizophrenia: DARTEL automated analysis and ROI validation. *Neuroimage.* 2012;59(2):986-96.

Ashburner J. A fast diffeomorphic image registration algorithm. *Neuroimage.* 2007;38(1):95-113.

Ashburner J, Friston KJ. Voxel-based morphometry--the methods. *Neuroimage.* 11(6 Pt 1):805-21.

Ashburner J, Friston KJ. Why voxel-based morphometry should be used. *Neuroimage.* 14(6):1238-43.

Ashburner J, Friston KJ. Unified segmentation. *Neuroimage.* 2005;26(3):839-51.

Au R, Massaro JM, Wolf PA, Young ME, Beiser A, Seshadri S, D'Agostino RB, DeCarli C. Association of white matter hyperintensity volume with decreased cognitive functioning: the Framingham Heart Study. *Arch Neurol*. 2006;63(2):246-50.

Bangen KJ, Beiser A, Delano-Wood L, Nation DA, Lamar M, Libon DJ, Bondi MW, Seshadri S, Wolf PA, Au R. APOE genotype modifies the relationship between midlife vascular risk factors and later cognitive decline. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2013;22(8):1361-9.

Barker R, Ashby EL, Wellington D, Barrow VM, Palmer JC, Kehoe PG, Esiri MM, Love S. Pathophysiology of white matter perfusion in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Brain*. 2014;137(Pt 5):1524-32.

Bennet AM, Di Angelantonio E, Ye Z, Wensley F, Dahlin A, Ahlbom A, Keavney B, Collins R, Wiman B, de Faire U, Danesh J. Association of apolipoprotein E genotypes with lipid levels and coronary risk. *JAMA*. 2007;298(11):1300-11.

Berge G, Sando SB, Rongve A, Aarsland D, White LR. Apolipoprotein E epsilon2 genotype delays onset of dementia with Lewy bodies in a Norwegian cohort. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2014;85(11):1227-31.

Berlau DJ, Corrada MM, Head E, Kawas CH. APOE epsilon2 is associated with intact cognition but increased Alzheimer pathology in the oldest old. *Neurology*. 2009;72(9):829-34.

Bottino CM, Azevedo D Jr, Tatsch M, Hototian SR, Moscoso MA, Folquitto J, Scalco AZ, Bazzarella MC, Lopes MA, Litvoc J. Estimate of dementia prevalence in a community sample from Sao Paulo, Brazil. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2008;26(4):291-9.

Brett M, Johnsrude IS, Owen AM. The problem of functional localization in the human brain. *Nat Rev Neurosci*. 2002;3(3):243-9.

Busatto GF, Garrido GE, Almeida OP, Castro CC, Camargo CH, Cid CG, Buchpiguel CA, Furuie S, Bottino CM. A voxel-based morphometry study of temporal lobe gray matter reductions in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2003;24(2):221-31.

Caligiuri ME, Perrotta P, Augimeri A, Rocca F, Quattrone A, Cherubini A. Automatic detection of white matter hyperintensities in healthy aging and pathology using magnetic resonance imaging: a review. *Neuroinformatics*. 2015;13(3):261-76.

Callaert DV, Ribbens A, Maes F, Swinnen SP, Wenderoth N. Assessing age-related gray matter decline with voxel-based morphometry depends significantly on segmentation and normalization procedures. *Front Aging Neurosci.* 2014;6(124):.

Camozzato AL, Godinho C, Chaves MLF. Effect of successful aging on mortality in older individuals: The PALA study. *Dement Neuropsychol.* 2014;8(2):182-186.

Catani M, Thiebaut de Schotten M. A Diffusion tensor imaging tractography atlas for virtual in vivo dissections. *Cortex.* 2008;44(8):1105-32.

Centers for Disease Control and Prevention. 2014. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/diabetes/pubs/statsreport14/national-diabetes-report-web.pdf>>.

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 Neurol.* 2014;21(8):1060-7.

Chen Z, Li L, Sun J, Ma L. Mapping the brain in type II diabetes: Voxel-based morphometry using DARTEL. *Eur J Radiol.* 2012;81(8):1870-6.

Chetelat G, Landeau B, Eustache F, Mézenge F, Viader F, de la Sayette V, Desgranges B, Baron JC. Using voxel-based morphometry to map the structural changes associated with rapid conversion in MCI: a longitudinal MRI study. *Neuroimage.* 2005;27(4):934-46.

Cipullo JP, Martin JFV, Ciorlia LAS, Godoy MRP, Cação JC, Loureiro AAC, Cesarino CB, Carvalho AC, Cordeiro JA, Burdmann EA. Hypertension prevalence and risk factors in a Brazilian urban population. *Arq. Bras. Cardiol.* vol.94 no.4 São Paulo Apr. 2010 Epub Mar 26, 2010 <http://dx.doi.org/10.1590/S0066-782X2010005000014>

Cole L, Belden C, Jacobson S, Liebsack C, Myers K, Reninger C, Berk C, Sabbagh MN. Probable early-onset *alzheimer's* disease in an apolipoprotein E2 homozygote. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2010;30(5):387-91.

Copeland JR, Dewey ME, Griffiths-Jones HM. A computerized psychiatric diagnostic system and case nomenclature for elderly subjects: GMS and AGE CAT. *Psychol Med.* 1986;16(1):89-99.

Craggs LJ, Yamamoto Y, Deramecourt V, Kalaria RN. Microvascular pathology and morphometrics of sporadic and hereditary small vessel diseases of the brain. *Brain Pathol.* 2014;24(5):495-509.

Craggs LJ, Yamamoto Y, Ihara M, Fenwick R, Burke M, Oakley AE, Roeber S, Duering M, Kretschmar H, Kalaria RN. White matter pathology and

disconnection in the frontal lobe in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL). *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2014;40(5):591-602.

D'agostino RB, Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, Kannel WB. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 117(6):743-53.

Dawber RP. The ultrastructure and growth of human nails. *Arch Dermatol Res.* 1980;269(2):197-204.

Dawber TR, Meadors GF, Moore FE Jr. Epidemiological approaches to heart disease: the Framingham Study. *Am J Public Health Nations Health.* 1951;41(3):279-81.

De Toledo Ferraz Alves TC, Scazufca M, Squarzoni P, de Souza Duran FL, Tamashiro-Duran JH, Vallada HP, Andrei A, Wajngarten M, Menezes PR, Busatto GF. Subtle gray matter changes in temporo-parietal cortex associated with cardiovascular risk factors. *J Alzheimers Dis.* 2011;27(3):575-89.

Deak F, Freeman WM, Ungvari Z, Csiszar A, Sonntag WE. Recent developments in understanding brain aging: implications for Alzheimer's disease and vascular cognitive impairment. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2016;71(1):13-20.

Debette S, Seshadri S, Beiser A, Au R, Himali JJ, Palumbo C, Wolf PA, DeCarli C. Midlife vascular risk factor exposure accelerates structural brain aging and cognitive decline. *Neurology.* 2011;77(5):461-8.

Delgado P, Riba-Llena I, Tovar JL, Jarca CI, Mundet X, López-Rueda A, Orfila F, Llusa J, Manresa JM, Alvarez-Sabín J, Nafría C, Fernández JL, Maisterra O, Montaner J; ISSYS Investigators*. Prevalence and associated factors of silent brain infarcts in a Mediterranean cohort of hypertensives. *Hypertension.* 2014;64(3):658-63.

Dementia Research Group. Subjective memory deficits in people with and without dementia: findings from the 10/66 dementia research group pilot studies in low- and middle-income countries. *J Am Geriatr Soc.* 2009;57(11):2118-24.

Dowell NG, Evans SL, Tofts PS, King SL, Tabet N, Rusted JM. Structural and resting-state MRI detects regional brain differences in young and mid-age healthy APOE-e4 carriers compared with non-APOE-e4 carriers. *NMR Biomed.* 2016;29(5):614-24.

Fanning JP, Wong AA, Fraser JF. The epidemiology of silent brain infarction: a systematic review of population-based cohorts. *BMC Med.* 2014;12:119.

Farmer ME, Kittner SJ, Abbott RD, Wolz MM, Wolf PA, White LR. Longitudinally measured blood pressure, antihypertensive medication use, and cognitive performance: the Framingham Study. *J Clin Epidemiol.* 1990;43(5):475-80.

Feigin V, Roth GA, Naghavi M, Parmar P, Krishnamurthi R, Chugh S, Mensah GA, Norrving B, Shiue I, Ng M, Estep K, Cercy K, Murray CJL, Forouzanfar MH. Global burden of stroke and risk factors in 188 countries, during 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet Neurology.* 2016;v15n9,p913-924.

Ferreira LK, Busatto GF. Neuroimaging in Alzheimer's disease: current role in clinical practice and potential future applications. *Clinics.* 2011;66(Suppl 1):19-24.

Flaks MK, Yassuda MS, Regina AC, Cid CG, Camargo CH, Gattaz WF, Forlenza OV. The Short Cognitive Performance Test (SKT): a preliminary study of its psychometric properties in Brazil. *Int Psychogeriatr.* 2006;18(1):121-33.

Freedman BI, Divers J, Whitlow CT, Bowden DW, Palmer ND, Smith SC, Xu J, Register TC, Carr JJ, Wagner BC, Williamson JD, Sink KM, Maldjian JA. Subclinical atherosclerosis is inversely associated with gray matter volume in African Americans With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care.* 2015;38(11):2158-65.

Gebeily S, Fares Y, Kordahi M, Khodeir P, Labaki G, Fazekas F. Cerebral white matter hyperintensities (WMH): an analysis of cerebrovascular risk factors in Lebanon. *Int J Neurosci.* 2014;124(11):799-805.

Gillespie CD, Hurvitz KA. Prevalence of hypertension and controlled hypertension - United States, 2007-2010. *MMWR Suppl.* 2013;62(3):144-8.

Gold BT, Johnson NF, Powell DK, Smith CD. White matter integrity and vulnerability to Alzheimer's disease: preliminary findings and future directions. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1822(3):416-22.

Gouw AA, Seewann A, van der Flier WM, Barkhof F, Rozemuller AM, Scheltens P, Geurts JJ. Heterogeneity of small vessel disease: a systematic review of MRI and histopathology correlations. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2011;82(2):126-35.

Grady CL. Cognitive neuroscience of aging. *Ann N Y Acad Sci.* 2008;1124:127-44.

Grundey SM, Pasternak R, Greenland P, Smith S Jr, Fuster V. Assessment of cardiovascular risk by use of multiple-risk-factor assessment equations: a

statement for healthcare professionals from the American Heart Association and the American College of Cardiology. *Circulation*. 1999;100(13):1481-92.

Gunstad J, Paul RH, Cohen RA, Tate DF, Spitznagel MB, Grieve S, Gordon E. Relationship between body mass index and brain volume in healthy adults. *Int J Neurosci*. 2008;118(11):1582-93.

Hall KS, Hendrie HC, Brittain HM. The development of a dementia screening interview in two distinct languages. *Int J Methods Psychiatr Res*. 1993;3:1-28.

Haroutunian V, Katsel P, Roussos P, Davis KL, Altshuler LL, Bartzokis G. Myelination, oligodendrocytes, and serious mental illness. *Glia*. 2014;62(11):1856-77.

Hayden KM, Kuchibhatla M, Romero HR, Plassman BL, Burke JR, Browndyke JN, Welsh-Bohmer KA. Pre-clinical cognitive phenotypes for Alzheimer disease: a latent profile approach. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2014;22(11):1364-74.

Hedna VS, Bodhit AN, Ansari S, Falchook AD, Stead L, Heilman KM, Waters MF. Hemispheric differences in ischemic stroke: is left-hemisphere stroke more common? *J Clin Neurol*. 2013;9(2):97-102.

Homayoon N, Ropele S, Hofer E, Schwingenschuh P, Seiler S, Schmidt R. Microstructural tissue damage in normal appearing brain tissue accumulates with Framingham Stroke Risk Profile Score: magnetization transfer imaging results of the Austrian Stroke Prevention Study. *Clin Neurol Neurosurg*. 2013;115(8):1317-21.

Honea RA, Vidoni E, Harsha A, Burns JM. Impact of APOE on the healthy aging brain: a voxel-based MRI and DTI study. *J Alzheimers Dis*. 2009;18(3):553-64.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_impressao.php?id_noticia=1272>.

Ikram MA, Vrooman HA, Vernooij MW, van der Lijn F, Hofman A, van der Lugt A, Niessen WJ, Breteler MM. Brain tissue volumes in the general elderly population. The Rotterdam Scan Study. *Neurobiol Aging*. 2008;29(6):882-90.

Ito H, Kano O, Ikeda K. Different variables between patients with left and right hemispheric ischemic stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2008;17(1):35-8.

Ito K, Fukuyama H, Senda M, Ishii K, Maeda K, Yamamoto Y, Ouchi Y, Ishii K, Okumura A, Fujiwara K, Kato T, Arahata Y, Washimi Y, Mitsuyama Y,

Meguro K, Ikeda M; SEAD-J Study Group. Prediction of outcomes in mild cognitive impairment by using 18F-FDG-PET: a multicenter study. *J Alzheimers Dis.* 2015;45(2):543-52.

Jack CR Jr, Wiste HJ, Weigand SD, Knopman DS, Vemuri P, Mielke MM, Lowe V, Senjem ML, Gunter JL, Machulda MM, Gregg BE, Pankratz VS, Rocca WA, Petersen RC. Age, sex, and APOE epsilon4 effects on memory, brain structure, and beta-amyloid across the adult life span. *JAMA Neurol.* 2015;72(5):511-9.

Janson J, Laedtke T, Parisi JE, O'Brien P, Petersen RC, Butler PC. Increased risk of type 2 diabetes in Alzheimer disease. *Diabetes.* 2004;53(2):474-81.

Jeerakathil T, Wolf PA, Beiser A, Massaro J, Seshadri S, D'Agostino RB, DeCarli C. Stroke risk profile predicts white matter hyperintensity volume: the Framingham Study. *Stroke.* 2004;35(8):1857-61.

Jefferson AL, Himali JJ, Au R, Seshadri S, DeCarli C, O'Donnell CJ, Wolf PA, Manning WJ, Beiser AS, Benjamin EJ. Relation of left ventricular ejection fraction to cognitive aging (from the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol.* 2011;108(9):1346-51.

Kaffashian S, Dugravot A, Nabi H, Batty GD, Brunner E, Kivimäki M, Singh-Manoux A. Predictive utility of the Framingham general cardiovascular disease risk profile for cognitive function: evidence from the Whitehall II study. *Eur Heart J.* 2011;32(18):2326-32.

Kawachi I, Nishizawa M. Significance of gray matter brain lesions in multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *Neuropathology.* 2015;35(5):481-6.

Kearney-Schwartz A, Rossignol P, Bracard S, Felblinger J, Fay R, Boivin JM, Lecompte T, Lacolley P, Benetos A, Zannad F. Vascular structure and function is correlated to cognitive performance and white matter hyperintensities in older hypertensive patients with subjective memory complaints. *Stroke.* 2009;40(4):1229-36.

Kennedy KM, Raz N. Pattern of normal age-related regional differences in white matter microstructure is modified by vascular risk. *Brain Res.* 2009;1297:41-56.

Kharabian Masouleh S, Arélin K, Horstmann A, Lampe L, Kipping JA, Luck T, Riedel-Heller SG, Schroeter ML, Stumvoll M, Villringer A, Witte AV. Higher body mass index in older adults is associated with lower gray matter volume: implications for memory performance. *Neurobiol Aging.* 2016;40:1-10.

Knopman D, Boland LL, Mosley T, Howard G, Liao D, Szklo M, McGovern P, Folsom AR; Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators.

Cardiovascular risk factors and cognitive decline in middle-aged adults. *Neurology*. 2001;56(1):42-8.

Kochhann R, Borba E, Cerveira MO, Onyszko D, Jesus A, Forster L, Franciscatto, Godinho C, Camozzato AL, Chaves MLF. Neuropsychiatric symptoms as the main determinant of caregiver burden in Alzheimer's disease. *Dement Neuropsychol*. 2011;5(3):203-208.

Kuklina EV, Keenan NL, Callaghan WM, Hong Y. Risk of cardiovascular mortality in relation to optimal low-density lipoprotein cholesterol combined with hypertriglyceridemia: is there a difference by gender? *Ann Epidemiol*. 2011;21(11):807-14.

Last D, Alsop DC, Abduljalil AM, Marquis RP, de Bazelaire C, Hu K, Cavallerano J, Novak V. Global and regional effects of type 2 diabetes on brain tissue volumes and cerebral vasoreactivity. *Diabetes Care*. 2007;30(5):1193-9.

Laughlin GA, McEvoy LK, von Mühlen D, Daniels LB, Kritz-Silverstein D, Bergstrom J, Cummins K, Der-Martirosian C, Jassal SK, Barrett-Connor E. Sex differences in the association of Framingham Cardiac Risk Score with cognitive decline in community-dwelling elders without clinical heart disease. *Psychosom Med*. 2011;73(8):683-9.

Launer LJ, Lewis CE, Schreiner PJ, Sidney S, Battapady H, Jacobs DR, Lim KO, D'Esposito M, Zhang Q, Reis J, Davatzikos C, Bryan RN. Vascular factors and multiple measures of early brain health: CARDIA brain MRI study. *PLoS One*. 2015;10(3):e0122138.

Lehfeld H, Rudinger G, Rietz C, Heinrich C, Wied V, Fornazzari L, Pittas J, Hindmarch I, Erzigkeit H. Evidence of the cross-cultural stability of the factor structure of the SKT short test for assessing deficits of memory and attention. *Int Psychogeriatr*. 1997;9(2):139-53.

Longstreth WT Jr, Bernick C, Manolio TA, Bryan N, Jungreis CA, Price TR. Lacunar infarcts defined by magnetic resonance imaging of 3660 elderly people: the Cardiovascular Health Study. *Arch Neurol*. 1998;55(9):1217-25.

Luca M, Luca A, Calandra C. The role of oxidative damage in the pathogenesis and progression of Alzheimer's disease and vascular dementia. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;504678.

Maillard P, Seshadri S, Beiser A, Himali JJ, Au R, Fletcher E, Carmichael O, Wolf PA, DeCarli C. Effects of systolic blood pressure on white-matter integrity in young adults in the Framingham Heart Study: a cross-sectional study. *Lancet Neurol*. 2012;11(12):1039-47.

Makino T, Umegaki H, Suzuki Y, Yanagawa M, Nonogaki Z, Nakashima H, Kuzuya M. Relationship between small cerebral white matter lesions and cognitive function in patients with Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *Geriatr Gerontol Int*. 2014;14(4):819-26.

Markus HS, Hunt B, Palmer K,ENZINGER C, Schmidt H, Schmidt R. Markers of endothelial and hemostatic activation and progression of cerebral white matter hyperintensities: longitudinal results of the Austrian Stroke Prevention Study. *Stroke*. 2005;36(7):1410-4.

Marquis S, Moore MM, Howieson DB, Sexton G, Payami H, Kaye JA, Camicioli R. Independent predictors of cognitive decline in healthy elderly persons. *Arch Neurol*. 2002;59(4):601-6.

Miller AS, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988;16(3):1215.

Moller C, van der Flier WM, Versteeg A, Benedictus MR, Wattjes MP, Koedam EL, Scheltens P, Barkhof F, Vrenken H. Quantitative regional validation of the visual rating scale for posterior cortical atrophy. *Eur Radiol*. 2014;24(2):397-404.

Moran C, Phan TG, Chen J, Blizzard L, Beare R, Venn A, Münch G, Wood AG, Forbes J, Greenaway TM, Pearson S, Srikanth V. Brain atrophy in type 2 diabetes: regional distribution and influence on cognition. *Diabetes Care*. 2013;36(12):4036-42.

Mori S, Oishi K, Jiang H, Jiang L, Li X, Akhter K, Hua K, Faria AV, Mahmood A, Woods R, Toga AW, Pike GB, Neto PR, Evans A, Zhang J, Huang H, Miller MI, van Zijl P, Mazziotta J. Stereotaxic white matter atlas based on diffusion tensor imaging in an ICBM template. *Neuroimage*. 2008;40(2):570-82.

Mortamais M, Artero S, Ritchie K. White matter hyperintensities as early and independent predictors of Alzheimer's disease risk. *J Alzheimers Dis*. 2014;42(Suppl 4):S393-400.

Naess H, Waje-Andreassen U, Thomassen L, Myhr KM. High incidence of infarction in the left cerebral hemisphere among young adults. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2006;15(6):241-4.

Nayor M, Enserro DM, Vasan RS, Xanthakis V. Cardiovascular health status and incidence of heart failure in the Framingham Offspring Study. *Circ Heart Fail*. 2016;9(1):e002416.

Nunley KA, Ryan CM, Orchard TJ, Aizenstein HJ, Jennings JR, Ryan J, Zgibor JC, Boudreau RM, Costacou T, Maynard JD, Miller RG, Rosano C.

White matter hyperintensities in middle-aged adults with childhood-onset type 1 diabetes. *Neurology*. 2015;84(20):2062-9.

O'brien JT. Clinical significance of white matter changes. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2014;22(2):133-7.

Ohara T, Ninomiya T, Hata J, Ozawa M, Yoshida D, Mukai N, Nagata M, Iwaki T, Kitazono T, Kanba S, Kiyohara Y. Midlife and late-life smoking and risk of dementia in the community: the Hisayama Study. *J Am Geriatr Soc*. 2015;63(11):2332-9.

Pantoni L, Garcia JH. Pathogenesis of leukoaraiosis: a review. *Stroke*. 1997;28(3):652-9.

Paul RH, Grieve SM, Niaura R, David SP, Laidlaw DH, Cohen R, Sweet L, Taylor G, Clark RC, Pogun S, Gordon E. Chronic cigarette smoking and the microstructural integrity of white matter in healthy adults: a diffusion tensor imaging study. *Nicotine Tob Res*. 2008;10(1):137-47.

Passos VMAP, Barreto SM, Diniz LM, Lima-Costa MF. Type 2 diabetes: prevalence and associated factors in a Brazilian community – the Bambuí health and aging study. *Sao Paulo Med. J.* vol.123 no.2 São Paulo Mar. 2005 <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-31802005000200007>

Perna L, Mons U, Rujescu D, Kliegel M, Brenner H. Apolipoprotein E e4 and cognitive function: a modifiable association results from two independent cohort studies. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2016;41(1-2):35-45.

Petersen RC, Aisen PS, Beckett LA, Donohue MC, Gamst AC, Harvey DJ, Jack CR Jr, Jagust WJ, Shaw LM, Toga AW, Trojanowski JQ, Weiner MW. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI): clinical characterization. *Neurology*. 2010;74(3):201-9.

Petersen RC, Jack CR Jr. Imaging and biomarkers in early Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Clin Pharmacol Ther*. 2009;86(4):438-41.

Petrou M, Davatzikos C, Hsieh M, Foerster BR, Albin RL, Kotagal V, Müller ML, Koeppe RA, Herman WH, Frey KA, Bohnen NI. Diabetes, gray matter loss, and cognition in the setting of Parkinson Disease. *Acad Radiol*. 2016;23(5):577-81.

Picton TW, Stuss DT, Alexander MP, Shallice T, Binns MA, Gillingham S. Effects of focal frontal lesions on response inhibition. *Cereb Cortex*. 2007;17(4):826-38.

Pierdomenico SD, Pierdomenico AM, Di Tommaso R, Coccina F, Di Carlo S, Cuccurullo F, Porreca E. Metabolic syndrome and cardiovascular risk in elderly treated hypertensive patients. *Am J Hypertens*. 2016;29(3):365-71.

Prince M, Acosta D, Chiu H, Scazufca M, Varghese M; Dementia Research Group. Dementia diagnosis in developing countries: a cross-cultural validation study. *Lancet*. 2003;361(9361):909-17.

Prince M, Ferri CP, Acosta D, Albanese E, Arizaga R, Dewey M, Gavrilova SI, Guerra M, Huang Y, Jacob KS, Krishnamoorthy ES, McKeigue P, Rodriguez JL, Salas A, Sosa AL, Sousa RM, Stewart R, Uwakwe R. The protocols for the 10/66 dementia research group population-based research programme. *BMC Public Health*. 2007;7(147):165.

Prins ND, Scheltens P. White matter hyperintensities, cognitive impairment and dementia: an update. *Nat Rev Neurol*. 2015;11(3):157-65.

Radanovic M, Pereira FR, Stella F, Aprahamian I, Ferreira LK, Forlenza OV, Busatto GF. White matter abnormalities associated with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a critical review of MRI studies. *Expert Rev Neurother*. 2013;13(5):483-93.

Raz N, Rodrigue KM, Acker JD. Hypertension and the brain: vulnerability of the prefrontal regions and executive functions. *Behav Neurosci*. 2003;117(6):1169-80.

Razay G, Vreugdenhil A, Wilcock G. The metabolic syndrome and Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2007;64(1):93-6.

Risacher SL, Shen L, West JD, Kim S, McDonald BC, Beckett LA, Harvey DJ, Jack CR Jr, Weiner MW, Saykin AJ; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI). Longitudinal MRI atrophy biomarkers: relationship to conversion in the ADNI cohort. *Neurobiol Aging*. 2010;31(8):1401-18.

Rostrup E, Gouw AA, Vrenken H, van Straaten EC, Ropele S, Pantoni L, Inzitari D, Barkhof F, Waldemar G; LADIS study group. The spatial distribution of age-related white matter changes as a function of vascular risk factors--results from the LADIS study. *Neuroimage*. 2012;60(3):1597-607.

Rusinek H, De Santi S, Frid D, Tsui WH, Tarshish CY, Convit A, de Leon MJ. Regional brain atrophy rate predicts future cognitive decline: 6-year longitudinal MR imaging study of normal aging. *Radiology*. 2003;229(3):691-6.

Scazufca M, Menezes PR, Vallada HP, Crepaldi AL, Pastor-Valero M, Coutinho LM, Di Rienzo VD, Almeida OP. High prevalence of dementia among older adults from poor socioeconomic backgrounds in Sao Paulo, Brazil. *Int Psychogeriatr*. 2007;2:394-405.

Schnabel RB, Yin X, Gona P, Larson MG, Beiser AS, McManus DD, Newton-Cheh C, Lubitz SA, Magnani JW, Ellinor PT, Seshadri S, Wolf PA, Vasan RS, Benjamin EJ, Levy D. 50 year trends in atrial fibrillation prevalence, incidence, risk factors, and mortality in the Framingham Heart Study: a cohort study. *Lancet*. 2015;386(9989):154-62.

Schneider BC, Gross AL, Bangen KJ, Skinner JC, Benitez A, Glymour MM, Sachs BC, Shih RA, Sisco S, Manly JJ, Luchsinger JA. Association of vascular risk factors with cognition in a multiethnic sample. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci*. 2015 Jul;70(4):532-44. doi: 10.1093/geronb/gbu040. Epub 2014 May 12.

Segura B, Jurado MA, Freixenet N, Bargalló N, Junqué C, Arboix A. White matter fractional anisotropy is related to processing speed in metabolic syndrome patients: a case-control study. *BMC Neurol*. 2010;10:64.

Segura B, Jurado MA, Freixenet N, Falcón C, Junqué C, Arboix A. Microstructural white matter changes in metabolic syndrome: a diffusion tensor imaging study. *Neurology*. 2009;73(6):438-44.

Selwaness M, van den Bouwhuijsen Q, van Onkelen RS, Hofman A, Franco OH, van der Lugt A, Wentzel JJ, Vernooij M. Atherosclerotic plaque in the left carotid artery is more vulnerable than in the right. *Stroke*. 2014;45(11):3226-30.

Seshadri S, Beiser A, Kelly-Hayes M, Kase CS, Au R, Kannel WB, Wolf PA. The lifetime risk of stroke: estimates from the Framingham Study. *Stroke*. 2006;37(2):345-50.

Seshadri S, Wolf PA. Lifetime risk of stroke and dementia: current concepts, and estimates from the Framingham Study. *Lancet Neurol*. 2007;6(12):1106-14.

Seshadri S, Wolf PA, Beiser A, Elias MF, Au R, Kase CS, D'Agostino RB, DeCarli C. Stroke risk profile, brain volume, and cognitive function: the Framingham Offspring Study. *Neurology*. 2004;63(9):1591-9.

Smith EE, O'Donnell M, Dagenais G, Lear SA, Wielgosz A, Sharma M, Poirier P, Stotts G, Black SE, Strother S, Noseworthy MD, Benavente O, Modi J, Goyal M, Batool S, Sanchez K, Hill V, McCreary CR, Frayne R, Islam S, DeJesus J, Rangarajan S, Teo K, Yusuf S; PURE Investigators. Early cerebral small vessel disease and brain volume, cognition, and gait. *Ann Neurol*. 2015;77(2):251-61.

Smith PJ, Blumenthal JA, Babyak MA, Watkins LL, Hinderliter A, Hoffman BM, Steffens DC, Sherwood A, Doraiswamy PM. Cerebrovascular risk

factors and cerebral hyperintensities among middle-aged and older adults with major depression. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2010;18(9):848-52

Squarzoni P, Tamashiro-Duran J, Souza Duran FL, Santos LC, Vallada HP, Menezes PR, Scazufca M, Filho GB, Alves TC. Relationship between regional brain volumes and cognitive performance in the healthy aging: an MRI study using voxel-based morphometry. *J Alzheimers Dis*. 2012;31(1):45-58.

Söderlund H, Nyberg L, Adolfsson R, Nilsson LG, Launer LJ. High prevalence of white matter hyperintensities in normal aging: relation to blood pressure and cognition. *Cortex*. 2003;39(4-5):1093-105

Souza, Luiz José de et al. Prevalence of dyslipidemia and risk factors in Campos dos Goytacazes, in the Brazilian State of Rio de Janeiro. *Arq. Bras. Cardiol.* [online]. 2003, vol.81, n.3, pp.257-264. ISSN 0066-782X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0066-782X2003001100005>.

Tapp PD, Head K, Head E, Milgram NW, Muggenburg BA, Su MY. Application of an automated voxel-based morphometry technique to assess regional gray and white matter brain atrophy in a canine model of aging. *Neuroimage*. 2006;29(1):234-44.

Tham MW, Woon PS, Sum MY, Lee TS, Sim K. White matter abnormalities in major depression: evidence from post-mortem, neuroimaging and genetic studies. *J Affect Disord*. 2011;132(1-2):26-36.

Thiebaut de Schotten M, Tomaiuolo F, Aiello M, Merola S, Silvetti M, Lecce F, Bartolomeo P, Doricchi F. Damage to white matter pathways in subacute and chronic spatial neglect: a group study and 2 single-case studies with complete virtual "in vivo" tractography dissection. *Cereb Cortex*. 2014;24(3):691-706.

Thomas AJ, O'Brien JT, Davis S, Ballard C, Barber R, Kalaria RN, Perry RH. Ischemic basis for deep white matter hyperintensities in major depression: a neuropathological study. *Arch Gen Psychiatry*. 2002;59(9):785-92.

Thomas AJ, Perry R, Kalaria RN, Oakley A, McMeekin W, O'Brien JT. Neuropathological evidence for ischemia in the white matter of the dorsolateral prefrontal cortex in late-life depression. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2003;18(1):7-13.

Thomas T, Miners S, Love S. Post-mortem assessment of hypoperfusion of cerebral cortex in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Brain*. 2015;138(Pt 4):1059-69.

Tsao S, Gajawelli N, Hwang DH, Kriger S, Law M, Chui H, Weiner M, Lepore N. Mapping of ApoE4 related white matter damage using diffusion MRI. *Proc SPIE Int Soc Opt Eng*. 2014;9039:90390H.

Tullberg M, Fletcher E, DeCarli C, Mungas D, Reed BR, Harvey DJ, Weiner MW, Chui HC, Jagust WJ. White matter lesions impair frontal lobe function regardless of their location. *Neurology*. 2004;63(2):246-53.

van Bloemendaal L, Ijzerman RG, Ten Kulve JS, Barkhof F, Diamant M, Veltman DJ, van Duinkerken E. Alterations in white matter volume and integrity in obesity and type 2 diabetes. *Metab Brain Dis*. 2016;31(3):621-9.

van Dijk EJ, Prins ND, Vermeer SE, Koudstaal PJ, Breteler MM. Frequency of white matter lesions and silent lacunar infarcts. *J Neural Transm Suppl*. 2002;62:25-39.

Vermeer SE, Longstreth WT Jr, Koudstaal PJ. Silent brain infarcts: a systematic review. *Lancet Neurol*. 2007;6(7):611-9.

Walther K, Birdsill AC, Glisky EL, Ryan L. Structural brain differences and cognitive functioning related to body mass index in older females. *Hum Brain Mapp*. 2010;31(7):1052-64.

Wang R, Fratiglioni L, Laukka EJ, Lövdén M, Kalpouzos G, Keller L, Graff C, Salami A, Bäckman L, Qiu C. Effects of vascular risk factors and APOE ε4 on white matter integrity and cognitive decline. *Neurology*. 2015;84(11):1128-35.

Wang YL, Yang SZ, Sun WL, Shi YZ, Duan HF. Altered functional interaction hub between affective network and cognitive control network in patients with major depressive disorder. *Behav Brain Res*. 2016 298(Pt B):301-9.

Williams LR, Hutchinson CE, Jackson A, Horan MA, Jones M, McInnes L, Rabbitt PM, Pendleton N. Clinical correlates of cerebral white matter hyperintensities in cognitively normal older adults. *Arch Gerontol Geriatr*. 2010;50(2):127-31.

Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*. 1998;97(18):1837-47.

Wishart HA, Saykin AJ, McAllister TW, Rabin LA, McDonald BC, Flashman LA, Roth RM, Mamourian AC, Tsongalis GJ, Rhodes CH. Regional brain atrophy in cognitively intact adults with a single APOE epsilon4 allele. *Neurology*. 2006;67(7):1221-4.

Wolf PA, Beiser A, Elias MF, Au R, Vasan RS, Seshadri S. Relation of obesity to cognitive function: importance of central obesity and synergistic influence of concomitant hypertension. The Framingham Heart Study. *Curr Alzheimer Res*. 2007;4(2):111-6.

Wolters FJ, de Bruijn RF, Hofman A, Koudstaal PJ, Ikram MA, Heart Brain Connection Collaborative Research Group. Cerebral vasoreactivity, apolipoprotein e, and the risk of dementia: a population-based study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015;36(1):204-10.

Yaffe K1, Vittinghoff E, Pletcher MJ, Hoang TD, Launer LJ, Whitmer R, Coker LH, Sidney S. Early adult to midlife cardiovascular risk factors and cognitive function. *Circulation*. 2014 Apr 15;129(15):1560-7. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.004798. Epub 2014 Mar 31.

Yokoyama JS, Lee AK, Takada LT, Busovaca E, Bonham LW, Chao SZ, Tse M, He J, Schwarz CG, Carmichael OT, Matthews BR, Karydas A, Weiner MW, Coppola G, DeCarli CS, Miller BL, Rosen HJ. Apolipoprotein ε4 is associated with lower brain volume in cognitively normal chinese but not white older adults. *PLoS ONE*. 2015;10(3):e0118338.

Zhang S, Arfanakis K. White matter segmentation based on a skeletonized atlas: effects on diffusion tensor imaging studies of regions of interest. *J Magn Reson Imaging*. 2014;40(5):1189-98.