

Elisa de Paula França Resende

CONECTIVIDADE ESTRUTURAL CEREBRAL,
ALFABETIZAÇÃO E DESEMPENHO COGNITIVO EM UMA
AMOSTRA DE IDOSOS DA COMUNIDADE: ESTUDO POR
ANÁLISE DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA UTILIZANDO
IMAGENS POR TENSOR DE DIFUSÃO

Universidade Federal de Minas Gerais
Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto
Belo Horizonte
2015

Elisa de Paula França Resende

CONECTIVIDADE ESTRUTURAL CEREBRAL,
ALFABETIZAÇÃO E DESEMPENHO COGNITIVO EM UMA
AMOSTRA DE IDOSOS DA COMUNIDADE: ESTUDO POR
ANÁLISE DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA UTILIZANDO
IMAGENS POR TENSOR DE DIFUSÃO

R433c Resende, Elisa de Paula França.
Conectividade estrutural cerebral, alfabetização e desempenho cognitivo em uma amostra de idosos da comunidade [manuscrito]: estudo por análise de ressonância magnética utilizando imagens por tensor de difusão. / Elisa de Paula França Resende. -- Belo Horizonte: 2015. 61f.: il.
Orientador: Paulo Caramelli.
Coorientador: Fernanda Freire Tovar Moll, Leonardo Cruz de Souza.
Área de concentração: Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.
1. Envelhecimento. 2. Memória Episódica. 3. Substância Branca. 4. Reserva Cognitiva. 5. Imagem de Tensor de Difusão. 6. Idoso. 7. Dissertações Acadêmicas. I. Caramelli, Paulo. II. Moll, Fernanda Freire Tovar. III. Souza, Leonardo Cruz de. IV. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. V. Título.

NLM: WT 104

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca J. Baeta Vianna – Campus Saúde UFMG

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre

Orientador: Prof. Dr. Paulo Caramelli

Coorientadora: Prof. Dra. Fernanda Freire Tovar Moll

Coorientador: Prof. Dr. Leonardo Cruz de Souza

Belo Horizonte

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor

Prof. Jaime Arturo Ramírez

Vice-Reitora

Profa. Sandra Regina Goulart Almeida

Pró-Reitor de Pós-Graduação

Prof. Rodrigo Antônio de Paiva Duarte

Pró-Reitora de Pesquisa

Profa. Adelina Martha dos Reis

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor da Faculdade de Medicina

Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Coordenador do Centro de Pós-Graduação

Prof. Luiz Armando Cunha de Marco

Subcoordenadora do Centro de Pós-Graduação

Profa. Ana Cristina Côrtes Gama

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO

Coordenadora

Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Subcoordenador

Prof. Paulo Caramelli

Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto

Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Prof. Paulo Caramelli

Prof. Marcus Vinícius Melo de Andrade

Profa. Rosângela Teixeira

Profa. Gilda Aparecida Ferreira

Profa. Suely Meireles Rezende

Andréia de Lima Bastos (representante discente)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO
ADULTO

UFMG

ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DA ALUNA ELISA DE PAULA FRANÇA RESENDE

Realizou-se, no dia 09 de dezembro de 2015, às 14:00 horas, Sala 029, andar térreo da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de dissertação, intitulada **CONNECTIVIDADE ESTRUTURAL CEREBRAL, ALFABETIZAÇÃO E DESEMPENHO COGNITIVO EM UMA AMOSTRA DE IDOSOS DA COMUNIDADE: ESTUDO POR ANÁLISE DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA UTILIZANDO IMAGENS POR TENSOR DE DIFUSÃO (DTI)**, apresentada por **ELISA DE PAULA FRANÇA RESENDE**, número de registro 2014652524, graduada no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, à seguinte Comissão Examinadora: Prof. Paulo Caramelli - Orientador (UFMG), Profª. Fernanda Freire Tovar Moll - Coorientadora (UFRJ), Prof. Leonardo Cruz de Souza - Coorientador (UFMG), Prof. Antônio Jaeger (UFMG), Prof. Fernando Cendes (UNICAMP).


A Comissão considerou a dissertação:

Aprovada

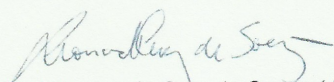
Reprovada

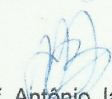
Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.


Belo Horizonte, 09 de dezembro de 2015.



Prof. Paulo Caramelli (Doutor)


Profª. Fernanda Freire Tovar Moll (Doutor)


Prof. Leonardo Cruz de Souza (Doutor)


Prof. Antônio Jaeger (Doutor)


Prof. Fernando Cendes (Doutor)


CONFERE COM ORIGINAL
Centro de Pós-Graduação
Faculdade de Medicina - UFMG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO
ADULTO

UFMG

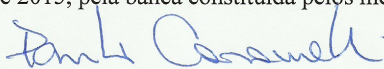
FOLHA DE APROVAÇÃO

CONECTIVIDADE ESTRUTURAL CEREBRAL, ALFABETIZAÇÃO E DESEMPENHO COGNITIVO EM UMA AMOSTRA DE IDOSOS DA COMUNIDADE: ESTUDO POR ANÁLISE DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA UTILIZANDO IMAGENS POR TENSOR DE DIFUSÃO (DTI)

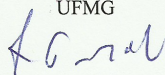
ELISA DE PAULA FRANÇA RESENDE

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, área de concentração CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO.

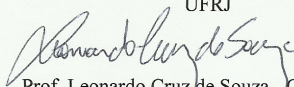
Aprovada em 09 de dezembro de 2015, pela banca constituída pelos membros:



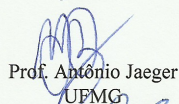
Prof. Paulo Caramelli - Orientador
UFMG



Prof. Fernanda Freire Tovar Moll - Coorientadora
UFRJ



Prof. Leonardo Cruz de Souza - Coorientador
UFMG



Prof. Antônio Jaeger
UFMG


Prof. Fernando Cendes
UNICAMP

Belo Horizonte, 09 de dezembro de 2015.

“Nothing defines the function of a neuron more faithfully than the nature of its inputs and outputs.”

Marsel Mesulam

Agradecimentos

No terceiro ano da faculdade de medicina procurei um professor que havia marcado a turma. Pela sabedoria e amor pelo ensinar, fui ao encontro do professor Paulo Caramelli em busca de uma oportunidade em iniciação científica. Por sorte, o professor Paulo estava justamente recrutando acadêmicos para um grande projeto de avaliação do envelhecimento cerebral. Com muita empolgação fomos até Caeté no verão de 2008, cidade agradável e acolhedora aos pés da serra da Piedade. Toda a equipe de saúde da cidade se mobilizou. Os participantes me marcaram, era o meu primeiro contato com idosos, dos saudáveis aos dementes, que gentilmente cederam seu tempo para serem extensamente avaliados. Aprendizados foram muitos, os colegas acadêmicos, médicos, terapeutas ocupacionais, psicólogos, enfermeiros foram fundamentais. Despertava em mim a curiosidade científica, o que poderia gerar de todo aquele trabalho. Ao final da residência em neurologia, surgiu a proposta de estudar a substância branca cerebral daqueles idosos de Caeté. Era mais um desafio, aprender uma nova técnica e mergulhar nas conexões cerebrais. Nessa parte, foi fundamental o apoio da professora Fernanda Tovar Moll, brilhante pesquisadora que me acolheu no Instituto D'Or de pesquisa no Rio de Janeiro. Os físicos do Instituto, Fernanda Meirelles e Ivanei Bramati, gentilmente realizaram as análises de tractografia. Em Belo Horizonte, paralelamente, aprendia outras técnicas com o professor Leonardo Cruz de Souza, exímio pesquisador recém chegado da França. Dedicou tempo me orientando sobre os princípios da ressonância magnética estrutural no Laboratório Interdisciplinar de Investigação Médica, dos professores Antônio Lúcio Teixeira e Ana Cristina Simões, com toda sua agradável equipe. Finalmente chegou o grande momento. Esse sonho não seria possível sem meus queridos pais. Desde meus primeiros anos na escola me incentivaram a desafiar o conhecimento e lutar pelo meu sucesso. Mãe exemplo de dedicação e perseverança, pai, guiou toda a minha trajetória, despertando a busca incessante pelo saber. Bruno foi apoio incondicional a todas as escolhas, incentivando a assumir desafios cada vez maiores. Enfim, nada disso seria possível sem as pessoas que amamos e que nos amam, sem as que nos ajudam, que nos acolhem, que nos despertam e que nunca nos deixam desistir.

Lista de Abreviaturas

BCB: Bateria Cognitiva Breve

CCND: Comprometimento cognitivo não demência

CDR: *Clinical Dementia Rating*

CERAD: *Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease*

CHC: Fascículo do cíngulo parte hipocampal

DTI: *Diffusion Tensor Imaging*

FA: *Fractional Anisotropy*

FLS: Fascículo Longitudinal Superior

FOV: *Field of View*

FWE: *Family Wise Error*

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

JHU: *John Hopkins University*

MD: *Mean Diffusivity*

MEEM: Mini Exame do Estado Mental

MNI: Montreal Neurological Institute

MR: *Magnetic Resonance*

RAVLT: *Rey Auditory Verbal Learning Test*

RM: Ressonância magnética

ROI: *Region of interest*

SLF: *Superior Longitudinal Fasciculus*

SPSS: *Statistical Package for the Social Sciences*

TBSS: *Tract-Based Spatial Statistics*

TFCE: *Threshold Free Cluster Enhancement*

UF: *Uncinate fasciculus*

UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais

WM: *White Matter*

Sumário

Resumo	10
Abstract	11
I. Antecedentes científicos.....	12
II. Objetivos.....	16
III. Participantes e métodos	17
III.1. Participantes.....	17
III.1.a. Bateria Cognitiva Breve.....	18
III.1.b. Teste Auditivo Verbal de Rey	19
III.2. Aquisição da neuroimagem, processamento e análise	19
III.3. Processamento das imagens por tensor de difusão	21
III.4. Análise de todo o cérebro.....	21
III.5. Análise das ROIs.....	24
III.6. Análises estatísticas	27
IV. Referências bibliográficas	28
V. Artigo.....	33
VI. Considerações finais.....	57
Apêndice I.....	58

Índice de tabelas

Tabela 1	20
----------------	----

Índice de figuras

Figura 1.....	23
Figura 2.....	23
Figura 3.....	25
Figura 4.....	25
Figura 5.....	26
Figura 6.....	26
Figura 7.....	27

Resumo

A associação entre integridade da substância branca cerebral, desempenho cognitivo e reserva cognitiva em idosos é um campo desafiador na pesquisa clínica. O presente estudo teve como objetivo investigar, por meio de ressonância magnética (RM) de encéfalo utilizando a técnica de imagem por tensor de difusão (*diffusion tensor imaging* - DTI), se alterações focais da microestrutura da substância branca cerebral têm influência sobre o desempenho cognitivo e avaliar se a alfabetização tem influência sobre a integridade da substância branca em um grupo de indivíduos idosos muito idosos vivendo na comunidade.

Trinta e um participantes (23 indivíduos cognitivamente saudáveis e oito com comprometimento cognitivo não demência), 22 mulheres, com idade média $80,4 \pm 3,8$ anos com $2,2 \pm 1,9$ anos de escolaridade foram selecionados da coorte Pietà, um estudo de base populacional sobre envelhecimento cerebral. Foram submetidos à RM de encéfalo 3 Tesla com aquisição das imagens de DTI com aplicação dos gradientes de sensibilização da difusão a 32 direções não colineares e b fator de 1000s/mm^2 . Foram contrastados os alfabetizados (n =21) com os analfabetos (n =10) e realizados testes de correlação de medidas de integridade microestrutural da substância branca com testes de memória, o *Rey Auditory Verbal Learning Test* (RAVLT) e o teste de memória da Bateria Cognitiva Breve (BCB), por meio de análise cerebral total e de regiões de interesse (ROI).

Os indivíduos alfabetizados tiveram maior integridade microestrutural no fascículo longitudinal superior direito medida pela anisotropia fracionada (*fractional anisotropy* - FA). Nas análises de correlação, o desempenho na BCB (evocação tardia) correlacionou-se com FA em feixes de conexão frontal temporal e parietal na análise de todo o cérebro e com o cíngulo parte hipocampal (CHC) bilateralmente e fascículo longitudinal superior direito na análise ROI. A soma da pontuação RAVLT A1-A5 (memória imediata) e a pontuação RAVLT A7 (evocação tardia) se correlacionaram com o CHC bilateralmente, mas somente na análise ROI. Portanto, a integridade da microestrutura da substância branca cerebral correlacionou-se com o desempenho em testes de memória episódica, bem como associou-se à alfabetização em uma coorte de idosos da comunidade.

Palavras chave: Imagem de tensor de difusão, substância branca, memória episódica, reserva cognitiva, envelhecimento.

Abstract

The association between white matter (WM) integrity, cognitive performance and cognitive reserve in elderly subjects is a challenging field of research. We applied magnetic resonance (MR) diffusion tensor imaging (DTI) to investigate whether regional changes in WM integrity would impact on episodic memory performance and to evaluate the influence of education in WM microstructure in oldest-old individuals with low education living in community.

Subjects were selected from the Pietà cohort, a community-based study on brain aging. Overall, 31 subjects (23 cognitively healthy and eight patients with cognitive impairment-no dementia), being 22 women, aged 80.4 ± 3.8 years, with 2.2 ± 1.9 years of education, underwent a 3 Tesla MR scanner with DTI acquisition. Diffusion sensitization gradients were applied to 32 non-collinear directions with b factor of 1000s/mm^2 . We contrasted literate ($n = 21$) with illiterate subjects ($n = 10$) and correlated the performance on the memory test from the Brief Cognitive Battery (BCB) and on the Rey Auditory Verbal Learning Test (RAVLT) with fractional anisotropy (FA) and mean diffusivity using both whole brain tract-based spatial statistics and regions of interest (ROI) approaches.

Literate subjects had significantly higher FA values in right superior longitudinal fasciculus in ROI analysis. BCB delayed recall task correlated positively with FA values in frontal temporal parietal connection bundles in whole brain and with cingulum-hippocampal part (CHC) bilaterally and right superior longitudinal fasciculus in ROI analysis. RAVLT A1-A5 sum of scores and RAVLT A7 score also correlated with CHC bilaterally, but only in ROI analysis.

In conclusion, WM integrity correlated with episodic memory performance and was associated with literacy in the elderly living in community.

Key words: Diffusion tensor imaging, white matter, episodic memory, cognitive reserve, aging.

I. Antecedentes científicos

O crescente aumento da expectativa de vida associado à redução da taxa de fecundidade observada nas últimas décadas no Brasil resultaram em incremento significativo da população idosa no país. Particularmente expressivo é o aumento do número de indivíduos com idade acima de 75 anos, os idosos muito idosos (1). Uma das consequências desse processo é o aumento da prevalência de doenças crônico-degenerativas que ocorrem durante o envelhecimento. Dentre essas se destacam transtornos neurológicos comuns em idosos, como comprometimento cognitivo, demência e parkinsonismo, geralmente secundários a doenças degenerativas ou à doença vascular encefálica (2, 3). Além disso, como o Brasil é um país em desenvolvimento, grande parcela da população idosa tem baixa escolaridade e, conseqüentemente, tem prejuízo da reserva cognitiva, o que constitui fator de risco para desenvolvimento de quadros demenciais neurodegenerativos (4).

A ressonância magnética (RM) constitui importante ferramenta para o diagnóstico de enfermidades neurológicas e ainda, com a utilização de modernas técnicas como a imagem funcional e por tensor de difusão (*diffusion tensor imaging* - DTI), vem se mostrando útil nos estudos sobre o desenvolvimento cerebral (5). A técnica de DTI possibilita dissecar tratos da substância branca de forma não invasiva (6), permitindo comparações estruturais entre o cérebro normal e doente, bem como correlações entre a estrutura da substância branca e diferentes funções cognitivas (7). Esse método se baseia na propriedade de anisotropia da água: a difusão das suas moléculas é mais rápida na direção das fibras. O fato da difusão da água ser sensível à microestrutura do tecido subjacente permite uma forma única de análise da orientação e integridade das fibras neurais, o que pode ser útil na avaliação de doenças neurológicas que afetam a substância branca e, conseqüentemente, a conectividade cerebral (8). Existem duas medidas derivadas da análise DTI. A primeira é a anisotropia fracionada (*fractional anisotropy* - FA) que representa a direção longitudinal da difusão das moléculas de água. Quando o trato de substância branca está intacto, há um máximo direcionamento das moléculas de água, com mínima movimentação aleatória. Conseqüentemente, quanto mais íntegro e organizado o trato, maior a FA e quanto maior a degeneração dos feixes, menor a FA. A segunda é a difusividade média, (*mean diffusivity* - MD) que representa principalmente a direção radial da movimentação das moléculas de água. Quanto mais íntegra a barreira neuronal, constituídas pela mielina e membrana celular,

menor a MD. Logo, em processos em que há lesão da barreira neuronal, há aumento da MD (5). Além disso, há possibilidade de focalizar a análise em regiões de interesse (*regions of interest* - ROI), baseado em hipóteses ou sítios lesionais. Desse modo, são colocados pontos de origem para reconstrução de algoritmos tridimensionais baseados na direção da difusão da água, de forma que a trajetória de uma via pode ser traçada do ponto origem até outro ponto no cérebro (9). Interessantemente, essas alterações são possíveis de serem avaliadas mesmo quando as técnicas convencionais de RM não detectam nenhuma alteração, por serem capazes de detectar lesões da substância branca em nível microestrutural até então inacessíveis a métodos convencionais de neuroimagem. Com essa técnica, cresceu o número de estudos avaliando a integridade da substância branca no envelhecimento normal e em doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer, buscando potenciais biomarcadores e correlacionando aspectos estruturais com funções cognitivas e a reserva cognitiva (7, 10-15).

A memória episódica consiste no sistema de armazenamento e acesso consciente a informações sobre fatos e eventos (16). Seu correlato neural começou a ser delineado a partir dos estudos com o paciente HM, que após hipocampectomia bilateral para tratamento de epilepsia refratária, ficou incapaz de aprender de forma consciente e de recordar fatos ocorridos até dois anos antes da cirurgia, apesar de não haver nenhum déficit de linguagem ou de outras habilidades cognitivas (17). Desde então várias condições foram associadas a comprometimento da memória como acidentes vasculares encefálicos, encefalites, traumas e hipóxia cerebral (16). Das causas degenerativas, a doença de Alzheimer caracteristicamente se apresenta com déficit de memória episódica, inclusive em sua fase inicial, com prejuízo do aprendizado verbal e não verbal e da evocação tardia, sem que os pacientes se beneficiem de pistas, caracterizando um déficit de consolidação e armazenamento da informação (18). Estudos estruturais e funcionais revelam que até mesmo nas fases pré-demenciais, como no comprometimento cognitivo leve pela doença de Alzheimer, há atrofia e hipometabolismo em regiões extra-hipocampais, como o córtex entorrinal, o tálamo e o giro do cíngulo (11, 19, 20).

Além disso, acredita-se que os tratos de substância branca também desempenhem papel importante no processo de memória episódica. De fato, alguns tratos como o cíngulo parte hipocampal e fascículos de conexão fronto-temporal e têmporo-parietal foram implicados no desempenho em testes de memória episódica

em diversos estudos envolvendo adultos jovens e idosos e em contextos como doenças neurodegenerativas e traumáticas (20-25).

Entretanto, até o momento, os estudos têm analisado a microestrutura da substância branca em indivíduos de alto nível educacional provenientes de centros de atenção especializada. Com isso, ainda não foi possível estudar a influência da integridade da substância branca no declínio cognitivo em indivíduos provenientes da comunidade, de baixo nível educacional e muito idosos (com 75 anos ou mais). O entendimento desse processo é importante uma vez que a prevalência de demência vem aumentando nos países em desenvolvimento, onde a maioria dos idosos tem baixa escolaridade (26).

Nos últimos anos, estudos vêm demonstrando que a alfabetização influencia o funcionamento e a estrutura cerebral (27). Desde o estudo com RM funcional de Castro-Caldas *et al* (28) que demonstrou que a ativação de áreas cerebrais é diferente nos analfabetos ao realizarem tarefas linguísticas como repetição de palavras, diversos outros estudos vêm mostrando diferenças no funcionamento do cérebro do analfabeto comparado ao alfabetizado (30-33). Foi possível inclusive identificar em alfabetizados uma área onde há ativação significativamente aumentada a estímulos visuais linguísticos conhecidos, a área da forma visual da palavra, no córtex visual occipito-temporal esquerdo (29). Além disso, a região do córtex perissilviano esquerdo também tem sua ativação aumentada a estímulos fonológicos de palavras e sentenças em alfabetizados quando comparado a analfabetos (29). Ainda mais intrigante foi o estudo que identificou por meio de morfometria baseada em voxel, alterações estruturais em cérebros de analfabetos. Comparados aos analfabetos, os alfabetizados possuíam maior volume de substância cinzenta nos giros angular, dorsal occipital e temporal médio bilaterais e nos giros supramarginal e temporal superior posterior esquerdos, além de maior volume de substância branca no corpo caloso (30). Apesar de existirem muitos estudos com RM funcional, existem poucos com RM estrutural. Petersson *et al.*(31) identificaram aumento da intensidade da substância branca em alfabetizados também no corpo caloso e em regiões parietais inferiores e parietais temporais bilateralmente, em um estudo com morfometria baseada em voxel. Até o momento, existe apenas um estudo comparando alfabetizados com analfabetos com relação à integridade microestrutural de substância branca. Thiebaut de Schotten *et al.* (32) identificaram aumento dessa integridade referida pelo aumento da FA do fascículo arqueado esquerdo em alfabetizados utilizando a técnica de DTI. Segundo os

autores, esse achado confirma a importância da conexão de regiões do córtex occipito-temporal esquerdo (área da forma visual da palavra) com áreas da linguagem através desse fascículo.

Logo, o presente estudo visa analisar a integridade microestrutural da substância branca nos indivíduos alfabetizados comparados aos analfabetos e a influência dessa integridade no declínio da memória. A população estudada é única na literatura, pois se trata de idosos muito idosos com baixa escolaridade provenientes da comunidade. Essa população pode ser considerada um modelo das inter-relações entre envelhecimento sem demência, integridade da substância branca e reserva cognitiva.

II. Objetivos

Objetivo geral:

Investigar a relação entre desempenho em testes de memória, alfabetização e integridade da substância branca cerebral em idosos de uma comunidade.

Objetivos específicos:

1. Investigar a possível influência da alfabetização sobre a integridade microestrutural da substância branca cerebral, comparando indivíduos idosos alfabetizados com analfabetos, por meio de exame de RM de crânio utilizando a técnica de DTI.
2. Correlacionar dados quantitativos relativos ao desempenho de memória de indivíduos idosos com dados de integridade de substância branca avaliados por exame de RM de crânio utilizando a técnica de DTI.

III. Participantes e métodos

III.1. Participantes

Os dados foram obtidos no estudo Pietà, projeto de pesquisa epidemiológica de base populacional conduzido na cidade de Caeté (MG), localizada na região metropolitana de Belo Horizonte (33). O projeto foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (Ref. ETIC 126/07) e todos os participantes ou seus responsáveis legais assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice I).

Segundo o censo do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), havia 1.251 indivíduos com idade de 75 anos ou mais (3,2% do total da população total) vivendo na cidade de Caeté, sendo 769 (61,4%) mulheres e 482 (38,6%) homens (34). Foi realizada busca ativa na comunidade, por meio de agentes de saúde e divulgação na imprensa local, para recrutamento dos participantes.

Os indivíduos foram analisados em três fases:

A primeira fase consistiu em entrevista, com registro de aspectos demográficos, socioeconômicos, hábitos e qualidade de vida.

A segunda fase consistiu em avaliação clínica estruturada realizada por oito médicos neurologistas e geriatras previamente treinados, auxiliados por 10 acadêmicos do Curso de Medicina da UFMG, alunos de Iniciação Científica (terceiro ao quinto ano). Foram realizados exames físico e neurológico, incluindo a parte motora da escala *Unified Parkinson's Disease Rating Scale* (35) e avaliação cognitiva, comportamental e funcional com os seguintes instrumentos: Mini-Exame do Estado Mental (MEEM) (36, 37), Bateria Cognitiva Breve (BCB) (38-40), *Functional Assessment Staging* (41), questionário de atividades funcionais de Pfeffer (42), escala geriátrica de depressão (43) e avaliação psiquiátrica por meio de entrevista estruturada (*Mini International Neuropsychiatric Interview*) (44). Ainda nessa fase, uma parcela aleatória de indivíduos cognitivamente saudáveis e aqueles participantes com suspeita de comprometimento cognitivo foram submetidos à avaliação neuropsicológica. Os critérios usados para definir a suspeita de comprometimento cognitivo foram: para analfabetos, pontuação no MEEM menor que 18 e pontuação na fluência categórica de animais menor que nove; nos indivíduos com escolaridade de um a três anos, MEEM menor 23 e fluência de animais menor que 12; com escolaridade de quatro a sete anos, MEEM menor que

25 e fluência de animais menor que 12; e para oito anos ou mais de escolaridade, MEEM menor que 26 e fluência menor que 13. Finalmente, independentemente da escolaridade, pontuação na tarefa de evocação tardia da BCB menor que seis. As avaliações foram realizadas por uma equipe de neuropsicólogas, terapeutas ocupacionais e fonoaudiólogas e consistiram em: *Mattis Dementia Rating Scale* (45, 46) *Rey Auditory Verbal Learning Test* (RAVLT) (47-49), testes de nomeação e praxia do *Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease - CERAD* (50), tarefa de fluência verbal fonêmica - FAS, Bateria de avaliação frontal (51) e a escala *Clinical Dementia Rating - CDR* (52). Indivíduos com demência foram avaliados também pela escala Cornell para depressão em demência (53).

Finalmente, na terceira fase foram realizados exames laboratoriais: bioquímica, função tireoidiana, perfil lipídico, vitamina B12 e extração de DNA para genotipagem da apolipoproteína E.

Desse modo, as três fases do estudo permitiram estabelecer o status clínico, funcional, neurológico e psiquiátrico dos participantes. De acordo com critérios diagnósticos clínicos previamente estabelecidos, foram definidas quatro condições principais: comprometimento cognitivo não demência (CCND) (54, 55), demência e envelhecimento cerebral bem sucedido, esse último definido como ausência de doença neurológica ou psiquiátrica, estando o indivíduo com independência funcional (56-59).

Foram entrevistados 639 indivíduos, sendo 409 mulheres e 230 homens, com idade média de $81,4 \pm 5,2$ anos e escolaridade de $2,7 \pm 2,6$ anos. Essa amostra correspondeu a 51,1% da população com 75 anos ou mais vivendo na cidade. Dos participantes, 75% tinham de 75 a 84 anos e 27,6% eram analfabetos.

Segue, nos próximos itens, o detalhamento dos dois testes de memória utilizados para a análise do presente estudo.

III.1.a. Bateria Cognitiva Breve

A BCB é um instrumento que avalia principalmente aspectos de memória verbal e visual. Inicialmente é apresentada ao indivíduo uma prancha com 10 desenhos simples (sapato, casa, pente, chave, avião, balde, tartaruga, livro, colher e árvore) que devem ser identificados e nomeados. Os desenhos são imediatamente retirados e solicita-se ao indivíduo que os evoque, na fase de memória incidental, em que se avalia principalmente a memória operacional. Depois, a prancha é

mostrada mais duas vezes com 30 segundos de memorização, sendo os desenhos evocados duas vezes, a primeira sendo a memória imediata e a segunda, o aprendizado. Após um período de interferência em que são aplicados os testes de fluência categórica de animais (número de animais em um minuto) e o desenho do relógio, os desenhos são evocados livremente na fase de evocação tardia. Finalmente, é mostrada outra prancha com os desenhos originais misturados a outros 10 desenhos e é solicitado que se reconheça os desenhos vistos previamente, na fase de reconhecimento (40). Esse teste tem alta acurácia para identificar indivíduos com doença de Alzheimer, mesmo em fases iniciais, e não sofre influência da escolaridade (60).

III.1.b. Teste Auditivo Verbal de Rey

O RAVLT é um dos testes mais amplamente usados para estudar a memória episódica e avalia essencialmente a memória verbal nos processos de codificação, aprendizado, evocação tardia e reconhecimento. O indivíduo é confrontado com uma lista de 15 palavras (lista A) lidas em voz alta por cinco vezes e evocadas livremente após cada leitura (A1-A5). Esta etapa representa a fase de aprendizado. Após a quinta evocação, uma lista diferente (lista B) é lida e livremente evocada logo após (B1). Imediatamente, a lista A é evocada livremente (A6). Após cerca de 30 minutos com atividades distrativas, é solicitado ao indivíduo que evoque novamente a lista A (A7) na fase de evocação tardia. Finalmente, o indivíduo tem que reconhecer as palavras da lista A em uma lista com 50 palavras que contêm a lista A, a lista B e outras relacionadas fonêmica e semanticamente àquelas das listas A e B. Sabe-se que esse teste sofre importante influência da escolaridade (47).

III.2. Aquisição da neuroimagem, processamento e análise

Um ano após a coleta dos dados iniciais, 200 participantes aleatórios foram convidados a realizar RM de encéfalo. Nessa quarta fase os indivíduos foram reavaliados do ponto de vista clínico, neurológico e psiquiátrico para atualização diagnóstica.

Cento e oitenta e nove indivíduos aceitaram ser submetidos à RM de encéfalo de 3 Tesla em aparelho Philips Achieva. A imagem de DTI foi adquirida em 49 indivíduos com aquisição em um único tempo, sequências *spin-echo* e *echoplanar*

no plano axial com Tempo de repetição/Tempo Echo = 8000/65 ms, *Field of View* - FOV = 240 mm, matrix = 96x96 (reconstruída 128x128), espessura do corte = 2,0 mm com 1,99 mm de intervalo entre os cortes. Gradientes de sensibilização da difusão foram aplicados a 32 direções não colineares com o b fator de 1000 s/mm².

As lesões da substância branca foram graduadas de acordo com a escala Fazekas, escala visual de graduação de lesões na substância branca associada ao envelhecimento (61) (Tabela 1). Nessa avaliação a soma das pontuações fornece uma graduação de 0 a 6, correlacionando com o grau de lesão na substância branca.

Tabela 1

Escala de análise visual semi-quantitativa de lesões de substância branca cerebral

Escala Fazekas

Lesões na substância branca

0	<i>Sem lesões</i>
1	<i>Lesões focais</i>
2	<i>Lesões confluentes</i>
3	<i>Envolvimento difuso com ou sem envolvimento das fibras em U.</i>

Lesões nos núcleos da base

0	<i>Sem lesões</i>
1	<i>1 lesão focal (> 5mm)</i>
2	<i>> 2 lesões focais</i>
3	<i>Lesões confluentes</i>

III.3. Processamento das imagens por tensor de difusão

As imagens de RM com aquisição de DTI foram pré-processadas e analisadas no software FSL 4.0 FMRIB (62, 63). Para cada indivíduo e antes de estimar os mapas de difusão específicos, todas as imagens foram visualmente inspecionadas para artefatos. Dezoito indivíduos foram removidos devido a artefatos. Dos 31 restantes, 19 possuíam a avaliação neuropsicológica completa. As imagens foram então corregistradas e corrigidas para artefatos de movimento e para distorções através do *eddy current*. Essa ferramenta permite remover os artefatos causados pela passagem de corrente elétrica cerebral durante a aquisição das imagens. O tensor de difusão de cada voxel foi calculado baseado nos *eigenvectors* (v_1, v_2, v_3) e *eigenvalues* ($\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$) usando diagonalização e correspondência multivariada. Após o cálculo da FA e da MD por meio dos *eigenvalues*, mapas coloridos foram gerados a partir dos valores de FA e três elementos vetores de v_1 para visualizar as orientações dos tratos de substância branca (Figura 1). As imagens FA e MD foram extraídas dos voxels não cerebrais (*Brain Extraction Tool*, FSL) e registradas no modelo *Montreal Neurological Institute* (MNI152) usando registro não linear (*Image Registration Toolkit*) (64). Os valores de FA e MD foram utilizados para análise de todo o cérebro e dos ROIs por meio da técnica *Tract-Based Spatial Statistics* (TBSS) (65).

III.4. Análise de todo o cérebro

Para avaliar as correlações entre integridade microestrutural da substância branca e os testes de memória, análises estatísticas de todo o cérebro dos valores de FA e MD foram conduzidas usando o TBSS, com idade e escolaridade como variáveis de não interesse. Para preservar ao máximo a integridade da estrutura dos tratos de substância branca, um método de registro não linear baseado no voxel é usado para inscrever as imagens FA e MD em um espaço padrão (IRTK software, *Image Registration Toolkit*) (66). As imagens de FA são alinhadas às imagens do primeiro indivíduo, que é usada como alvo referência. Esse alvo é então alinhado ao modelo MNI152 padronizado e amostrado em 1x1x1 mm usando tanto os volumes segmentados quanto os não segmentados. Depois, tanto as transformações não lineares quanto as alinhadas da imagem-alvo são aplicadas às imagens de cada indivíduo. A média das imagens reamostradas alinhadas cria a FA média de todos

os indivíduos e é usada para gerar o *skeleton-tract*, que representa os tratos compartilhados por todos os sujeitos. Finalmente, os dados FA de cada sujeito são projetados na *mean FA skeleton mask* para gerar a informação FA final (Figura 2).

Para contrastar os alfabetizados com os analfabetos, o teste t de Student foi aplicado usando inferência não paramétrica com 10.000 permutações aleatórias (FSL Randomise tool) (66) em cada voxel do resultante dos dados do esqueleto médio (*mean skeletonized*), usando idade como variável de não interesse. Os resultados foram considerados significativos considerando $p < 0,05$, usando a correção *Threshold-Free Cluster Enhancement* (TFCE). Essa correção permite a identificação dos *clusters* significativos sem estabelecê-los de forma arbitrária previamente, independentemente da influência do processo de suavização, minimizando possíveis erros e tornando os dados mais confiáveis e robustos (67). Além disso, foi feita a correção para múltiplas comparações com o *Family Wise Error* (FWE). As imagens resultantes foram espessadas para melhor visualização

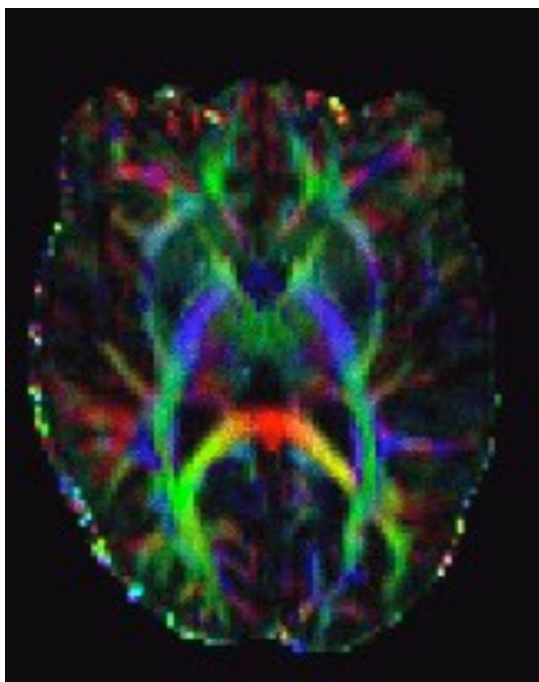


Figura 1

Mapa gerado a partir dos valores de anisotropia fracionada obtidos dos *eigenvalues*. Cada cor representa a direção predominante dos feixes: vermelho na direção látero-lateral (corpo caloso por exemplo), azul na direção crânio-caudal (exemplo trato córtico-espinhal) e verde ântero-posterior (exemplo fascículo longitudinal superior).

Fonte: <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl>.

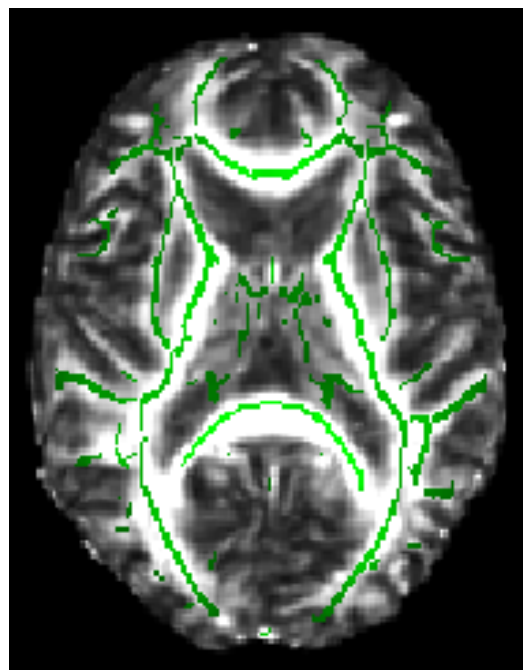


Figura 2

Média dos valores de anisotropia fracionada reamostradas e realinhadas através do *Tract-Based Spatial Statistics* formando o *mean-skeleton*, a base para os cálculos estatísticos
Fonte: <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl>.

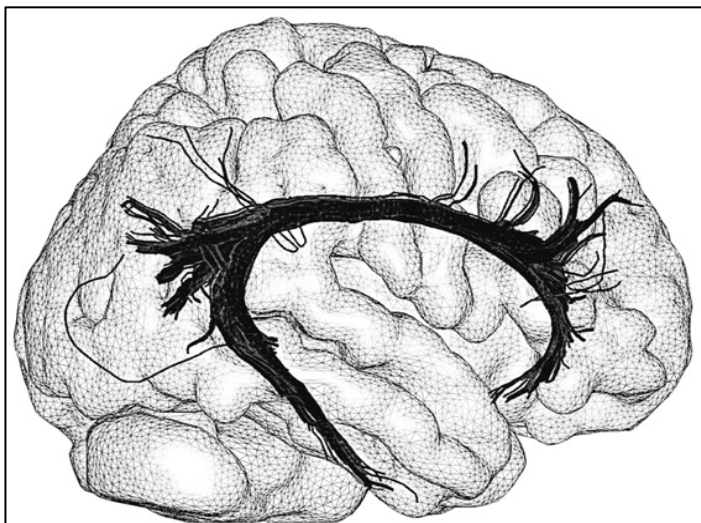
III.5. Análise das ROIs

As ROIs foram colocadas automaticamente e conferidas por um investigador experiente usando o atlas de DTI da substância branca humana para determinar a direção dos tratos usando o *ROIEditor/DtiStudio software* (68). As regiões anatômicas foram obtidas do atlas *John Hopkins University* (JHU) (69).

Para a correlação com os testes de memória, as ROIs foram colocadas nas seguintes regiões: cíngulo parte hipocampal (Figura 3), que conecta a formação hipocampal com o córtex do cíngulo superior; fascículo longitudinal superior (Figura 4), que conecta os lobos frontal, parietal e temporal, e o fascículo uncinado (Figura 5), que conecta as regiões temporal anterior e prefrontal (70). Os fascículos do cíngulo e uncinado fazem parte do sistema límbico e classicamente estão associados à memória (71, 72). O fascículo longitudinal superior tem papel na atenção, processamento visual-espacial e memória operacional visual (71, 73). Além disso, o fascículo arqueado, que faz parte do fascículo longitudinal superior (71), é envolvido no aprendizado de leitura e escrita, por conectar a área da forma visual da palavra (29) com regiões temporais de interpretação fonológica (27).

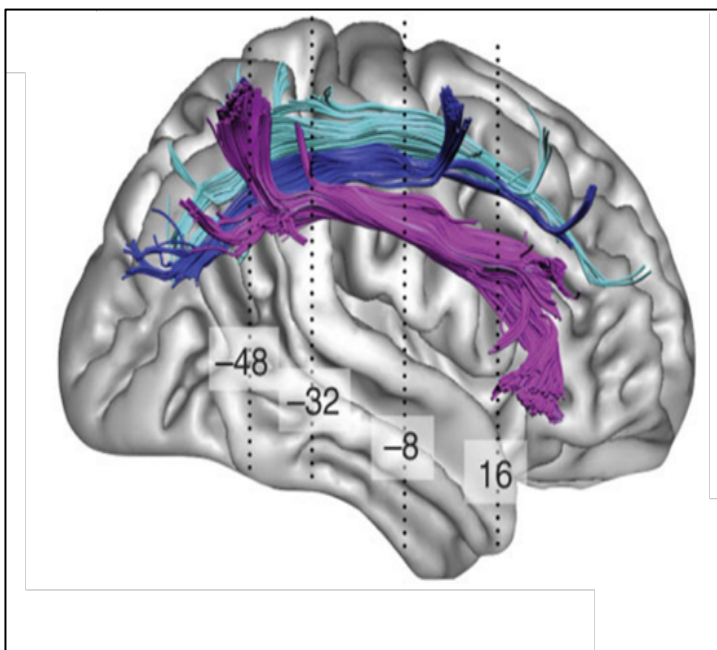
Para a análise de contraste entre alfabetizados e analfabetos foram analisados os fascículos longitudinal superior, fronto-occipital inferior (Figura 6) e longitudinal inferior (Figura 7). Esses três fascículos conectam áreas visuais primárias com áreas da linguagem oral e da escrita, acreditando-se que sejam importantes no processo de alfabetização (27). As médias e desvios-padrão dos valores de FA e MD foram automaticamente calculados. Correlações entre o desempenho na evocação tardia da BCB, a soma das pontuações RAVLT A1-A5 e da pontuação RAVLT A7 foram realizadas com as medidas derivadas do DTI através de análise de regressão múltipla, considerando a idade e a escolaridade como variáveis de não interesse. O contraste entre o grupo de alfabetizados e analfabetos foi realizado pelo teste t de Student com 10.000 permutações conforme descrito para a análise cerebral total (item IV.4), com idade como variável de não interesse. O valor de p considerado significativo foi $< 0,05$. Foram também usadas as correções TFCE para cluster (67) e FWE para comparações múltiplas.

Figura 3



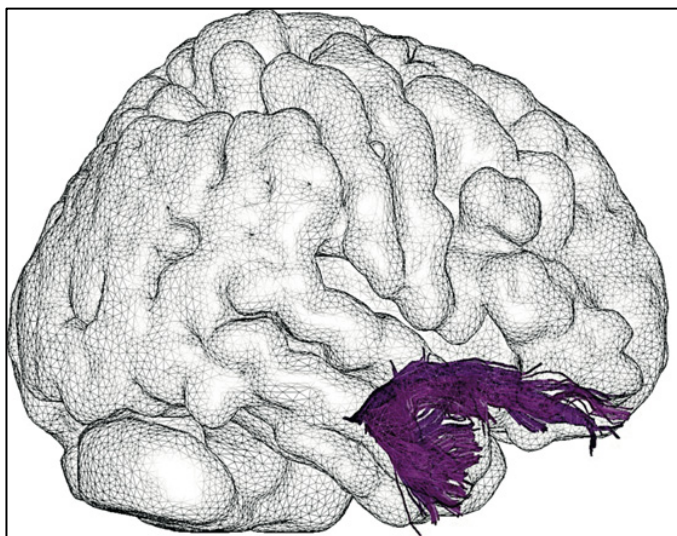
Fascículo do cíngulo vista lateral direita. O cíngulo é um feixe de associação medial que circunda o corpo caloso. Contém fibras de vários tamanhos, as maiores conectam o giro temporal anterior com o córtex órbito frontal. As fibras em U conectam os córtices frontal, parietal, occipital e temporal. Fonte: Catani M, Thiebaut de Schotten M. A diffusion tensor imaging tractography atlas for virtual in vivo dissections. *Cortex*, 2008;44:1105-32, com permissão do autor.

Figura 4



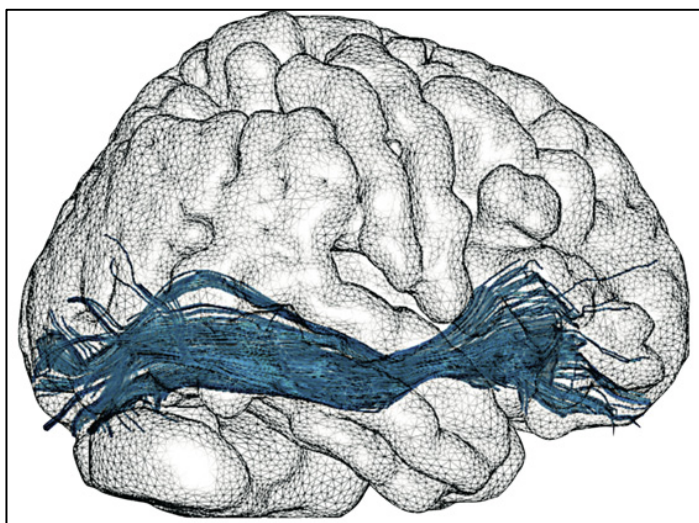
Fascículo longitudinal superior vista lateral esquerda. Esse fascículo é composto por três partes, uma dorsal que conecta o precúneo parietal à área motora suplementar e giro frontal superior; uma parte média, que conecta o lóbulo parietal inferior à parte lateral do giro frontal inferior (campo visual frontal) e ao giro frontal médio e finalmente a parte ventral, que conecta o lóbulo parietal inferior ao giro frontal inferior, acredita-se que possa conter o fascículo arqueado. Fonte: Thiebaut de Schotten M, Dell'Acqua F, Forkel SJ, Simmons A, Vergani F, Murphy DG et al. A lateralized brain network for visuospatial attention. *Nat Neurosci*. 2011;14(10):1245-6, com permissão do autor.

Figura 5



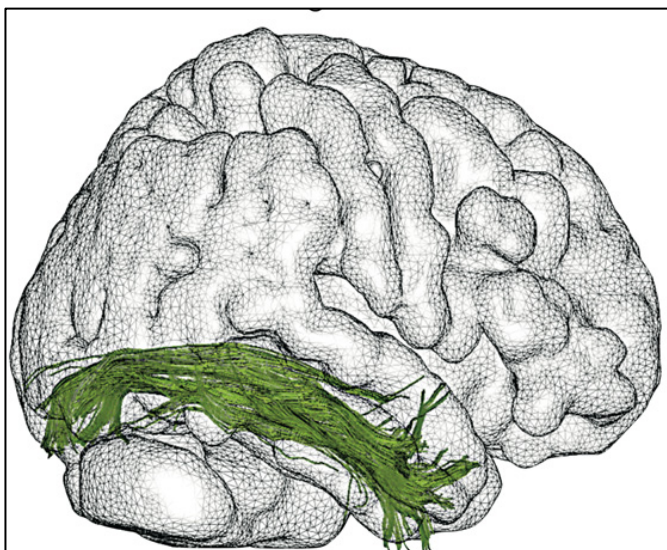
Fascículo uncinado vista lateral direita. Esse fascículo é uma via de associação ventral que conecta o lobo temporal anterior com o córtex órbito frontal medial e lateral. Fonte: Catani M, Thiebaut de Schotten M. A diffusion tensor imaging tractography atlas for virtual in vivo dissections. *Cortex*, 2008;44:1105-32, com permissão do autor.

Figura 6



Fascículo fronto-occipital inferior vista lateral direita. Esse fascículo é uma via de associação ventral que conecta o lobo occipital ventral ao córtex orbitofrontal. Em seu curso occipital está paralelo ao fascículo longitudinal inferior. Ao chegar no lobo temporal anterior, as fibras do fascículo fronto-occipital inferior se unem e entram na cápsula externa dorsalmente às fibras do fascículo uncinado. Fonte: Catani M, Thiebaut de Schotten M. A diffusion tensor imaging tractography atlas for virtual in vivo dissections. *Cortex*, 2008;44:1105-32, com permissão do autor.

Figura 7



Fascículo longitudinal inferior vista lateral direita. Esse fascículo é uma via de associação ventral com feixes longos e curtos conectando os lobos occipital e temporal. As fibras longas são mediais às fibras curtas e conectam áreas corticais visuais à amígdala e ao hipocampo. Fonte: Catani M, Thiebaut de Schotten M. A diffusion tensor imaging tractography atlas for virtual in vivo dissections. *Cortex*, 2008;44:1105-32, com permissão do autor.

III.6. Análises estatísticas

As variáveis demográficas e clínicas foram analisadas no software SPSS 16.0 (74). O teste Kolmogorov-Smirnov foi aplicado para identificar o padrão de distribuição das variáveis. Foi identificado que a idade, a soma da pontuação RAVLT A1-A5, a pontuação RAVLT A7 e a pontuação da evocação tardia do teste de memória da BCB tinham distribuição paramétrica. Os anos de escolaridade, o MEEM e a pontuação no Fazekas tinham distribuição não paramétrica.

Para a comparação de médias entre os grupos (analfabetos e alfabetizados) nas variáveis de distribuição paramétrica foi realizado o teste t de Student. Para a comparação das medianas nas variáveis de distribuição não paramétrica, o teste Mann-Whitney foi realizado. Para as comparações de variáveis categóricas (sexo e diagnóstico) foram utilizados os testes Qui quadrado e teste exato de Fisher.

O nível de significância foi estabelecido em 0,05, bicaudal, em todas as análises estatísticas.

IV. Referências bibliográficas

1. Carvalho JAM, Garcia RA. The aging process in the Brazilian population: a demographic approach. *Cad Saúde Pública*. 2003;19(3):725-33.
2. Herrera Jr E, Caramelli P, Silveira ASB, Nitrini R. Epidemiological survey of dementia in a community-dwelling Brazilian population. *Alz Dis Assoc Disord*. 2002;16:103-8.
3. Barbosa M, Caramelli P, Maia D, Cunningham M, Guerra H, Lima-Costa M, et al. Parkinsonism and Parkinson's disease in the elderly: a community-based survey in Brazil (the Bambui study). *Mov Disord*. 2006;21:800-8.
4. Christensen H, Anstey KJ, Parslow RA, Maller J, Mackinnon A, Sachdev P. The brain reserve hypothesis, brain atrophy and aging. *Gerontology*. 2007;53:189-96.
5. Beaulieu C. The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system: a technical review. *NMR Biomed*. 2002;15:435-55.
6. Catani M, Howard RJ, Pajevic S, Jones DK. Virtual in vivo interactive dissection of white matter fasciculi in the human brain. *Neuroimage*. 2002;17(1):77-94.
7. Catani M. Diffusion tensor magnetic resonance imaging tractography in cognitive disorders. *Curr Opin Neurol*. 2006;19(6):599-606.
8. Conturo TE, Lori NF, Cull TS, Akbudak E, Snyder AZ, Shimony JS, et al. Tracking neuronal fiber pathways in the living human brain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999;96:10422-7.
9. Mesulam M. Imaging Connectivity in the Human Cerebral Cortex: The Next Frontier? *Annals of Neurology*. 2005;57:6-7.
10. Damoiseaux J, Smith S, Witter M, Sanz-Arigita E, Barkhof F, Scheltens P, et al. White Matter Tract Integrity in Aging and Alzheimer's Disease. *Hum Brain Mapp*. 2009;30(4):1051-9.
11. Mueller S, Keeser D, Reiser M, Teipel S, Meindl T. Functional and Structural MR Imaging in Neuropsychiatric Disorders, Part 1: Imaging Techniques and Their Application in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer Disease. *Am J Neuroradiol*. 2012;33(1845-1850).
12. Urrestaa FL, Medinab DA, M G. Diffusion MRI studies in vascular cognitive impairment and dementia. *Rev Bras Psiquiatr*. 2003;25(3):188-91.
13. Alichniewicz KK, Brunner F, Klünemann HH, Greenlee MW. Structural and functional neural correlates of visuospatial information processing in normal aging and amnesic mild cognitive impairment. *Neurobiology of Aging*. 2012;33:2782-97.
14. Rogalski E, Murphy C, deToledo-Morrell L, Shah R, Moseley M, Bammer R, et al. Changes in parahippocampal white matter integrity in amnesic mild cognitive impairment: A diffusion tensor imaging study. *Behav Neurol*. 2009;21(1):51.
15. Tovar-Moll F, de Oliveira-Souza R, Bramati IE, Zahn R, Cavanagh A, Tierney M, et al. White Matter Tract Damage in the Behavioral Variant of Frontotemporal and Corticobasal Dementia Syndromes. *Plosone*. 2014;9(7):e102656.
16. Carthery-Goulart MT, Caramelli P. Amnesia e Outros Transtornos de Memória. In: Teixeira AL, Caramelli P, editors. *Neurologia Cognitiva e do Comportamento*. Rio de Janeiro: Revinter; 2012. p. 87-98.
17. Scoville WB, Milner B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. 1957;20:11-21.
18. Dubois B, Howard H, Jacova C, Hampel H, Molinuevo JL, Blennow K, DeKosky ST, et al. Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. *Lancet Neurol*. 2014;13:614-29.

19. Frisoni GB, Testa C, Zorzan A, Sabattoli F, Beltramello A, Soininen H, et al. Detection of grey matter loss in mild Alzheimer's disease with voxel based morphometry J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2002;73:657-64.
20. Sexton CE, Mackay CE, Lonie JA, Bastin ME, Terriere E, O'Carroll RE, et al. MRI correlates of episodic memory in Alzheimer's disease, mild cognitive impairment, and healthy aging. Psychiatry Res. 2010;184(1):57-62.
21. Goldstein FC, Mao H, Wang L, Ni C, Lah JJ, Levey AI. White Matter Integrity and Episodic Memory Performance in Mild Cognitive Impairment: A Diffusion Tensor Imaging Study. Brain Imaging Behav. 2009;3(2):132-41.
22. Irish M, Hornberger M, Wahsh SE, Lam BYK, Lah S, Miller L, et al. Grey and White Matter Correlates of Recent and Remote Autobiographical Memory Retrieval – Insights from the Dementias. PLoS ONE 9. 2014;11:e113081.
23. Lockhart SN, Mayda AB, Roach AE, Fletcher E, Carmichael O, Maillard P, et al. Episodic memory function is associated with multiple measures of white matter integrity in cognitive aging. Front Hum Neurosci. 2012;16(6):56.
24. Palacios EM, Fernandez-Espejo D, Junque C, Sanchez-Carrion R, Roig T, Tormos JM, et al. Diffusion tensor imaging differences relate to memory deficits in diffuse traumatic brain injury. BMC Neurology. 2011;11:24-.
25. Metzler-Baddeley C, Jones DK, Belaroussi B, Aggleton JP, O'Sullivan MJ. Frontotemporal Connections in Episodic Memory and Aging: A Diffusion MRI Tractography Study. The Journal of Neuroscience. 2011;31(37):13236-45.
26. Wimo A, Winblad B, Jönsson L. The worldwide societal costs of dementia: Estimates for 2009. Alzheimers Dement. 2010;6(2):98-103.
27. Dehaene S, Cohen L, Morais J, Kolinsky R. Illiterate to literate: behavioural and cerebral changes induced by reading acquisition. Nature Reviews Neuroscience. 2015;16:234-44.
28. Castro-Caldas A, Petersson KM, Reis A, Stone-Elander S, Ingvar M. The illiterate brain: Learning to read and write during childhood influences the functional organization of the adult brain. Brain. 1998;121:1053-63.
29. Dehaene S, Pegado F, Braga LW, Ventura P, Nunes-Filho G, Jobert A, et al. How Learning to Read Changes the Cortical Networks for Vision and Language. Science. 2010;330:1359-64.
30. Carreiras M, Seghier ML, Baquero S, Estévez A, Lozano A, Devlin JT, et al. An anatomical signature for literacy. Nature. 2009;461(7266):983-6.
31. Petersson KM, Silva C, Castro-Caldas A, Ingvar MM, Reis A. Literacy: a cultural influence on functional left–right differences in the inferior parietal cortex. European Journal of Neuroscience. 2007;26:791-9.
32. Thiebaut de Schotten M, Cohen L, Amemiya E, Braga LW, Dehaene S. Learning to Read Improves the Structure of the Arcuate Fasciculus. Cerebral Cortex. 2014;24:989-95.
33. Caramelli P, Barbosa MT, Sakurai E, dos Santos EL, Beato RG, Machado JCB, et al. The Pietà study. Epidemiological investigation on successful brain aging in Caeté (MG), Brazil. Methods and baseline cohort characteristics Arq Neuropsiquiatr. 2011;69(4):579-84.
34. <http://www.ibge.gov.br/cidadesat> [
35. Fahn S, Elton RL. Unified Parkinsons Disease Rating Scale. Florham Park, NJ: Macmillan Health Care Information; 1987. 153–63 p.
36. Folstein MF, Folstein SE, McHugh P. 'Mini-Mental State'. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. J Psychiatr Res. 1975;12:189-98.

37. Brucki SM, Nitrini R, Caramelli P, Bertolucci PH, Okamoto IH. Sugestões para o uso do Mini-Exame do Estado Mental no Brasil. *Arq Neuropsiquiatr.* 2003;61:777-81.
38. Nitrini R, Lefèvre BH, Mathias SC, Caramelli P, Carrilho PE, Sauaia N, et al. Testes neuropsicológicos de aplicação simples para o diagnóstico de demência. *Arq Neuropsiquiatr.* 1994;52:457-65.
39. Castro S, Damin AE, Porto SC, Caramelli P, Nitrini R. The abbreviated form of the Brief Cognitive Battery in the diagnosis of dementia in Alzheimer's disease. *Dementia and Neuropsychologia.* 2009;3(4):327 - 31.
40. Nitrini R, Caramelli P, Herrera Junior E, Porto C, Charchat-Fichman H, Carthery M, et al. Performance of illiterate and literate nondemented elderly subjects in two tests of long-term memory. *J Int Neuropsychol Soc.* 2004;10:634-8.
41. Sclan S, Reisberg B. Functional assessment staging (FAST) in Alzheimer's disease: reliability, validity, and ordinality. *Int Psychogeriatr.* 1992;4(1):55-69.
42. Pfeffer RI, Kurosaki TT, Harrah CH, Chance JM, S F. Measurement of functional activities in older adults in the community. *J Gerontol.* 1982;37:323-9.
43. Yesavage JA, Brink TL, Rose TL, Lum O, Huang V, Adey M, et al. Development and validation of a geriatric depression rating scale: a preliminary report. *J Psych Res.* 1982;17(1):37-49.
44. Sheehan DV, Lecrubier Y, Sheehan KH, Amorim P, Janavs J, Weiller E, et al. The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J Clin Psychiatry.* 1998;59(Suppl 20):22-33;quiz 4-57.
45. Mattis S. Dementia Rating Scale. Florida: Psychological Assessment Resources; 1988.
46. Porto CS, Fichman HC, Caramelli P, Bahia VS, Nitrini R. Brazilian version of the Mattis dementia rating scale: diagnosis of mild dementia in Alzheimer's disease. *Arq Neuropsiquiatr.* 2003;61:339-45.
47. Malloy-Diniz LF, Lasmar VA, Gazinelli LS, Fuentes D, Salgado JV. The Rey Auditory-Verbal Learning Test: applicability for the Brazilian elderly population. *Rev Bras Psiquiatr.* 2007;29:324-9.
48. Schmidt M. Rey Auditory and Verbal Learning Test. Los Angeles: Western Psychological Services; 1996.
49. Rey A. L'examen clinique en psychologie. Paris: Presses Universitaires de France; 1958.
50. Bertolucci PH, Okamoto IH, Brucki SM, Siviero MO, Toniolo Neto J, Ramos LR. Applicability of the CERAD neuropsychological battery to Brazilian elderly. *Arq Neuropsiquiatr.* 2001;59:532-6.
51. Beato RG, Nitrini R, Formigoni AP, Caramelli P. Brazilian version of the frontal assessment battery (FAB): preliminary data on administration to healthy elderly. *Dement Neuropsychol.* 2007;1:59-65.
52. Chaves ML, Camozzato AL, Godinho C, Kochhann R, Schuh A, Almeida VL, et al. Validity of the clinical dementia rating scale for the detection and staging of dementia in Brazilian patients. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2007;21:210-7.
53. Carthery-Goulart MT, Areza-Fegyveres R, Schultz RR, Okamoto I, Caramelli P, Bertolucci PH, et al. Versão brasileira da Escala Cornell de Depressão em Demência (Cornell Depression Scale in Dementia). *Arq Neuropsiquiatr.* 2007;65:912-5.

54. Graham J, Rockwood K, Beattie B, Eastwood R, Gauthier S, Tuokko H, et al. Prevalence and severity of cognitive impairment with and without dementia in an elderly population. *Lancet*. 1997;349(9068):1793-6.
55. Eby EM, Hogan DB, Parhad IM. Cognitive impairment in the nondemented elderly. Results from the Canadian Study of Health and Aging. *Arch Neurol*. 1995;52:612-9.
56. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical Diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA work group under the auspices of department of health and human services task force on Alzheimer's disease. *Neurology*. 1984;34:939-44.
57. Román GC, Tatemichi TK, Erkinjuntti T, Cummings JL, Masdeu JC, Garcia JH, et al. Vascular dementia: diagnostic criteria for research studies. Report of the NINDS-AIREN International Workshop. *Neurology*. 1993;43:250-60.
58. Winblad B, Palmer K, Kivipelto M, Jelic V, Fratiglioni L, Wahlund LO, et al. Mild cognitive impairment--beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. *J Intern Med*. 2004;256:240-6.
59. <http://www3.who.int/icf/onlinebrowser/icf.cfm>. Methods and baseline cohort characteristics World Health Organization. [*International Classification of Functioning, Disability and Health*].
60. Nitrini R, Caramelli P, Porto Sellitto C, Charchat-Fichman H, Formigoni AP, Carthery-Goulart MT, et al. Brief cognitive battery in the diagnosis of mild Alzheimer's disease in subjects with medium and high levels of education. *Dementia e Neuropsychologia*. 2007;1:32-6.
61. Wahlund LO, Barkhof F, Fazekas F, Bronge L, Augustin M, Sjögren M, et al. A New Rating Scale for Age-Related White Matter Changes Applicable to MRI and CT. *Stroke*. 2001;32:1318-22.
62. Jenkinson M, Beckmann CF, Behrens TEJ, Woolrich MW, Smith SM. FSL. *NeuroImage*. 2012;62:782-90.
63. Smith SM, Jenkinson M, Woolrich MW, Beckmann CF, Behrens TEJ, Johansen-Berg H, et al. Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *NeuroImage*. 2004;23(S1):208-19.
64. Pajevic S, Pierpaoli C. Color schemes to represent the orientation of anisotropic tissues from diffusion tensor data: application to white matter fiber tract mapping in the human brain. *Magn Reson Med*. 1999;42:526-40.
65. Smith SM, Jenkinson M, Johansen-Berg H, Rueckert D, Nichols TE, Mackay CE, et al. Tract-based spatial statistics: Voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. *Neuroimage*. 2006;31(4):1487-505.
66. Rueckert D, Sonoda LI, Hayes C, Hill DL, Leach MO, Hawkes DJ. Nonrigid registration using free-form deformations: application to breast MR images. *IEEE Trans Med Imaging*. 1999;18(8):712-21.
67. Nichols T, Holmes A. Nonparametric permutation tests for functional neuroimaging: A primer with examples. *Hum Brain Mapp*. 2002;15.
68. Jiang H, van Zijl PC, Kim J, Pearlson GD, Mori S. DtiStudio: resource program for diffusion tensor computation and fiber bundle tracking. *Comput Methods Prog Biomed*. 2006;81:106-16.
69. Wakana S, Caprihan A, Panzenboeck MM, Fallon JH, Perry M, Gollub RL, et al. Reproducibility of Quantitative Tractography Methods Applied to Cerebral White Matter. *Neuroimage*. 2007;36(3):630-44.

70. Catani M, Thiebaut de Schotten M. A diffusion tensor imaging tractography atlas for virtual in vivo dissections. *Cortex*. 2008;44:1105-32.
71. Catani M, Thiebaut de Schotten M. *Atlas of Human Brain Connections*. New York: Oxford University Press Inc; 2012. 519 p.
72. Mega MS, Cummings JL, Salloway S, Malloy P. The limbic system: an anatomic, phylogenetic, and clinical perspective. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1997;9(3):315-30.
73. Alivisatos B, Milner B. Effects of frontal or temporal lobectomy on the use of advance information in a choice reaction time task. *Neuropsychologia* 1989;27(4):495-503.
74. SPSS I. *SPSS for Windows*. 16.0 ed. Chicago;2007.

V. Artigo

Integrity of white matter structure is related to episodic memory performance and literacy in elderly with low education

Abstract:

The association between white matter (WM) integrity, cognitive performance and cognitive reserve in elderly subjects is a challenging field of research. We applied magnetic resonance (MR) diffusion tensor imaging (DTI) to investigate whether regional changes in WM integrity would impact on episodic memory performance and to evaluate the influence of education in WM microstructure in oldest-old individuals with low education living in community.

Subjects were selected from the Pietà cohort, a community-based study on brain aging. Overall, 31 subjects (23 cognitively healthy and eight patients with cognitive impairment-no dementia), being 22 women, aged 80.4 ± 3.8 years, with 2.2 ± 1.9 years of education, underwent a 3 Tesla MR scanner with DTI acquisition. Diffusion sensitization gradients were applied to 32 non-collinear directions with b factor of 1000 s/mm^2 . We contrasted literate ($n = 21$) with illiterate ($n = 10$) subjects and correlated the performance on the memory test from the Brief Cognitive Battery (BCB) and on the Rey Auditory Verbal Learning Test (RAVLT) with fractional anisotropy (FA) and mean diffusivity using both whole brain tract-based spatial statistics and regions of interest (ROI) approaches.

Literate subjects had significantly higher FA values in right superior longitudinal fasciculus in ROI analysis. BCB delayed recall task correlated positively with FA values in frontal temporal parietal connection bundles in whole brain and with cingulum-hippocampal part (CHC) bilaterally and right superior longitudinal fasciculus in ROI analysis. RAVLT A1-A5 sum of scores and RAVLT A7 score also correlated with CHC bilaterally, but only in ROI analysis.

In conclusion, WM integrity correlated with episodic memory performance and was associated with literacy in the elderly living in community.

Key words: Diffusion tensor imaging, white matter, episodic memory, cognitive reserve, aging.

1. Introduction

The understanding of how brain aging occurs without dementia is essential to develop preventive and early therapeutic interventions in neurodegenerative diseases. Memory decline is one of the earliest symptoms of Alzheimer's disease, and is also present in normal aging (1). Moreover, the cognitive reserve can influence on how cognitive decline occurs (2) and education is one of the most important active components of this reserve (3).

Episodic memory consists of conscious storage and retrieving of information about previous events that enables a person to remember her past (4). Traditionally, this ability has been attributed to the structure and function of the hippocampus and the medial temporal lobes (5). However, the role of white matter (WM) integrity of frontal temporal and temporal parietal connections has been increasingly recognized as being important for memory performance. Indeed, it is possible that alterations in WM integrity, related not only to age, but also to vascular disease, could affect the connectivity of networks important to cognition. Previous studies have shown that memory function is associated with WM integrity in the inferior longitudinal fasciculus, the posterior and anterior cingulum (6), the uncinate fasciculus, the inferior and superior longitudinal fasciculi, the dorsal cingulum bundle (7) and the cingulum hippocampal part (8). However, these studies have explored the correlation between episodic memory and WM integrity in highly educated individuals, selected under strict criteria from research centers (7, 9-11). Hence, it remains to be explored the role of WM integrity on episodic memory performance in older and low educated subjects. The relevance of studying this group refers to the the growing prevalence of dementia in developing countries, where the elderly educational level is still very low (12).

Besides, literacy can influence on brain functioning and anatomy. Studies have demonstrated that brain activity is higher in parietal occipital regions in literate subjects during verbal tasks (13-15) and there are higher intensities of gray matter in temporal parietal cortices and white matter in corpus callosum of literate subjects (16). Literacy can also be protective against memory decline (17, 18). It has also already been explored the relationship between education, WM integrity (17, 19) and white matter volume (20), but in individuals with high educational level. However, it is known that, in studies involving high-educated subjects, the observed brain architecture reflects the influence of culture and education over normal brain development (21). Moreover, in terms of WM correlates of literacy the literature is even

poorer. Petersson et al (22) demonstrated that literate individuals have higher WM intensities in the corpus callosum and inferior parietal and parietal temporal regions through voxel based morphometry approach. Thiebaut de Schotten et al (23) compared literate middle-aged subjects to age-matched illiterate individuals in terms of WM microstructure, and identified that illiterates had significant lower fractional anisotropy (FA) in left arcuate fasciculus. Hence, it remains to be investigated if the alphabetization process can influence on WM microstructure in elderly with low educational level. In fact, the identification of possible brain structural changes related to memory decline and the influence of literacy on WM integrity could help to understand the process of memory changes in normal and pathological aging (24, 25).

Magnetic resonance (MR) diffusion tensor imaging (DTI) enables a detailed and quantitative assessment of microstructural WM tissue integrity (26, 27). Decrease in FA and increase in mean diffusivity (MD), the most used DTI parameters, have been correlated to WM degeneration tracts and microstructural damage of neuron barriers such as myelin and cell membranes (28). The sensitivity of DTI measurements can benefit from higher magnetic field (29) and from advanced post-processing approaches, such as the whole-brain tract-based spatial statistics (TBSS) technique, which can improve the reliability to the analysis and interpretation of multi-subject DTI datasets (30).

In the present study, we applied advanced neuroimaging techniques with regions of interest (ROI) and whole brain analyses to investigate correlations between DTI measurements and memory and to evaluate the possible influence of literacy in WM integrity in subjects aged 75 or more years with low educational level and without dementia living in community. Our hypotheses were that regional changes in WM integrity could impact on episodic memory performance and could be associated with literacy.

2. Methods

2.1 Participants: The subjects were selected from the Pietà cohort, a community-based study on brain aging conducted in Caeté (Minas Gerais state), Brazil (31). Six hundred thirty-nine individuals, corresponding to 51.1% of the city population aged 75+ years were evaluated. Participants were submitted to a thorough clinical, neurological and functional evaluation. Blood samples were collected for routine laboratory tests, including TSH, B12

vitamin and VDRL to rule out reversible causes of cognitive impairment. The clinical, functional, neurological and psychiatric status of the participants were established and they were classified in healthy brain aging, cognitive impairment-no dementia (CIND) (32, 33) and dementia. Healthy brain aging was defined as absence of any neurological or psychiatric disturbance and on presence of functional independence, based on clinical, neuropsychological and functional assessments. For this study analyses, we included both cognitive healthy and CIND individuals in order to improve the range of performance in the memory tests allowing to detect WM microstructural changes. Because it was a population-based study, the CIND concept was preferred (34). Indeed, in the present study, most of the CIND subjects and their relatives did not have cognitive complaints and cognitive impairment was identified only after clinical and neuropsychological assessment. Demented subjects were excluded because the objective was to analyze the influence of WM integrity on cognitive performance in individuals with good functional status. Because Brazil is a developing country, the illiteracy indices are very high, mainly among the elderly. In the beginning of the first century, the population lived essentially in rural areas, where access to school was precarious, with no effective alphabetization programs for these people after they grown up. For this study, illiteracy was defined as absence of formal education and the inability to read the phrase “Close your eyes” from the Mini-Mental State Examination (MMSE). Literacy was defined as one year or more of formal education or the ability to read the phrase.

2.2 Cognitive assessment: Participants were submitted to the MMSE (35, 36) and two episodic memory tests, namely the memory test from the Brief Cognitive Screening Battery (BCB) (37) and the Rey Auditory Learning Verbal test (RAVLT) (38, 39). The BCB memory test evaluates both visual and verbal memory. It consists of a presentation of 10 simple objects as line drawings (shoe, house, comb, key, airplane, bucket, turtle, tree, spoon and book). First, the subject is asked to name and identify each drawing. Immediately after naming all objects, the sheet of paper is removed from view, and the subject is asked to recall the drawings (incidental encoding). The sheet of paper is then shown again for about 30 seconds and the patient is explicitly asked to memorize the objects and then, recall is requested. This latter procedure is performed twice, leading firstly to a score of immediate

memory and then to the learning score. After an interference period in which the category fluency test (animals/minute) and the clock drawing test is performed, subjects are then asked to recall as many items as they could, for no more than one minute, the delayed recall task. As a final procedure, a sheet of paper with 20 drawings, including the 10 previously presented along with 10 added distractors are displayed. The score of this recognition test is calculated by subtracting the number of wrong from the correct responses. On the other hand, the Rey Auditory Verbal Learning Test (RAVLT) assesses essentially verbal memory. It consists of 15 words read aloud for 5 consecutive trials (List A), followed by a free-recall test (A1 through A5). After the fifth trial, a new interference list of 15 words is presented (List B) followed by a free-recall test of that list (B1). Soon afterwards, a free-recall of List A words is tested without further presentation of those words (A6). After a 30-minute delay period filled with other activities, the subject is again required to recall words from List A (A7). Finally, on completion of the delay trial, the patient is required to identify List A words from a list of 50 words, which includes Lists A and B and 20 other words phonemically or semantically related to those of Lists A and B (recognition item). The recognition score is considered as the total recognition excluding false positives.

2.3 Standard protocol approvals, registrations, and patient consents: This study was approved by the Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais. All participants or their legally acceptable representatives signed the written informed consent.

2.4 Neuroimaging data acquisition, processing and analysis: A random subsample of the Pietà study (n = 200) was asked to take part in MR examination. The effective sample used in this study (n = 49) included participants with acceptable quality of the DTI images acquired in a 3 Tesla MR Philips Achieva scanner. The diffusion-weighted images were obtained in axial plane with a single-shot, spin-echo echoplanar sequences in the axial plane (TR/TE = 8000/65 ms, FOV = 240 mm, matrix = 96x96 (reconstructed 128x128), slice thickness = 2.0 mm with 1.99 mm gap between slices). Diffusion sensitization gradients were applied in 32 non-collinear directions, with a b factor of 1000 sec/mm². Cognitive testing was completed within nine months of the MR scans. An experienced radiologist blind for clinical diagnoses calculated the Fazekas score (40).

2.5 Diffusion tensor imaging post-processing: For each subject, and before estimating the specific diffusion maps, all diffusion images were visually inspected for artifacts. Non-diffusion and diffusion images were co-registered to correct for movement artifacts and eddy current distortion effects on Echo Planar Imaging readout (41). The diffusion tensor for each voxel was calculated based on the eigenvectors (v_1, v_2, v_3) and eigenvalues ($\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$) using multivariate fitting and diagonalization. After calculation of the FA and MD maps from the eigenvalues, color-coded maps were generated from the FA values and three vector elements of v_1 to visualize the WM tract orientation (FSL 4.0 FMRIB software) (42, 43). FA and MD images were brain-extracted (Brain Extraction Tool, FSL) and registered to the Montreal Neurological Institute space standard (MNI152) using constrained nonlinear registration (Image Registration Toolkit) (42). The derived FA and MD data were further analyzed using a priori regions of interest (ROI) analyses and voxelwise whole-brain TBSS (30).

2.6 Voxelwise whole-brain analysis: To assess the global correlations between the WM microstructure and the scores of the episodic memory tests, whole-brain voxelwise statistical analyses of FA and MD were conducted using TBSS (FMRIB Software Library, FSL) (44). To preserve the intactness of WM structure and overall tracts as much as possible, a voxelwise specific-tuned nonlinear registration method was used to register FA and MD images into a standard space (IRTK software, Image Registration Toolkit) (45). FA images were aligned to the first subject FA image, which was taken as the reference target; this target image was then affine-registered into MNI152 standard and up-sampled to 1x1x1 mm using both the non-segmented and segmented 1x1x1 mm MNIT1 brain volume; then, both the nonlinear and affine transformations from the target image were applied to the FA images of each subject. Resampled aligned FA images were averaged to create the mean FA from all subjects (30). The mean FA was then used to generate the “skeleton tract”, which represents the tracts shared by all subjects. Finally, registered FA data from each subject were “projected” onto the mean FA skeleton mask to generate the final skeletonized FA data. Analysis of the relationship between FA and MD 3D TBSS maps and WM was performed using randomize software (46). To contrast the literate with illiterate subjects, t-test was carried out using permutation-based non-parametric inference with 10,000 random permutations (FSL

Randomise tool) (47) on each voxel of the resulting “mean skeletonized” data (43) controlling for age. The results were considered significant at $p < 0.05$, using cluster-based Threshold-Free Cluster Enhancement (TFCE) (48) fully corrected for multiple comparisons Family Wise Error Rate (FWE). The thresholded-skeletonized resulting image was thickened for better visualization.

2.7 ROI analysis: ROIs were automatically downloaded and checked by an experienced investigator using a DTI-MRI atlas of human WM for determining fiber tract orientation using ROEditor/DTIstudio software (43, 49). Anatomical labels were determined with reference to the John Hopkins University WM atlas (50). The ROIs for memory correlation were placed along the cingulum in the hippocampal part (CHC) which runs along the surface of the corpus callosum and hippocampal parts, the superior longitudinal fasciculus (SLF) which connects the frontal, temporal, parietal and occipital lobes, and the uncinate fasciculus (UF), which connects medial prefrontal and anterior temporal brain regions (51, 52). To investigate the impact of local FA and MD changes in memory performance tested by RAVLT A1-A5 sum of scores, RAVLT A7 scores and BCB delayed recall task score, multiple regressions analyses were carried out with age and education as covariates. To contrast literate with illiterate subjects, the ROIs were placed in the inferior longitudinal fasciculus, the inferior fronto-occipital fasciculus, and the SLF. These three fasciculi connects visual cortex with language areas (52). The t-test was carried out in these regions as described above (2.6 item).

2.8 Statistical analyses of demographic and clinical variables: Statistical analyses were performed with SPSS 16.0. Kolmogorov-Smirnov tests were carried out to assess parametric distribution. Group differences for demographic and clinical variables with parametric distribution were undertaken with Student’s t-test for age, RAVLT A1-A5 sum of scores, RAVLT A7 scores and BCB memory test delayed recall task score. Mann-Whitney test was carried out for non-parametric distribution variables: years of education, MMSE and Fazekas scores. Associations between categorical variables were investigated with Chi-square and exact Fisher’s test. The level of significance (α) was set at 0.05, two-tailed, for all statistical tests.

3. Results

3.1 Demographic and clinical results: The images were available for whole analyses for 31 subjects (after excluding artifacts) all evaluated with the BCB tests. Nineteen subjects were administered both RAVLT and BCB tests (Table 1). There were no difference between the literate and illiterate groups considering demographics, BCB delayed recall task, RAVLT A1-A5 and RAVLT A7. However, as expected, illiterate subjects had worse performance on MMSE (Table 2).

Table 1. Demographics and clinical characteristics of the groups analyzed.

Characteristics	Subjects with complete assessment	Total	p value
No of subjects	19	31	
No (%) women	13 (68%)	22 (70%)	p = 0.849 ^a
No (%)CIND patients	5 (26%)	8 (25%)	p = 0.610 ^b
Age	79.7 ± 2.9	80.4 ± 3.8	p = 0.698 ^c
Education (years)	2.3 ± 1.8	2.2 ± 1.9	p = 0.768 ^d
MMSE	22.4 ± 4.4	22.3 ± 4.3	p = 0.870 ^c
RAVLT A1-A5 sum of scores	23.7 ± 8.8	-	-
RAVLT A7 score	4.3 ± 3.5	-	-
BCB memory test *	7.22 ± 1.6	7.06 ± 1.7	p = 0.604 ^c
Fazekas score	2.7 ± 1.9	2.7 ± 1.6	p = 0.884 ^d

^a Chi square test, ^b Fisher's Exact test, ^c Student's t-test, ^d Mann Whitney test

* Delayed recall task score

CIND: cognitive impairment no dementia , MMSE: Mini-Mental State Examination , BCB: Brief Cognitive Battery , RAVLT: Rey Auditory Learning Verbal test

Table 2. Demographical and clinical characteristics of literate and illiterate subjects.

n = 31	Age	No (%) women)	Controls/ CIND	MMSE	Fazekas score	BCB memory test *	RAVLT A1-A5 **	RAVLT A7**
Literate n= 21	79.8 ±3.8	14 (66%)	60%/ 40%	23.8 ±3.6	2.3 ±2.0	7.3 ±1.4	24.7 ±9.1	5.3 ±3.1
Illiterate n= 10	80.7 ±4.1	8 (80%)	75%/ 25%	18.8 ±3.6	3.2 ±1.8	6.7 ±2.3	19.4 ±6.6	2.4 ±3.8
p value	0.661 ^c	0.681 ^b	0.218 ^b	0.001 ^c	0.141 ^c	0.359 ^c	0.195 ^c	0.177 ^c

^a Chi square test, ^b Fisher's Exact test, ^c t-test, ^d Mann Whitney test

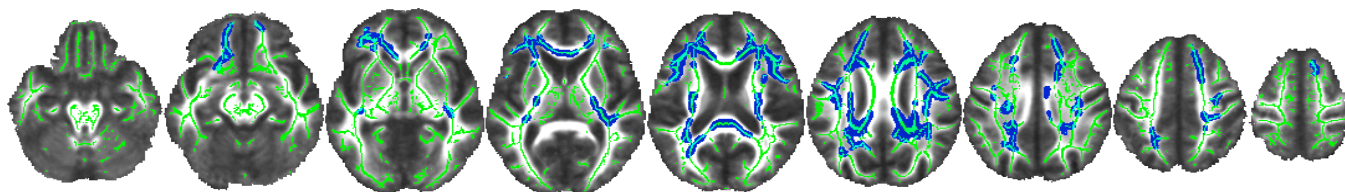
** Delayed recall task score ** Sum of scores

CIND: cognitive impairment no dementia, MMSE: Mini-Mental State Examination, BCB: Brief Cognitive Battery, RAVLT: Rey Auditory Learning Verbal test

3.2 DTI voxelwise whole-brain findings: A direct comparison between groups, using a whole brain TBSS approach, did not show a significant difference between literate and illiterate subjects, although a tendency to higher FA values in literate subjects ($p= 0.087$) was found (data not shown).

A significant negative correlation was found between the BCB memory test delayed recall task score and MD values ($p= 0.020$) (Figure 1, Table 3). The correlated fasciculi were roughly distributed and represented connections between the frontal, temporal and parietal lobes. There was no significant correlation in whole brain analyses for RAVLT scores.

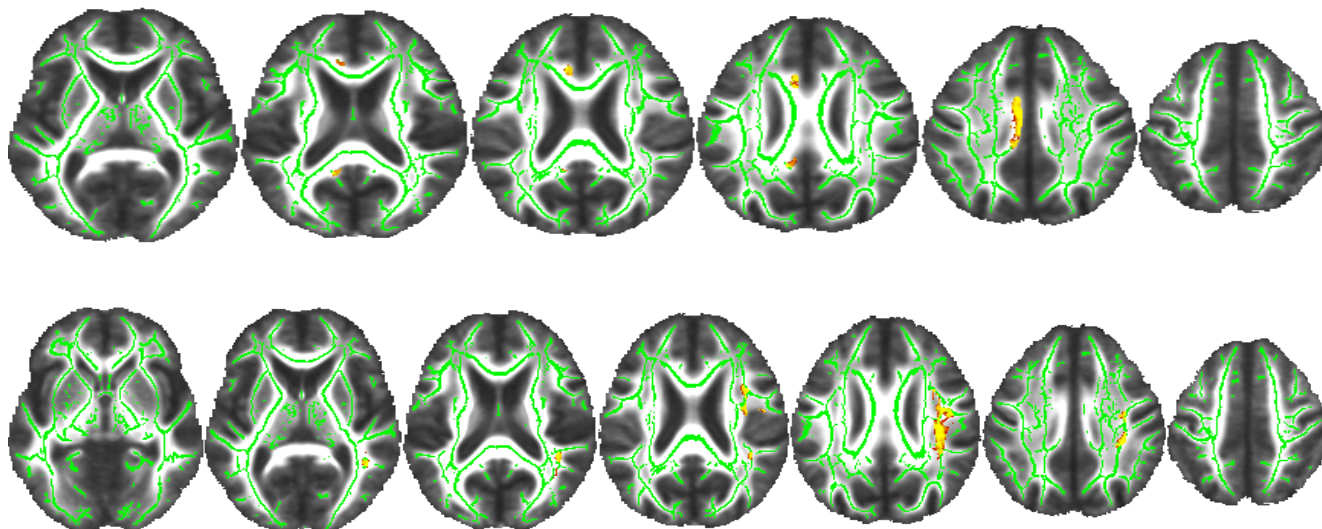
Figure 1. Correlation between white matter integrity and memory



Whole-brain track-based correlation between mean diffusivity (MD) values and BCB memory test delayed recall task score ($p = 0.020$ corrected for multiple comparisons across space (FWE) using threshold-free cluster enhancement). Each panel shows the significant voxel clusters superimposed on the mean fractional anisotropy map in axial slices. Images are displayed in neurological convention (right brain on right side).

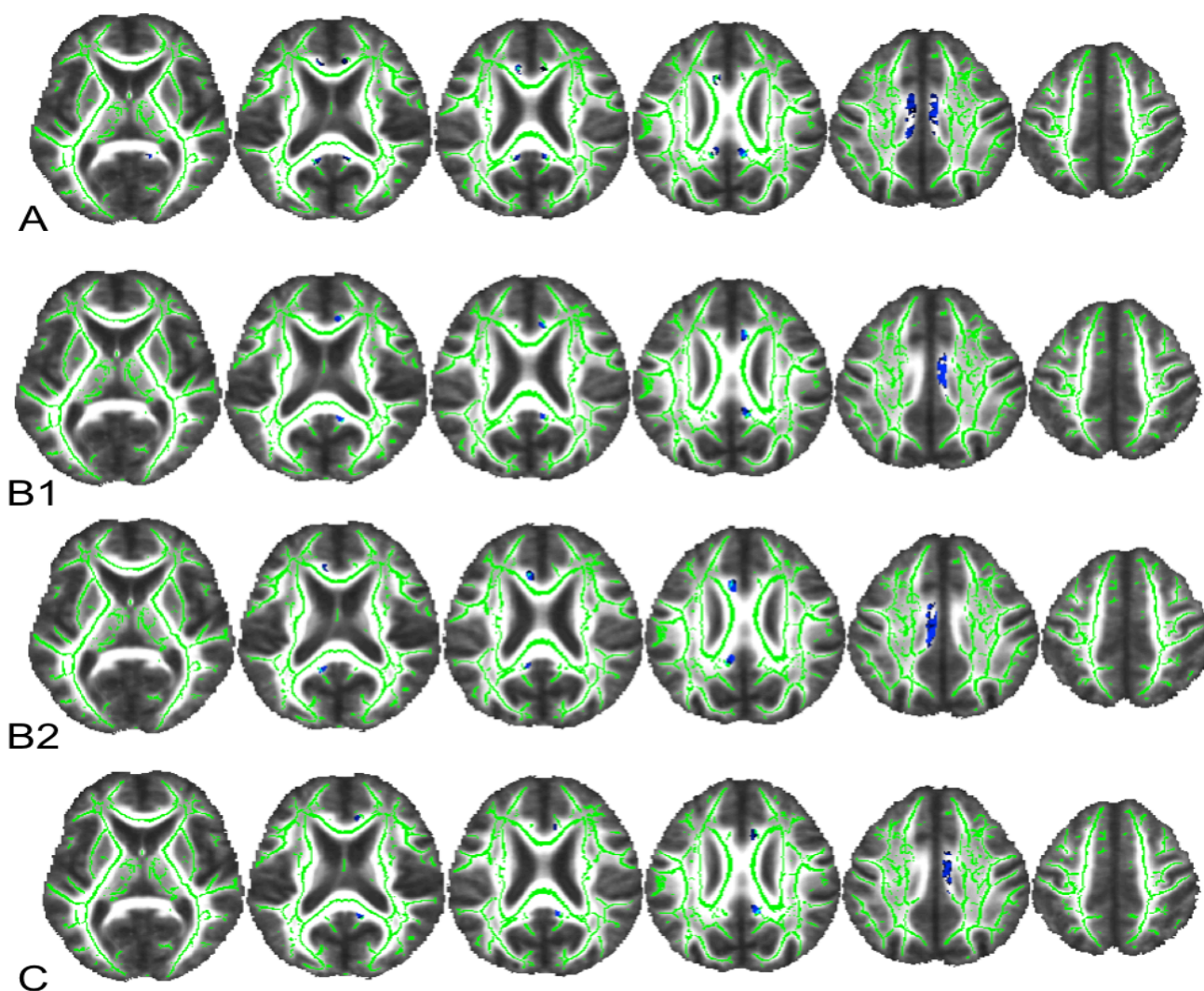
3.3 DTI ROI analyses: Considering the whole sample ($n = 31$), there was a significant positive correlation between BCB memory test delayed recall task score and FA values in left CHC ($p = 0.033$) (Figure 2A, Table 3) and right SLF ($p = 0.022$) (Figure 2B, Table 3). Considering the partial sample ($n = 19$), there was a negative correlation between the BCB memory test and MD values in right CHC ($p = 0.025$) (Figure 3A, Table 3). Besides, there was a significant negative correlation between RAVLT A1-A5 sum of scores and MD values in CHC bilaterally ($p = 0.010$ at the right side and $p = 0.022$ at the left side) (Figure 3B, Table 3). Finally, the RAVLT A7 score showed a positive correlation with FA values in left CHC ($p = 0.048$) and negative correlation with MD values in right CHC ($p = 0.036$) (Figure 3C, Table 3). There was no significant correlation between RAVLT A1-A5 sum of scores and RAVLT A7 scores and DTI metrics in SLF and UF.

Figure 2. Correlation between white matter integrity and memory in region of interest analyses considering the whole sample.



Superior row: positive correlation between BCB memory test delayed recall task score and FA values in left cingulum ($p= 0.033$). Inferior row: positive correlation between BCB memory test and FA values in right superior longitudinal fasciculus ($p= 0.022$). All analyses were corrected for multiple comparisons across space (FWE) using threshold-free cluster enhancement. Each panel shows the significant voxel clusters superimposed on the mean fractional anisotropy map in axial slices. Images are displayed in neurological convention (right brain on right side).

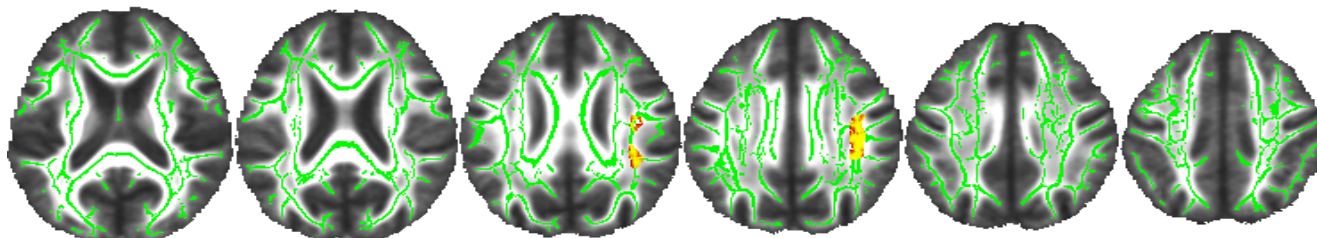
Figure 3. Correlation between white matter integrity and memory in region of interest analyses considering the partial sample.



A) Negative correlation between BCB memory test delayed recall task score and MD values in right cingulum ($p=0.025$). B) Negative correlations between RAVLT A1-A5 sum of scores and MD values in right ($p=0.010$) (B1) and left ($p=0.022$) cingulum (B2). C) Negative correlation between RAVLT A7 score and MD values in right cingulum ($p=0.036$). All analyses were corrected for multiple comparisons across space (FWE) using threshold-free cluster enhancement. Each panel shows the significant voxel clusters superimposed on the mean fractional anisotropy map in axial slices. Images are displayed in neurological convention (right brain on right side)

Interestingly, when contrasting literate with illiterate subjects, there were significantly higher FA values in literate individuals in the right SLF ($p= 0.022$) (Figure 4) and a tendency to higher FA values in the left SLF ($p= 0.056$) and left inferior longitudinal fasciculus ($p=0.053$).

Figure 4. Association between white matter integrity and literacy
Literate > Illiterate



There were significant higher FA values in the right superior longitudinal fasciculus ($p= 0.022$ corrected for multiple comparisons across space (FWE) using threshold-free cluster enhancement). Each panel shows the significant voxel clusters superimposed on the mean fractional anisotropy map in axial slices. Images are displayed in neurological convention (right brain on right side).

Table 3. Correlation between the episodic memory tests scores and FA and MD values in whole brain and ROIs (p values).

Memory test	FA positive	FA negative	MD positive	MD negative
BCB** whole brain	0.116/0.083 *	0.846/0.674*	0.957/0.910*	0.020/0.118*
SLF left	0.167/ 0.077	0.618/ 0.992	0.848/ 0.426	0.203/ 0.456
SLF right	0.463/ 0.022	0.710/ 0.922	0.969/ 0.436	0.116/ 0.490
CHC left	0.138/ 0.033	0.273/ 0.832	0.838/ 0.864	0.151/ 0.149
CHC right	0.138/ 0.153	0.524/ 0.884	0.663/ 0.944	0.025/ 0.259
UF left	0.092/ 0.116	0.920/ 0.938	0.968/ 0.930	0.116/ 0.101
UF right	0.346/ 0.447	0.632/ 0.810	0.969/ 0.229	0.058/ 0.203
RAVLT A1-A5 ***				
whole brain	0.429	0.204	0.641	0.176
SLF left	0.552	0.642	0.789	0.320
SLF right	0.922	0.155	0.663	0.379
CHC left	0.280	0.163	0.885	0.022
CHC right	0.568	0.537	0.972	0.010
UF left	0.487	0.162	0.832	0.183
UF right	0.955	0.695	0.822	0.204
RAVLT A7 score				
whole brain	0.112	0.665	0.833	0.064
SLF left	0.331	0.824	0.915	0.083
SLF right	0.123	0.826	0.918	0.916
CHC left	0.048	0.882	0.848	0.318
CHC right	0.188	0.695	0.892	0.036
UF left	0.146	0.705	0.971	0.123
UF right	0.325	0.952	0.892	0.132

SLF: superior longitudinal fasciculus, CHC: cingulum hippocampal part, UF: uncinate fasciculus. * 19 subjects/31 subjects ** Delayed recall task score *** Sum of scores
BCB: Brief Cognitive Battery, RAVLT: Rey Auditory Learning Verbal test

4. Discussion

One of the main goals in aging research is to understand the causes and the pathophysiology of cognitive decline, especially within the memory domain. The structural correlates of episodic memory have been explored since the seminal observations relating severe amnesia due to bilateral hippocampectomy (53). However, researches on the neural basis of memory performance demonstrated that other structures besides the Papez circuit are implicated in memory performance. Indeed, recent models of attention argue that dorsal frontal and parietal regions interact in the top-down control of attention not only for perception but also for memory retrieval guidance, whereby attention selection and implementation are guided by retrieval goals (54). Besides, event-related functional MR studies of episodic retrieval have consistently revealed a range of memory-related influences on activation in lateral posterior parietal cortex and precuneus extending to posterior cingulate and retrosplenial cortex (55). Moreover, studies have found correlations between WM structure connecting these regions in frontal temporal and parietal temporal bundles and memory impairment in cognitively healthy and demented individuals (6, 7, 56-60), including the cingulum hippocampal part (8) and parahippocampal gyrus white matter (61). However, much less is known about the underlying structures involved in episodic memory in low educated elderly.

In fact, a number of pathophysiological changes occur in aging that preferentially influence brain structures and are candidates for causing age-associated executive difficulties. The different age-related factors that can influence in memory decline can be explained by damage in frontal striatal circuits and on medial temporal lobe memory systems. While language and verbal memory encoding tasks are strongly left lateralized in young adults, older adults tend to show bilateral recruitment patterns (25). Therefore, changes of bilateral frontotemporal connections could be important for episodic memory decline.

The study of white matter integrity opens a window for the understanding of the neural bases of cognition, as connectivity is a major factor that supports cognitive functioning (62). Here we performed a DTI analysis to study the neural basis of episodic memory in elderly subjects with low educational level. This is a relevant field of research, since there is an increase in the prevalence of dementia in developing countries, where most of the elderly population is low educated (12). This population can be considered a model to understand the relations

between normal aging, WM integrity and cognitive reserve. To the best of our knowledge, this is the first study to address these issues in a community-based sample.

Indeed, we found that the integrity of WM tracts in the medial temporal lobe area (CHC) correlated with performance on episodic memory tests. The parahippocampal cingulum include fibers that link the hippocampal formation with the cingulate cortex (51). The cingulum bundle has been associated with mnemonic processing due to these connections between frontal and temporal areas, which are important for episodic memory performance (52). The consistent correlation between both episodic memory tests and cingulum bundle reinforces its role in memory, as shown previously (6, 8). Interestingly, only the BCB memory test delayed recall task significantly correlated with the SLF, and in the right side. This could be explained by the test visual component and because the right SLF is associated with visuospatial processing (52).

It was possible to show that both verbal and visual episodic memory could have bilateral correlations in WM. The visual component of episodic memory, assessed by the BCB test, had correlations even more roughly distributed. Indeed, in whole brain analysis, the performance in this test correlated with MD values in corpus calosum, superior longitudinal fasciculus, cingulum hippocampal part and uncinate fasciculus bilaterally. Similar findings were described before by Goldstein et al. (11), who demonstrated bilateral correlation between WM integrity and visual memory. The UF is a bidirectional pathway that links the anterior temporal lobe with the orbital and medial prefrontal cortex providing an afferent sensory pathway for prefrontal cognitive functions (51). However, we could not find associations between UF and episodic memory in ROI analysis and these associations in fact diverge between studies (63, 64). The fornix is also associated with episodic memory (52). However, we could not assess it due to difficulties in identifying this structure using TBSS because of partial volume effects.

Recent findings further suggest that age-associated structural changes also depend on active stimulation of the brain. Education is one of the strongest components of this active process (3). Therefore, reliance on cognitive reserve is emerging as an important factor that determines who ages gracefully and who declines rapidly (25). In a previous study, education correlated with functional connectivity in frontal, temporal and parietal lobe connections (19), but another study could not find correlation between FA values and education (7).

Interestingly, we found a significant association between literacy and white matter integrity in right SLF and a tendency to higher FA values in the left SLF and the left inferior fronto-occipital fasciculus. One possible explanation is that the literacy WM correlation is bilateral. In fact, in previous studies literate individuals showed more activation and higher gray matter volume in temporo-parietal cortices bilaterally (16, 65). Moreover, as mentioned before, the neural correlates of memory and language tend to be bilateral in the elderly (25). Probably, if we had a larger sample we would achieve significance in the left side results, changing the association from right sided to bilateral. Another hypothesis is that hemispheric lateralization is a regional rather than a global functional phenomenon and it might be the case that hemispheric differences are only detected in tasks tackling the specific processing capacity of a given region. Indeed, Lecours et al. (66) found that illiterate right stroke patients performed worse in naming tasks while literate did not, and Petersson et al (22) demonstrated that illiterate were more right lateralized in language tasks. Finally, the only study that found lateralized WM structural correlations were the one that found association between literacy and WM microstructure integrity of the left arcuate fasciculus, a classical region related with language and visual connections (23).

We used two episodic memory tests, the RAVLT, which performance on A1-A5 and A7 tasks has been correlated with medial prefrontal cortex and hippocampi bilaterally (67) and the BCB that has been validated for diagnosing episodic memory impairment (68), but until now, with no neural correlate investigation. The latter test has the advantage of not suffering from educational level (37). The fact that it has WM structural correlations with bundles involved in episodic memory reinforces its use in clinical practice.

The strengths of the present study are the population-based design, the assessment of oldest-old individuals (given the current life expectancy at birth in developing countries) and the unique characteristic of very low educational level. This is the reality in developing countries and gave the opportunity to study the relationships between microstructural WM changes and memory function in this context.

Unfortunately, we were unable to perform DTI assessment in all individuals submitted to MR imaging and thus the final sample was small. This is relatively common in population-based studies, but has turned out to be an important limitation for further conclusions. The method we used to assess the white matter microstructure is very sensitive to partial volume effect.

Moreover, we used an automated atlas. These aspects prevented from misinterpretation, but made it unfeasible to assess some important fasciculus like the fornix and the arcuate. Finally, the little overlaps between FA and MD correlations we found can be explained by the parameters different sensitivities and in fact, has been previously described in other neuroimaging studies (9, 63, 69).

In summary, localized WM microstructure integrity may contribute to episodic memory performance in non-demented elderly with low educational level. Moreover, literacy seems to play an important role in cerebral connectivity and even few years of education appears to be sufficient to strength these connections, reinforcing the hypothesis that literacy influences on brain structure. To what extend this could be protective for memory decline requires further investigation.

References:

1. Dubois B, Howard H, Jacova C, Hampel H, Molinuevo JL, Blennow K, DeKosky ST, et al. Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. *Lancet Neurol.* 2014;13:614-29.
2. Stern Y. Cognitive Reserve. *Neuropsychologia.* 2009;47(10):2015–28.
3. Fratiglioni L, Wang HX. Brain reserve hypothesis in dementia. *J Alzheimers Dis.* 2007;12(1):11-22.
4. Tulving E. Episodic memory: from mind to brain. *Annu Rev Psychol.* 2002;53:1-25.
5. Zola-Morgan S, Squire LR. Neuroanatomy of memory. *Annu Rev Neurosci.* 1993;16:547-63.
6. Kantarci K, Senjem ML, Avula R, Zhang B, Samikoglu AR, Weigand SD, et al. Diffusion tensor imaging and cognitive function in older adults with no dementia. *Neurology.* 2011;77:26-34.
7. Lockhart SN, Mayda AB, Roach AE, Fletcher E, Carmichael O, Maillard P, et al. Episodic memory function is associated with multiple measures of white matter integrity in cognitive aging. *Front Hum Neurosci.* 2012;16(6):56.

8. Irish M, Hornberger M, Wahsh SE, Lam BYK, Lah S, Miller L, et al. Grey and White Matter Correlates of Recent and Remote Autobiographical Memory Retrieval – Insights from the Dementias. *PLoS ONE* 9. 2014;11:e113081.
9. Sexton CE, Mackay CE, Lonie JA, Bastin ME, Terriere E, O'Carroll RE, et al. MRI correlates of episodic memory in Alzheimer's disease, mild cognitive impairment, and healthy aging. *Psychiatry Res.* 2010;184(1):57-62.
10. Metzler-Baddeley C, Jones DK, Belaroussi B, Aggleton JP, O'Sullivan MJ. Frontotemporal Connections in Episodic Memory and Aging: A Diffusion MRI Tractography Study. *The Journal of Neuroscience.* 2011;31(37):13236-45.
11. Goldstein FC, Mao H, Wang L, Ni C, Lah JJ, Levey AI. White Matter Integrity and Episodic Memory Performance in Mild Cognitive Impairment: A Diffusion Tensor Imaging Study. *Brain Imaging Behav.* 2009;3(2):132-41.
12. Wimo A, Winblad B, Jönsson L. The worldwide societal costs of dementia: Estimates for 2009. *Alzheimers Dement.* 2010;6(2):98-103.
13. Dehaene S, Pegado F, Braga LW, Ventura P, Nunes-Filho G, Jobert A, et al. How Learning to Read Changes the Cortical Networks for Vision and Language. *Science.* 2010;330:1359-64.
14. Dehaene S, Cohen L, Morais J, Kolinsky R. Illiterate to literate: behavioural and cerebral changes induced by reading acquisition. *Nature Reviews Neuroscience.* 2015;16:234-44.
15. Castro-Caldas A, Petersson KM, Reis A, Stone-Elander S, Ingvar M. The illiterate brain: Learning to read and write during childhood influences the functional organization of the adult brain *Brain.* 1998;121:1053-63.
16. Carreiras M, Seghier ML, Baquero S, Estévez A, Lozano A, Devlin JT, et al. An anatomical signature for literacy. *Nature.* 2009;461(7266):983-6.
17. Foubert-Samier A, Catheline G, Amieva H, Dilharreguy B, Helmer C, Allard M, et al. Education, occupation, leisure activities, and brain reserve: a population-based study. *Neurobiol Aging.* 33(2):423.e15-25.
18. Christensen H, Anstey KJ, Parslow RA, Maller J, Mackinnon A, Sachdev P. The brain reserve hypothesis, brain atrophy and aging. *Gerontology.* 2007;53:189-96.

19. Arenaza-Urquijo EM, Landeau B, La Joie R, Mevel K, Mézenge F, Perrotin A, et al. Relationships between years of education and gray matter volume, metabolism and functional connectivity in healthy elders. *NeuroImage*. 2013;83:450-7.
20. Gordon BA, Rykhlevskai EI, Brumback CR, Lee Y, Elavsky S, Konopack JF, et al. Neuroanatomical correlates of aging, cardiopulmonary fitness level, and education. *Psychophysiology*. 2008;45(5):825-38.
21. Dehaene S, Cohen L. Cultural Recycling of Cortical Maps. *Neuron* 2007;25(2):384-98.
22. Petersson KM, Silva C, Castro-Caldas A, Ingvar MM, Reis A. Literacy: a cultural influence on functional left–right differences in the inferior parietal cortex. *European Journal of Neuroscience*. 2007;26:791-9.
23. Thiebaut de Schotten M, Cohen L, Amemiya E, Braga LW, Dehaene S. Learning to Read Improves the Structure of the Arcuate Fasciculus. *Cerebral Cortex*. 2014;24:989-95.
24. Sarazin M, Chauviré V, Gerardin E, Colliot O, Kinkingnéhun S, Cruz de Souza L, et al. The Amnestic Syndrome of Hippocampal type in Alzheimer’s Disease: An MRI Study. *Journal of Alzheimer’s Disease*. 2010;22:285-94.
25. Buckner RL. Memory and Executive Function in Aging and AD: Multiple Factors that Cause Decline and Reserve Factors that Compensate Neuron. 2004;44:195-208.
26. Ciccarelli O, Werring DJ, Wheeler-Kingshott CA, Barker GJ, Parker GJ, Thompson AJ, et al. Investigation of MS normal-appearing brain using diffusion tensor MRI with clinical correlations. *Neurology* 2001;56(7):926-33.
27. Hagmann P, Jonasson L, Maeder P, Thiran JP, Wedeen VJ, Meuli R. Understanding diffusion MR imaging techniques: from scalar diffusion-weighted imaging to diffusion tensor imaging and beyond. *Radiographics* 2006;26(Suppl 1):S205-S23.
28. Beaulieu C. The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system - a technical review. *NMR Biomed*. 2002;15:435-55.
29. Lavdas I, Miquel ME, McRobbie DW, Aboagye EO. Comparison between diffusion-weighted MRI (DW-MRI) at 1.5 and 3 tesla: a phantom study. *J Magn Reson Imaging* 2014;40(3):682-90.
30. Smith SM, Jenkinson M, Johansen-Berg H, Rueckert D, Nichols TE, Mackay CE, et al. Tract-based spatial statistics: Voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. *Neuroimage*. 2006;31(4):1487-505.

31. Caramelli P, Barbosa MT, Sakurai E, dos Santos EL, Beato RG, Machado JCB, et al. The Pietà study. Epidemiological investigation on successful brain aging in Caeté (MG), Brazil. Methods and baseline cohort characteristics *Arq Neuropsiquiatr*. 2011;69(4):579-84.
32. Ebly EM, Hogan DB, Parhad IM. Cognitive impairment in the nondemented elderly. Results from the Canadian Study of Health and Aging. *Arch Neurol*. 1995;52:612-9.
33. Graham J, Rockwood K, Beattie B, Eastwood R, Gauthier S, Tuokko H, et al. Prevalence and severity of cognitive impairment with and without dementia in an elderly population. *Lancet*. 1997;349(9068):1793-6.
34. Caracciolo B, Palmer K, Monastero R, Winblad B, Bäckman L, Fratiglioni L. Occurrence of cognitive impairment and dementia in the community: a 9-year-long prospective study. *Neurology* 2008;70:1778-85.
35. Folstein MF, Folstein SE, McHugh P. 'Mini-Mental State'. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975;12:189-98.
36. Brucki SM, Nitrini R, Caramelli P, Bertolucci PH, Okamoto IH. Sugestões para o uso do Mini-Exame do Estado Mental no Brasil. *Arq Neuropsiquiatr*. 2003;61:777-81.
37. Nitrini R, Caramelli P, Herrera Junior E, Porto C, Charchat-Fichman H, Carthery M, et al. Performance of illiterate and literate nondemented elderly subjects in two tests of long-term memory. *J Int Neuropsychol Soc*. 2004;10:634-8.
38. Malloy-Diniz LF, Lasmar VA, Gazinelli LS, Fuentes D, Salgado JV. The Rey Auditory-Verbal Learning Test: applicability for the Brazilian elderly population. *Rev Bras Psiquiatr*. 2007;29:324-9.
39. Schmidt M. Rey Auditory and Verbal Learning Test. Los Angeles: Western Psychological Services; 1996.
40. Wahlund LO, Barkhof F, Fazekas F, Bronge L, Augustin M, Sjögren M, et al. A New Rating Scale for Age-Related White Matter Changes Applicable to MRI and CT. *Stroke*. 2001;32:1318-22.
41. Woods RP, Grafton ST, Holmes CJ, Cherry SR, Mazziotta JC. Automated image registration: I. General methods and intrasubject, intramodality validation. *J Comput Assist Tomogr*. 1998;1:139-52.

42. Pajevic S, Pierpaoli C. Color schemes to represent the orientation of anisotropic tissues from diffusion tensor data: application to white matter fiber tract mapping in the human brain. *Magn Reson Med*. 1999;42:526–40.
43. Jiang H, van Zijl PC, Kim J, Pearlson GD, Mori S. DtiStudio: resource program for diffusion tensor computation and fiber bundle tracking. *Comput Methods Prog Biomed*. 2006;81:106-16.
44. Smith SM, Jenkinson M, Woolrich MW, Beckmann CF, Behrens TEJ, Johansen-Berg H, et al. Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *NeuroImage*. 2004;23(S1):208-19.
45. Rueckert D, Sonoda LI, Hayes C, Hill DL, Leach MO, Hawkes DJ. Nonrigid registration using free-form deformations: application to breast MR images. *IEEE Trans Med Imaging*. 1999;18(8):712-21.
46. <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl>
47. Rueckert DS, LI Hayes, C Hill, DL Leach, MO Hawkes, DJ. Nonrigid registration using free-form deformations: application to breast MR images. *IEEE Trans Med Imaging*. 1999;18(8):712-21.
48. Nichols T, Holmes A. Nonparametric permutation tests for functional neuroimaging: A primer with examples. *Hum Brain Mapp*. 2002;15.
49. Wakana S, Caprihan A, Panzenboeck MM, Fallon JH, Perry M, Gollub RL, et al. Reproducibility of Quantitative Tractography Methods Applied to Cerebral White Matter. *Neuroimage*. 2007;36(3):630-44.
50. Hua K, Zhang J, Wakana S, Jiang H, Li X, Reich DS, et al. Tract Probability Maps in Stereotaxic Spaces: Analyses of White Matter Anatomy and Tract-Specific Quantification. *Neuroimage*. 2008;39(1):336-47.
51. Catani M, Thiebaut de Schotten M. A diffusion tensor imaging tractography atlas for virtual in vivo dissections. *Cortex*. 2008;44:1105-32.
52. Catani M, Thiebaut de Schotten M. *Atlas of Human Brain Connections*. New York: Oxford University Press Inc; 2012. 519 p.
53. Scoville WB, Milner B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. 1957;20:11-21.

54. Cabeza R, Ciaramelli E, Olson IR, Moscovitch M. Parietal Cortex and Episodic Memory: An Attentional Account. *Nat Rev Neurosci*. 2008;9(8):613-25.
55. Wagner AD, Shannon BJ, Kahn I, Buckner RL. Parietal lobe contributions to episodic memory retrieval. *Trends Cogn Sci*. 2005;9(9):445-53.
56. Lee DY, Fletcher E, Martinez O, Ortega M, Zozulya N, Kim J, et al. Regional pattern of white matter microstructural changes in normal aging, MCI, and AD. *Neurology*. 2009;73:1722-8.
57. Medina D, DeToledo-Morrell L, Urresta F, Gabrieli JD, Moseley M, Fleischman D, et al. White matter changes in mild cognitive impairment and AD: A diffusion tensor imaging study. *Neurobiol Aging*. 2006;27(5):663-72.
58. Damoiseaux J, Smith S, Witter M, Sanz-Arigita E, Barkhof F, Scheltens P, et al. White Matter Tract Integrity in Aging and Alzheimer's Disease. *Hum Brain Mapp*. 2009;30(4):1051-9.
59. Liu Y, Spulber G, Lehtimäki KK, Könönen M, Hallikainen I, Gröhn H, et al. Diffusion tensor imaging and tract-based spatial statistics in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging*. 2011;32(9):1558-71.
60. Ziegler DA, Piguet O, Salat DH, Prince K, Connally E, S C. Cognition in healthy aging is related to regional white matter integrity, but not cortical thickness. *Neurobiol Aging*. 2010;31(11):1912-26.
61. Zhuang L, Sachdev PS, Trollor JN, Kochan NA, Reppermund S, Brodaty H, et al. Microstructural white matter changes in cognitively normal individuals at risk of amnesic MCI. *Neurology*. 2012;79(8):748-54.
62. Mesulam M. Imaging Connectivity in the Human Cerebral Cortex: The Next Frontier? *Annals of Neurology*. 2005;57:6-7.
63. Metzler-Baddeley C, Jones DK, Belaroussi B, Aggleton JP, O'Sullivan MJ. Frontotemporal Connections in Episodic Memory and Aging: A Diffusion MRI Tractography Study. *J Neurosci*. 2011;31(37):13236-45.
64. Grady CL, McIntosh AR, Craik FIM. Age-Related Differences in the Functional Connectivity of the Hippocampus During Memory Encoding. *Hippocampus*. 2003;13:572-86.
65. Castro-Caldas A, Petersson KM, Reis A, Stone-Elander S, Ingvar M. The illiterate brain: Learning to read and write during childhood influences the functional organization of the adult brain. *Brain*. 1998;121:1053-63.

66. Lecours AR, Mehler J Fau - Parente MA, Parente Ma Fau - Beltrami MC, Beltrami Mc Fau - Canossa de Tolipan L, Canossa de Tolipan L Fau - Cary L, Cary L Fau - Castro MJ, et al. Illiteracy and brain damage. 3: A contribution to the study of speech and language disorders in illiterates with unilateral brain damage (initial testing). *Neuropsychologia*. 1988;26(4):575-89.
67. Balthazar MLF, Yasuda CL, Cendes F, Damasceno BP. Learning, retrieval, and recognition are compromised in aMCI and mild AD: Are distinct episodic memory processes mediated by the same anatomical structures? *J Int Neuropsychol Soc* 2010;16:205-9.
68. Takada LT, Caramelli P, Fichman HC, Porto CS, Bahia VS, Anghinah R, et al. Comparison between two tests of delayed recall for the diagnosis of dementia. *Arq Neuro-Psiquiatr*. 2006;64(1):35-40.
69. Charlton RA, Barrick TR, McIntyre DJ, Shen Y, O'Sullivan M, Howe FA, et al. White matter damage on diffusion tensor imaging correlates with age-related cognitive decline. *Neurology*. 2006;66(2):217-22.

VI. Considerações finais

Neste estudo foi possível avaliar correlações entre memória e a influência da alfabetização sobre a integridade da substância branca em uma população de idosos muito idosos vivendo em uma comunidade. Como esperado, encontramos correlação entre o desempenho nos testes de memória episódica, um verbal (RAVLT) e um visual verbal (BCB), e a integridade da substância branca dos tratos que conectam os lobos frontais e temporais, bilateralmente. Além disso, interessante, encontramos que os indivíduos alfabetizados têm maior integridade da substância branca no fascículo longitudinal superior direito e uma tendência à maior integridade nos fascículos longitudinal superior e longitudinal inferior esquerdos. Como a média da escolaridade dos indivíduos é bastante baixa, podemos inferir que mesmo poucos anos de escolarização são suficientes para modificar a arquitetura cerebral. Isso traz importantes repercussões, uma vez que o investimento educacional em crianças pode influenciar em como ocorrerá o envelhecimento cerebral no futuro, podendo retardar ou até diminuir a incidência de doenças neurodegenerativas.

Apêndice I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: Estudo Pietà: Investigação epidemiológica sobre envelhecimento cerebral bem sucedido em Caeté (MG)

Unidade: Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da UFMG

Pesquisador responsável: Prof. Dr. Paulo Caramelli

Endereço:

Departamento de Clínica Médica

Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais

Avenida Alfredo Balena, 190 – Sala 4070

CEP: 30.130-100

Bairro Santa Efigênia, Belo Horizonte (MG)

Telefone: (31) 3248 - 9746

LEIA CUIDADOSAMENTE AS INFORMAÇÕES ABAIXO

O Senhor ou a Senhora está sendo convidado a participar de uma pesquisa em que pretendemos avaliar alguns aspectos do funcionamento cerebral e da saúde mental de pessoas com idade igual ou maior que 75 anos que vivem em Caeté (MG).

O principal objetivo deste estudo é tentar identificar possíveis fatores que de alguma forma protejam o cérebro de problemas ou doenças neurológicas e psiquiátricas comuns após os 60 anos, como perda de memória, doença de Alzheimer, doença de Parkinson e depressão. Estas doenças afetam a qualidade de vida das pessoas e queremos saber se existem maneiras de diminuir o risco de aparecerem na terceira idade.

Explicaremos a seguir os principais pontos relacionados à sua participação, no caso de concordar em fazer parte estudo.

1. Primeiramente serão feitas várias perguntas a seu respeito por um entrevistador treinado. Ele lhe fará perguntas sobre sua saúde, medicamentos, alimentação, sobre sua participação em grupos de terceira idade, se faz alguma atividade física, se costuma ler e escrever com frequência, se fuma ou se fumou no passado e sobre o uso de bebida alcoólica.
2. Em outra data marcaremos um novo encontro, quando será examinado por um médico. Serão feitos também alguns testes de memória e perguntas para avaliar se está deprimido(a) ou se apresenta algum outro problema psiquiátrico. Perguntaremos a um familiar como o(a) senhor(a) está desempenhando suas atividades do dia-a-dia em casa. Esta avaliação terá duração de cerca de uma hora.
3. Dependendo do resultado desta avaliação, poderá ser necessário realizar outros testes de memória e de outras funções mentais. Isto será feito por uma psicóloga

especializada e terá duração de cerca de uma hora e meia. Caso o(a) senhor(a) precise fazer esta avaliação complementar, mas se sinta cansado(a), poderemos agendar para outra data.

4. Finalmente, se forem identificados problemas de memória ou do funcionamento mental, indicaremos a realização de exames de sangue e de uma ressonância magnética do cérebro, com o objetivo de detectar problemas clínicos ou neurológicos que possam estar causando o problema.
5. Uma amostra do sangue colhido para os exames laboratoriais também será utilizada para a realização de um estudo genético. Pesquisaremos um gene responsável pela produção de uma substância chamada apolipoproteína E. As pessoas podem ter três tipos diferentes deste gene e um deles (o tipo e4) é mais comum em casos de doença de Alzheimer.
6. Todos os resultados dos exames e testes realizados serão informados ao senhor ou à senhora assim que disponíveis.

Não prevemos riscos para sua participação em função da natureza do estudo, a não ser um mínimo desconforto relacionado à coleta de sangue, caso seja realizada.

Caso concorde em participar, asseguramos que todas as informações serão guardadas de forma sigilosa, em um banco de dados de acesso exclusivo aos pesquisadores envolvidos. Todas as informações que venham a ser utilizadas em estudos ou pesquisas não terão qualquer identificação (nome) do participante.

BENEFÍCIOS

O(a) senhor(a) não receberá dinheiro ou outro bem material para participar deste estudo.

DIREITOS LEGAIS

A condição acima “Benefícios” não limita os seus direitos legais.

CONFIDENCIALIDADE DOS DADOS

Conforme a Legislação Brasileira, os seus dados somente poderão ser obtidos pelo senhor(a), pelo seu médico e pela equipe do estudo.

O(A) senhor(a) será identificado através de suas iniciais e de um número para garantir a confidencialidade dos seus dados.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Caso o(a) senhor(a) tenha dúvidas relacionadas ao estudo, contacte o pesquisador responsável pelo estudo (Dr. Paulo Caramelli) no seguinte telefone: (31) 3248-9746.

Para responder questões relacionadas a essa pesquisa, seus direitos como indivíduo participante e aspectos éticos da pesquisa o(a) senhor(a) poderá entrar em contato com o

Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da UFMG, Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II – 2º andar, Campus Pampulha, Belo Horizonte, MG – Brasil, CEP: 31270-901, tel: (31) 3499-4592, e-mail: coep@prpq.ufmg.br

FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Declaro que li as informações acima descritas.

Eu tive tempo suficiente para considerar minha decisão, oportunidade de fazer perguntas e todas as minhas questões foram respondidas.

Entendo que posso modificar minha decisão quanto à autorização de uso de meus dados a qualquer momento, devendo avisar ao pesquisador imediatamente da minha decisão.

Recebi uma via assinada deste Termo de Consentimento.

Nome do participante

Assinatura

Data

Caso o participante não tenha condições de compreender as informações contidas acima e estiver acompanhado de um representante legalmente aceito, o representante deverá assinar este Termo de Consentimento autorizando a participação no estudo. Se uma testemunha for necessária para leitura do Termo de Consentimento, esta também deverá assinar ao mesmo.

Nome do Representante Legal

Assinatura do Representante Legal

Data

Assinatura da Testemunha

Data

ACORDO DO INVESTIGADOR

Declaro que todas as informações necessárias para participação foram esclarecidas ao paciente. O estudo será conduzido conforme diretrizes e legislação vigente para condução de pesquisa clínica no Brasil.

Nome do investigador que aplicou o termo

Assinatura do investigador que aplicou o termo