

FÁBIO LUÍS DE SOUZA DURAN

Análise morfométrica voxel-a-voxel de estudos de ressonância
magnética do crânio em transtornos psiquiátricos e neurológicos:
implementação e otimização de métodos

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

Área de concentração: Psiquiatria
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Busatto Filho

São Paulo
2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

FÁBIO LUÍS DE SOUZA DURAN

Análise morfométrica voxel-a-voxel de estudos de ressonância magnética do crânio em transtornos psiquiátricos e neurológicos:
implementação e otimização de métodos

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

Área de concentração: Psiquiatria
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Busatto Filho

**São Paulo
2008**

Dedicatória

Aos meus pais Luiz e Djanira,
à minha irmã Nádia e ao meu irmão Danilo,
que sempre me apoiaram e incentivaram.

A Jaqueline, meu amor.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Geraldo Busatto Filho, pela orientação, amizade, pelas valiosas discussões, ensinamentos e pelos conselhos substanciais durante toda a elaboração deste trabalho.

A Jaqueline Hatsuko Tamashiro, pelo carinho, apoio e companheirismo.

Ao Dr. Marcelo Queiroz Hoexter, pela amizade, pelo companheirismo, ensinamentos e auxílio na interpretação dos resultados.

Ao Dr. Ricardo Riyoiti Uchida, pela amizade, pela paciência no treinamento e pela confiança.

A Dra. Sheila Cavalcante Caetano, pela amizade e pela confiança demonstrada.

A Dra. Tânia Corrêa de Toledo Ferraz Alves, pelo carinho e pelos valiosos ensinamentos.

A Eliza Fukushima, pela ajuda com documentações e por sempre me lembrar de fazer a matrícula.

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Buchpiguel e amigos do Centro de Medicina Nuclear, pelo apoio e acolhida.

Ao Prof. Dr. Eurípedes Constantino Miguel e a equipe do PROTOC, pela captação dos pacientes, cuidado na avaliação clínica dos sujeitos e auxílio na interpretação dos resultados.

Ao Dr. Antonio Augusto Valente Jr., pela competência na avaliação clínica dos pacientes e execução dos exames.

Ao Prof. Dr. Cláudio Campi de Castro, por viabilizar e colaborar com a realização dos exames de imagem de ressonância magnética deste estudo.

A Dra. Griselda Esther Jara de Garrido, por toda a sua orientação com o programa de processamento de imagens cerebrais.

Ao Prof. Dr. Marcel Parolim Jackowisky, pela amizade e pela contribuição na minha formação.

Ao Prof. Dr. Ricardo Luis Barbosa, pela amizade, pelas dúvidas esclarecidas na estatística, computação gráfica e processamento de imagens.

A Andrea Simone Marto Vieira, que sempre me fez rir, mesmo nas horas de estresse.

A minha família e a todos meus amigos que sempre me apoiaram desde o início.

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

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

“... nada é menos fixo para aquele que pensa e sonha...”

Gaston Bachelard

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2ª ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

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

Sumário

Listas de figuras.....	ix
Listas de tabelas.....	xi
Lista de abreviaturas e siglas.....	xii
Resumo.....	xv
Summary.....	xvii
1. Introdução.....	1
1.1 Ressonância Magnética (RM): Princípios básicos.....	1
1.2 Processamento de imagens digitais.....	3
1.2.1 Métodos de análise de RM por regiões de interesse.....	4
1.2.2 Métodos de análise voxel-a-voxel.....	5
1.2.2.1 Normalização espacial.....	9
1.2.2.2 Segmentação.....	10
1.2.2.3 Suavização.....	11
1.2.2.4 Mapas estatísticos.....	13
1.2.3 Avanços recentes no uso de VBM: a otimização de protocolos de análise.....	13
1.2.3.1 Modulação.....	15
1.3 Aplicações de VBM no estudo dos transtornos neuropsiquiátricos: o exemplo do transtorno obsessivo-compulsivo (TOC).....	16
1.4 Avaliação de ventrículos laterais em estudos de VBM: problemas potenciais.....	20
2. Objetivos.....	22
3. Material e Métodos.....	26
3.1 Dados clínicos e demográficos relativos aos sujeitos incluídos no banco de dados utilizado para os processamentos de imagens.....	26
3.1.1 Critérios para inclusão e exclusão dos sujeitos para a seleção de pacientes e controles saudáveis.....	26
3.1.2 Critérios para inclusão e exclusão das imagens para processamento.....	28
3.2 Avaliação da intensidade dos sintomas nos pacientes com TOC.....	29
3.3 Aspectos éticos.....	33
3.4 Protocolos utilizados para a aquisição de imagens de RM estrutural.....	33
3.5 Processamentos das imagens.....	34
3.5.1 VBM padrão.....	35
3.5.2 VBM otimizado.....	38
3.5.2.1 Criação dos moldes customizados.....	38
3.5.2.2 Processamento das imagens originais utilizando os moldes customizados criados para o estudo.....	41
3.6 Análise estatística dos dados obtidos com os dois métodos de VBM (convencional e otimizado).....	43
3.7 Análise do volume dos ventrículos e de núcleos subcorticais usando ROIs.....	46
3.7.1. Delineamento manual das regiões de interesse.....	48
3.7.1.1 Núcleo Caudado.....	48
3.7.1.2. Putâmen.....	49
3.7.1.3. Tálamo.....	50

3.7.1.4. Ventrículos Laterais	51
3.7.1.5 Volume cerebral total	52
3.7.2 Análise estatística dos dados obtidos com ROIs	53
4. Resultados	54
4.1. Resultados obtidos no processamento automático usando o método de VBM	54
4.1.1 Substância cinzenta	54
4.1.1.1 Achados em regiões nas quais anormalidades volumétricas foram previstas <i>a priori</i>	54
4.1.1.2 Achados em regiões nas quais anormalidades volumétricas não foram previstas <i>a priori</i>	56
4.1.2 Substância branca	63
4.1.2.1 Achados em regiões nas quais anormalidades volumétricas foram previstas <i>a priori</i>	63
4.1.2.2 Achados em regiões nas quais anormalidades volumétricas não foram previstas <i>a priori</i>	64
4.1.3 Líquido céfalo-raquidiano	70
4.2. Resultados obtidos usando o método de delineamento manual de ROIs ..	74
4.2.1 Confiabilidade das medidas entre observadores	74
4.2.2 Diferenças volumétricas entre pacientes com TOC e controles assintomáticos	75
5. Discussão	78
5.1 Comparação dos achados de VBM no TOC com os dados anteriores da literatura	78
5.2 Comparação entre os resultados obtidos com os métodos VBM e de ROIs – substância cinzenta	81
5.3 Artefatos de dilatação ventricular e sua influência sobre resultados de substância cinzenta obtidos com os métodos de VBM padrão e otimizado	86
5.4 Comparação dos resultados obtidos com o método de VBM padrão e otimizado – substância cinzenta	88
5.5 Resultados obtidos com o método de VBM padrão e otimizado – substância branca	90
5.6 Escolha dos níveis de inferência estatística em estudos de neuroimagem utilizando o programa SPM	93
5.6 Considerações metodológicas	94
5.7 Conclusão	96
Anexo	98
6. Referências bibliográficas	113
Apêndice	124

Listas de figuras

Figura 1.1	- Ilustração da posição anatômica das comissuras cerebrais	8
Figura 1.2	- Imagem de ressonância magnética mostrando a comissura anterior como origem	8
Figura 2	- Exemplos de imagens de RM obtidas após a segmentação.....	11
Figura 3	- Seqüência de imagens axiais de RM suavizadas com filtro gaussiano de 8 mm	12
Figura 4	- Exemplo de cortes axiais obtidos na seqüência T1.....	34
Figura 5.1	- Fluxograma da seqüência de processos realizados no método do VBM padrão exemplificado com figuras	37
Figura 5.2	- Fluxograma da seqüência de processos realizados no método do VBM padrão	37
Figura 6.1	- Fluxograma da seqüência de processos realizados para a criação dos moldes para o método VBM otimizado exemplificado com figuras.....	40
Figura 6.2	- Fluxograma da seqüência de processos realizados para a criação dos moldes para o método VBM otimizado.....	40
Figura 7.1	- Fluxograma de processos realizados no método do VBM otimizado, exemplificados com figuras	42
Figura 7.2	- Fluxograma de processos realizados no método do VBM otimizado	42
Figura 8	- Ilustração da delineação dos núcleos caudados	48
Figura 9	- Ilustração da delineação do putâmen.....	49
Figura 10	- Ilustração da delineação dos tálamos	50
Figura 11	- Ilustração da delineação dos ventrículos laterais.....	51
Figura 12	- Ilustração da delineação do volume cerebral	52
Figura 13	- Regiões cerebrais onde foram encontrados focos de diminuição de volume de substância cinzenta em 19 pacientes com transtorno obsessivo-compulsivo (TOC) em comparação com 15 controles saudáveis	60
Figura 14	- Regiões cerebrais onde foram encontrados focos de aumento de volume de substância cinzenta, em 19 pacientes com transtorno obsessivo-compulsivo (TOC) em comparação com 15 controles saudáveis	61
Figura 15	- Regiões cerebrais onde foram encontradas correlações negativas significativas entre a gravidade dos sintomas no grupo com TOC (N=19) e o volume de substância cinzenta	62
Figura 16	- Regiões cerebrais onde foram encontrados focos de diminuição de volume de substância branca, em 19 pacientes com transtorno obsessivo-compulsivo (TOC) comparados a 15 controles saudáveis	67

Figura 17	- Regiões cerebrais onde foram encontrados focos de aumento de volume de substância branca, em 19 pacientes com transtorno obsessivo-compulsivo (TOC) comparados a 15 controles saudáveis	68
Figura 18	- Regiões cerebrais onde foram encontradas correlações positivas significativas entre a gravidade dos sintomas no grupo com TOC (n=19) e o volume de substância branca	69
Figura 19	- Regiões cerebrais onde foram encontradas correlações positivas significativas entre a gravidade dos sintomas no grupo com TOC (n=19) e o volume de líquido céfalo-raquidiano.....	73

Listas de tabelas

Tabela 1	- Dados demográficos dos pacientes com TOC e controles normais.....	28
Tabela 2	- Dados clínicos do grupo de pacientes com TOC	32
Tabela 3.1	- Achados significantes das análises de substância cinzenta usando o método de VBM otimizado	58
Tabela 3.2	- Achados significantes das análises de substância cinzenta usando o método de VBM padrão	59
Tabela 4	- Achados significantes das análises de substância branca usando o método de VBM otimizado.....	66
Tabela 5.1	- Achados significantes das análises de líquido céfalo-raquidiano usando o método de VBM otimizado.....	71
Tabela 5.2	- Achados significantes das análises de líquido céfalo-raquidiano usando o método de VBM padrão	72
Tabela 6	- Resultado do coeficiente de correlação intraclasses entre dois avaliadores	74
Tabela 7	- Comparação estatística dos resultados da volumetria manual entre o grupo dos indivíduos com TOC e o grupo controle usando o teste não paramétrico de Mann-Whitney	75
Tabela 8	- Correlação entre a gravidade de sintomas e os volumes medidos pelas ROIs no grupo de pacientes com TOC (n=19) usando o teste não paramétrico de Spearman	76
Tabela 9	- Comparação dos resultados obtidos nas análises que usaram VBM otimizado ou ROIs para a avaliação de regiões cerebrais subcorticais.....	77

Lista de abreviaturas e siglas

ACR - *American College of Radiologists*

BA – *Brodman Área* (Área de Brodmann)

Beck-Ans - *Beck Anxiety Scale*

Beck-DEP - *Beck Depression Inventory*

CA – *Comissura anterior*

CP – *Comissura posterior*

DICOM - *Digital Imaging Communications In Medicine*

DP – *Desvio-padrão*

DSM-IV-TR - *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders- 4th edition- Text Revision* (Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais - 4^a edição-texto revisado)

DTI - *Diffusion Tensor Imaging* (Imagem por tensor de difusão)

FFE - *fast field echo*

FOV - *field of view*

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

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

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

ICBM - *International Consortium for Brain Mapping*

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

InCor - Instituto do Coração

IPQ – Instituto de Psiquiatria

LIM 21 - Laboratório de Neuroimagem em Psiquiatria

MLG - Modelo linear geral

mm – Milímetro

mm³ - Milímetro cúbico

mseg – Milissegundos

MNI – *Montreal Neurological Institute*

NEMA - *National Electrical Manufacturers Association*

NIH - *National Institute of Health*

NS – não significativo

PC (Pacientes versus Controles)

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

Pixel - *Picture Element*

PROTOC - Projeto Transtorno Obsessivo-Compulsivo

RF – Radiofrequência

RM – Ressonância Magnética.

RMf – Ressonância Magnética funcional

ROI – Região de interesse (Region of Interest).

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

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

SPM – *Statistical Parametric Mapping*

SPM2- *Statistical Parametric Mapping*, versão 2

SVC – *Small Volume Correction*

T – Tesla

TE – *time echo*

TOC – Transtorno obsessivo-compulsivo

TR - *time relaxation*

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

Voxel - *Volume Element* ou *Volume cell*

Y-BOCS - *Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale*

YGTSS - *Yale Global Tic Severity Scale*

Resumo

Duran FLS. *Análise morfométrica voxel-a-voxel de estudos de ressonância magnética do crânio em transtornos psiquiátricos e neurológicos: implementação e otimização de métodos* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2008. 123p.

INTRODUÇÃO: O processamento de imagens de ressonância magnética (RM) estrutural tem sido amplamente utilizado em pesquisas neuro-psiquiátricas. Os métodos mais usados para este fim são a volumetria manual por regiões de interesse (*regions of interest* - ROIs) e a morfometria baseada no voxel (*Voxel-based morphometry* - VBM). Nesta tese, foi usado um banco de imagens de pacientes diagnosticados com transtorno-obsessivo compulsivo (TOC) (n=19) e controles saudáveis (n=15), as quais foram processadas nas duas técnicas de análise morfométrica denominadas VBM padrão e VBM otimizado. Foram comparados os resultados obtidos com tais métodos automatizados de VBM versus método de ROIs, e comparou-se também a incidência de artefatos de normalização espacial e segmentação entre o VBM padrão e o otimizado. **MÉTODOS:** As imagens foram processadas usando VBM com o programa *Statistical Parametric Mapping* (SPM), e ROIs foram desenhadas sobre as regiões cerebrais adjacentes aos ventrículos laterais usando o programa MRICro. O processamento pelo VBM padrão incluiu normalização das imagens para um molde anatômico pré-definido, segmentação em compartimentos de substância cinzenta, branca e líquido, suavização com filtro gaussiano (12mm), e comparações estatísticas usando o modelo linear geral. Para o VBM otimizado, foram construídos moldes customizados para o próprio estudo. Utilizando estes moldes, as imagens foram segmentadas e normalizadas para cada compartimento cerebral, gerando parâmetros para que a imagem original pudesse ser normalizada de forma mais precisa. Após esta segunda normalização as imagens foram segmentadas, moduladas pelo determinante jacobiano, suavizadas com filtro gaussiano (12mm), e comparadas estatisticamente. As ROIs foram desenhadas seguindo padrões estabelecidos na literatura internacional. **RESULTADOS:** Para as regiões cerebrais nas quais se previa *a priori* a presença de anormalidades associadas ao TOC, o VBM otimizado mostrou alterações volumétricas de substância cinzenta no grupo de pacientes com TOC comparados a controles, incluindo redução volumétrica no giro do cíngulo anterior, e aumento em córtex orbito-frontal e giro parahipocampal. Na mesma análise com VBM padrão, foi detectado apenas aumento volumétrico em sujeitos com TOC no giro parahipocampal. Já correlacionando o volume de substância cinzenta com escores em escala de gravidade de sintomas, o VBM otimizado detectou correlação significativa negativa na adjacência do tálamo dorso-medial com expansão para ventrículo lateral, expansão esta muito mais ampla quando a análise foi feita com VBM padrão. Já na análise de substância branca, apenas o VBM otimizado mostrou uma correlação positiva significativa com gravidade de sintomas numa região na qual se

previa *a priori* a presença de anormalidades no grupo com TOC (corona radiata e cápsula interna). Houve consistência entre os achados de alterações de substância cinzenta subcortical e líquido obtidos com VBM otimizado e achados de volumes alterados obtidos com ROIs. **CONCLUSÕES:** Em comparação com o VBM padrão, o método otimizado se mostrou mais sensível para identificar alterações volumétricas em regiões cerebrais de substância cinzenta e branca nas quais se previa *a priori* a presença de anormalidades volumétricas no grupo de sujeitos com TOC. Além disso, as técnicas de VBM e ROIs foram relativamente equiparáveis para a avaliação volumétrica de regiões subcorticais. Por fim, verificou-se que ambos os métodos de VBM padrão e otimizado são sujeitos a artefatos causados por dilatação ventricular, mas de menor intensidade com o VBM otimizado.

Descritores: Processamento de imagem assistida por computador; imagem por ressonância magnética; cérebro; transtorno obsessivo-compulsivo.

Summary

Duran FLS. *Voxel-based morphometry analysis of brain magnetic resonance studies in psychiatry and neurologic disorders: implementation and optimization of methods* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2008. 123p.

INTRODUCTION: Processing methods for magnetic resonance imaging (MRI) brain data have been largely used in research studies of psychiatric disorders. The techniques most widely used for this purpose are manual volumetry using regions of interest (ROIs) and voxel-based morphometry (VBM). In this thesis, images from a databank of patients diagnosed with obsessive-compulsive disorder (OCD) (n=19) and healthy controls (n=15) were processed using the two VBM methods, namely standard and optimized VBM. The results obtained with those two automated methods were compared to the ROI approach, and the presence of artifacts of spatial normalization and image segmentation were also compared between standard and optimized VBM. **METHODS:** Image processing using VBM was conducted with the *Statistical Parametric Mapping* (SPM) program, and the ROIs were drawn over the brain regions adjacent to the lateral ventricles using the MRlcro program. The standard VBM processing included normalization of images to a pre-defined template, segmentation in gray matter, white matter and cerebrospinal fluid compartments, gaussian smoothing (12mm), and statistical comparisons using the general linear model. For optimized VBM, customized templates were built specifically for the study. Using these templates, images were segmented and spatially normalized for each brain compartment, generating parameters that allowed spatial normalization of images with greater precision. After such second normalization, images were segmented, modulated using the jacobian determinants, smoothed with a gaussian filter (12mm), and compared statistically. The ROIs were built using guidelines established in the previous international literature. **RESULTS:** For the brain regions in which abnormalities in association with OCD were predicted *a priori*, optimized VBM showed gray matter changes in the OCD group relative to controls, including reduced volume of the anterior cingulate gyrus, and increased volume of the orbitofrontal cortex and parahippocampal gyrus. The same analysis using standard VBM detected only increased volume in OCD patients in the parahippocampal gyrus. When correlations between gray matter volumes and scale scores of obsessive-compulsive severity were investigated, the optimized VBM approach revealed a significant negative correlation in the adjacency of the dorso-medial thalamus, extending towards the lateral ventricle. Such ventricular extension was much greater when the same analysis was conducted using standard VBM. In regard to the white matter compartment, only the optimized VBM analysis showed a significant positive correlation with symptom severity in a region where OCD-related abnormalities had been predicted *a priori*, namely the corona radiata and internal capsula. Results regarding to the gray matter and cerebrospinal fluid

compartments were relative consistent between the optimized VBM and ROI analyses. **CONCLUSIONS:** In comparison to standard VBM, the optimized VBM method showed greater sensitivity to identify volumetric alterations in gray and white matter brain regions in which OCD-related changes had been predicted *a priori*. Also, the optimized VBM and ROI techniques were comparable for the evaluation of subcortical structures. Finally, both the standard and optimized VBM methods were prone to artifacts caused by ventricle enlargement, but with lesser intensity when the optimized VBM approach was employed.

Descriptors: Image processing, computer-assisted; magnetic resonance imaging; cerebrum; obsessive-compulsive disorder.

1. Introdução

Ao longo das últimas décadas, esforços consideráveis têm sido dirigidos na busca de pesquisar a etiologia e a fisiopatologia dos transtornos psiquiátricos e neurológicos. O uso de técnicas de neuroimagem cada vez mais sofisticadas permite a investigação de evidências de anormalidades neuroanatômicas estruturais e funcionais em associação com estes transtornos.

Na busca de evidências de alterações cerebrais morfométricas em portadores de transtornos neuro-psiquiátricos, a técnica mais amplamente utilizada hoje em dia é a ressonância magnética (RM) do crânio.

1.1 Ressonância Magnética (RM): Princípios básicos

Segundo Amaro e Yamashita (2001), a RM é atualmente a técnica mais sofisticada para aquisição de imagens da morfologia do cérebro humano.

Habitualmente, usa-se o campo magnético de 1,5 T, ainda que equipamentos mais recentes tenham sido fabricados com campos mais potentes, como 3 T. Este campo magnético intenso é necessário para alinhar o núcleo de hidrogênio (próton) que existe em cada célula do corpo humano. Uma vez alinhados os núcleos de hidrogênio, o aparelho emite uma frequência de 63,8 MHz causando a excitação destes núcleos. A excitação dos núcleos de hidrogênio gera uma onda de energia, conhecida

como ressonância. Através desta onda de energia o aparelho determina a posição espacial (coordenadas x,y,z) e a intensidade do sinal (brilho) de cada ponto da imagem.

Sem o uso de radiação ionizante (Raios-X) e com maior resolução espacial (nitidez) das imagens, a RM permite uma melhor classificação das estruturas cerebrais, uma vez que os contornos dos compartimentos de substância cinzenta, substância branca e líquido céfalo-raquidiano são bem definidos. Devido a estas características, esta técnica vem sendo amplamente utilizada para pesquisa em Psiquiatria e Neurologia hoje em dia.

Em estudos morfométricos de RM, comparando pacientes portadores de transtornos psiquiátricos versus grupos-controle de voluntários saudáveis, tem sido possível demonstrar alterações volumétricas em circuitos cerebrais específicos em amostras de pacientes com esquizofrenia (Wright et al., 2000; Shenton et al., 2001; Job et al., 2002; Gaser et al., 2004; Honea et al., 2005; Keller e Roberts, 2008; Lawrie et al., 2008), transtornos do humor (Soares e Mann, 1997), transtorno-obsessivo compulsivo (TOC) (Kim et al., 2001), demências (Baron et al., 2001), e outros.

Para que seja possível fazer a quantificação de volumes de diferentes regiões cerebrais em estudos de RM, são necessárias técnicas de processamento de imagens, as quais serão abordadas no próximo item.

1.2 Processamento de imagens digitais

O processamento de imagens abrange uma ampla escala de *hardware*, *software* e fundamentos teóricos (Gonzalez e Woods, 2000).

O processamento de neuroimagem tem sido amplamente utilizado em pesquisas psiquiátricas e entre outras áreas médicas.

Para ser realizado este tipo de processamento, usa-se como base a imagem cerebral, que pode ser obtida através de equipamentos de diagnóstico, como por exemplo, tomografia por emissão de pósitrons (*positron emission tomography* - PET), tomografia por emissão de fóton único (*single photon emission computed tomography* - SPECT) ou RM do crânio.

Desde 1993, quando ficou estabelecido pelo *American College of Radiologists* (ACR) e o *National Electrical Manufacturers Association* (NEMA), estes equipamentos produzem imagens digitais no padrão *Digital Imaging Communications In Medicine* (DICOM).

A imagem digital pode ser vista como uma matriz numérica. Nesta matriz, as linhas e colunas identificam um ponto na imagem (coordenadas x e y). Cada ponto tem um valor correspondente ao nível de cinza da imagem naquela localização, representando sua amplitude (brilho de um ponto) (Gonzalez e Woods, 2000). Cada um dos elementos da matriz de pontos em um monitor de vídeo recebe o nome de pixel (*Picture Element*).

Na RM, cada imagem digital é uma matriz numérica, na qual cada ponto recebe o nome de voxel (*Volume Element* ou *Volume cell*). O voxel é um análogo tridimensional do pixel. Cada voxel é uma unidade de volume

que tem a si um valor numérico associado que representa algumas propriedades de medidas ou variáveis independentes de um objeto ou fenômeno real.

Para a avaliação dos volumes das estruturas cerebrais, os métodos de processamento mais usados são a volumetria manual e o processamento automático voxel-a-voxel. Na volumetria manual é realizada uma delimitação de regiões de interesse (*regions of interest* - ROIs); já os métodos de processamento automático voxel-a-voxel realizam uma série de transformações nas imagens para que as mesmas sejam analisadas estatisticamente. Estes métodos serão descritos nos itens a seguir.

1.2.1 Métodos de análise de RM por regiões de interesse

Muitos estudos com processamento de neuroimagem são voltados a uma ou poucas áreas cerebrais específicas, usando para a quantificação dos dados, ROIs desenhadas sobre estas áreas.

Diversos estudos de avaliação volumétrica em exames de RM de pacientes com transtornos psiquiátricos e neurológicos têm utilizado métodos de delimitação manual de ROIs sobre cada estrutura anatômica. Este método consiste no delimitação manual de sub-regiões cerebrais, previamente selecionadas por serem sede de suspeita de possíveis alterações regionais no transtorno psiquiátrico ou neurológico que está sendo estudado. O delimitação dessas regiões pode ser à mão livre ou mediante padrões pré-definidos de contornos de bordas. O delimitação manual pode ser realizado com o cursor na tela de um computador e

depende dos conhecimentos prévios de neuroanatomia do pesquisador, da firmeza de sua mão, de seu cansaço, da qualidade da imagem, etc.

Apesar de amplamente difundidos e validados, os métodos de ROI apresentam limitações importantes. A técnica é dependente do observador, e sujeita a imprecisões e vieses. Por exemplo, tal método pode apresentar problemas de baixa reprodutibilidade quando a imagem é avaliada por pesquisadores diferentes, ou pelo mesmo observador em tempos diferentes. Outra limitação é a dificuldade de definição dos contornos de algumas estruturas anatômicas que não são envoltas por substância branca, como por exemplo, áreas corticais. Além disso, o método é cansativo e trabalhoso, pois o pesquisador deve delinear manualmente a ROI em diversos cortes consecutivos, onde a estrutura de interesse estiver presente; assim, torna-se quase impraticável a avaliação do cérebro todo. Por estes motivos, os estudos que utilizam o método de ROI em geral, se limitam à investigação de poucas regiões cerebrais, as quais se supõem estarem mais diretamente envolvidas na fisiopatologia do transtorno neurológico ou psiquiátrico em questão.

1.2.2 Métodos de análise voxel-a-voxel

Nos últimos anos, novos métodos de análise de imagens têm sido desenvolvidos com o objetivo de superar as dificuldades das técnicas baseadas na delimitação de ROIs. Entre estes, um dos mais promissores é o da morfometria baseada no voxel (*voxel-based morphometry - VBM*) (Ashburner e Friston, 2000).

Esta técnica de morfometria cerebral é oriunda de métodos utilizados com bastante frequência em estudos de PET cerebral que comparam grupos de pacientes com voluntários saudáveis. Um dos programas que vem sendo amplamente difundido para este fim é o *Statistical Parametric Mapping* (SPM). Este programa foi desenvolvido por membros do *Wellcome Department of Cognitive Neurology*, UK (Friston et al., 1995), e funciona sobre a plataforma do programa MATLAB (Mathworks Inc, Sherborn, MA, USA). Nesses estudos de PET, as imagens de cada sujeito são transformadas de forma a se conformar a um espaço anatômico padronizado e em seguida são feitas comparações estatísticas entre grupos da atividade cerebral para cada voxel do volume cerebral. Posteriormente, o programa SPM passou também a ser aplicado em estudos de SPECT cerebral para a análise de dados adquiridos com equipamentos com múltiplos detectores (Crippa et al, 2004) ou equipamentos convencionais com detectores únicos (Duran et al, 2007).

A adaptação da metodologia descrita acima para estudos de RM estrutural (o método VBM) segue os padrões de adaptação para RM estrutural definidos inicialmente por Wright et al. (1995). Esta adaptação permite a comparação da concentração local de substância cinzenta entre dois grupos de sujeitos para cada um dos milhares de voxels de todo o volume cerebral. Tal volume de busca é composto de aproximadamente 250.000 voxels (medindo 2 mm³ cada um) somente para o compartimento de substância cinzenta. Os métodos de VBM representam avanço importante por serem menos laboriosos, não dependerem do observador e não serem

tendenciosos para uma estrutura cerebral em particular, podendo fornecer uma avaliação das diferenças anatômicas entre grupos através de todo o cérebro ao contrário da técnica por ROIs (Ashburner e Friston, 2000).

Para que seja possível aplicar este tipo de análise estatística voxel-a-voxel num grupo de pacientes comparados a controles saudáveis, etapas de pré-processamento de imagens precisam ser cumpridas, incluindo: conversão das imagens para o formato *Analyze*; redefinição do ponto central da imagem, determinando a comissura anterior como ponto de origem [$f(x,y,z)=(0,0,0)$] conforme o Atlas Estereotáxico do Cérebro Humano (Talairach e Tournoux, 1998), ilustrado na Figura 1; reorientação da imagem para convenção neurológica; normalização espacial; segmentação; e suavização das imagens. Depois que as imagens de todos os sujeitos são inicialmente processadas, a etapa final consiste na aplicação de um teste estatístico para cada voxel do volume cerebral. Este processo permite a produção de mapas estatísticos paramétricos, os quais evidenciam os voxels com intensidade de sinal (concentração) de substância cinzenta significativamente diferente entre os grupos estudados, num determinado limiar de significância estatística definido pelo pesquisador.

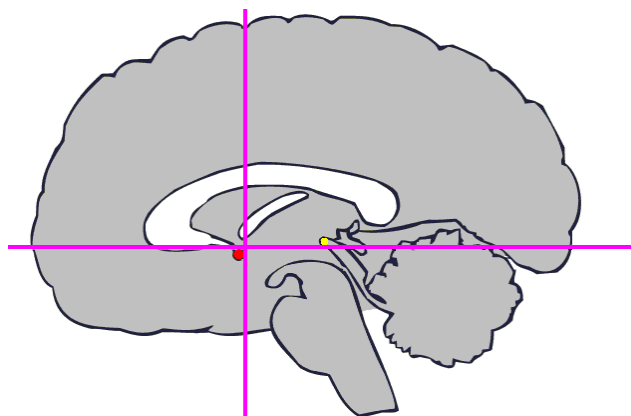


Figura 1.1. Ilustração da posição anatômica das comissuras cerebrais. O ponto em vermelho mostra a localização anatômica da comissura anterior e o ponto em amarelo, a localização da comissura posterior.

Fonte: <http://imaging.mrc-cbu.cam.ac.uk/imaging/FindingCommissures>

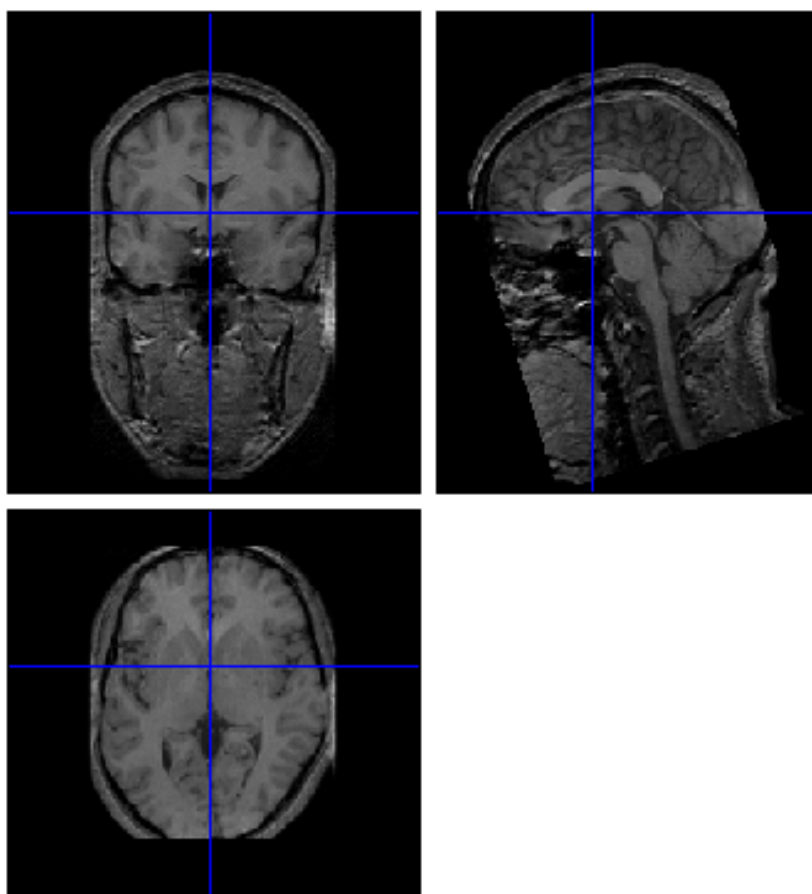


Figura 1.2. Imagem de ressonância magnética mostrando a comissura anterior como origem.

Fonte: Imagem do próprio estudo.

As principais etapas do SPM para realizar este tipo de processamento de neuroimagem estão descritas detalhadamente a seguir, com base nas informações contidas na literatura usada como referência básica para este método (Frackowiak et al., 1997; Good et al., 2001):

1.2.2.1 Normalização espacial

O processo da normalização espacial permite realizar o alinhamento de imagens de RM, PET e SPECT dentro do espaço padrão definido pelo modelo ideal ou imagem-modelo (*template*). A imagem-modelo aplicada com o SPM é conformada para o espaço definido pelo *International Consortium for Brain Mapping* (ICBM) e o projeto P-20 do *National Institute of Health* (NIH P-20) (<http://www.med.umich.edu/obgyn/HealthServicesResearch/nihp20.htm>), aproximando-se do espaço descrito no Atlas Estereotáxico do Cérebro Humano (Talairach e Tournoux, 1988).

Em linguagem clara e simples, a normalização espacial do SPM consiste em realinhar a imagem cerebral adquirida tendo outra imagem cerebral padrão como guia, sendo esta adequada ao modelo neuroanatômico do atlas.

Geralmente, os algoritmos trabalham minimizando a somatória da diferença dos quadrados entre a imagem que será normalizada e a combinação linear de uma ou mais imagens-modelo. Para o mínimo registro quadrado a fim de produzir a estimativa imparcial da transformação espacial,

o contraste da imagem-modelo será similar à imagem que derivou da normalização espacial.

1.2.2.2 Segmentação

A segmentação em imagens cerebrais de RM tem por finalidade separar os compartimentos de substância cinzenta, substância branca e líquido céfalo-raquidiano, fazendo com que as imagens correspondentes a cada um destes compartimentos se torne um arquivo separado.

O algoritmo de segmentação primeiramente determina a transformação linear que melhor iguala a imagem a ser segmentada com a imagem-modelo *a priori*, caso esta tenha sido especificada.

Após a análise do agrupamento, usando-se três imagens probabilísticas *a priori* (substância cinzenta, substância branca e líquido céfalo-raquidiano), calcula-se a probabilidade da existência de substância cinzenta em cada voxel da imagem original, tendo como referência as imagens *a priori*. Gera-se assim a nova imagem do compartimento de substância cinzenta do indivíduo, conforme ilustrado na Figura 2 abaixo, sendo que o valor de intensidade de cinza em cada voxel desta nova imagem varia entre 0 e 1, correspondendo à probabilidade de haver substância cinzenta naquele local. Em seguida, o mesmo procedimento pode ser repetido para a obtenção das imagens probabilísticas de substância branca e líquido do indivíduo.

Após a segmentação de todos os compartimentos da imagem cerebral, a ferramenta de segmentação do SPM realiza a extração dos

tecidos extra-cerebrais, através da diferença da soma da imagem de substância cinza com a de substância branca, aplicada sobre a imagem cerebral da qual precisa ser removido o tecido extra-cerebral

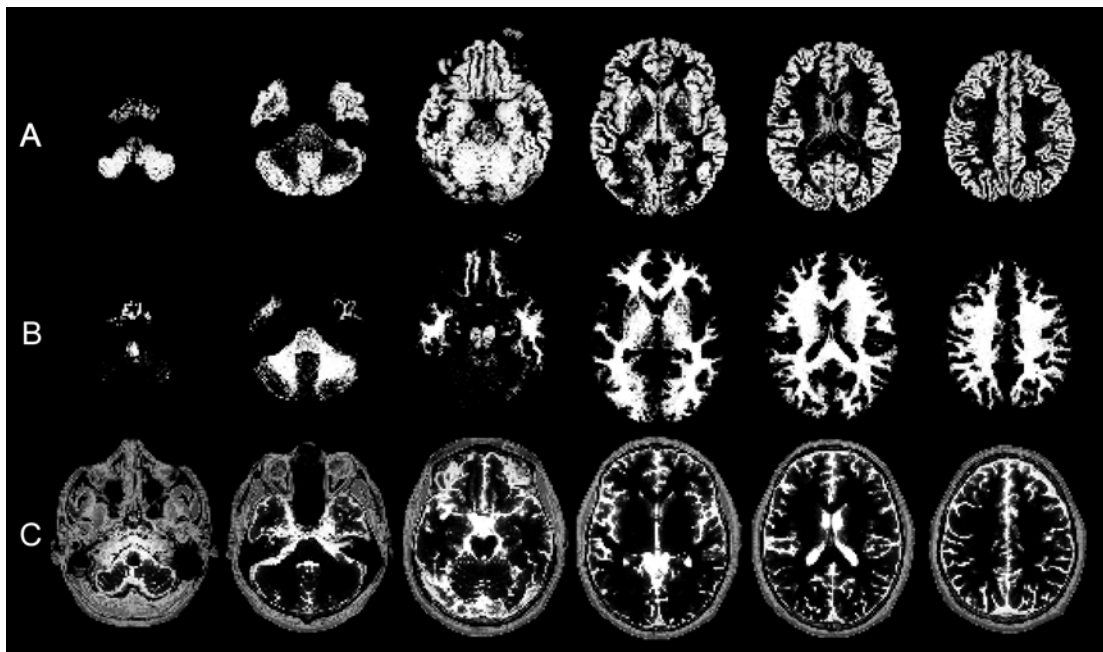


Figura 2. Exemplos de imagens de RM obtidas após a segmentação; A – seqüência axial de substância cinza; B – seqüência axial de substância branca; C – seqüência axial de líquido céfalo-raquidiano.

Fonte: Imagens do próprio estudo.

1.2.2.3 Suavização

Os filtros de suavização são utilizados para borramento e redução de ruído. O borramento é utilizado como ferramenta de pré-processamento, para remoção de pequenos detalhes de uma imagem antes da extração de objetos (grandes) e conexão de pequenas discontinuidades em linhas e curvas (Figura 3). A redução de ruídos pode ser conseguida pelo borramento com filtro linear, assim como por filtragem não-linear.

No processo de suavização de imagens, é obtida a média de cada ponto com os pontos vizinhos em série, como numa série temporal. Isto,

usualmente tem como efeito borrar as bordas do desenho nos dados suavizados. A suavização é geralmente referida como filtro, pois tem o efeito de suprimir o sinal de alta frequência e reforçar o sinal de baixa frequência. Existem muitos métodos de suavização; o SPM utiliza o método de suavização pelo filtro gaussiano, através da função da largura total pela metade do máximo (*full width at half maximum* - FWHM).

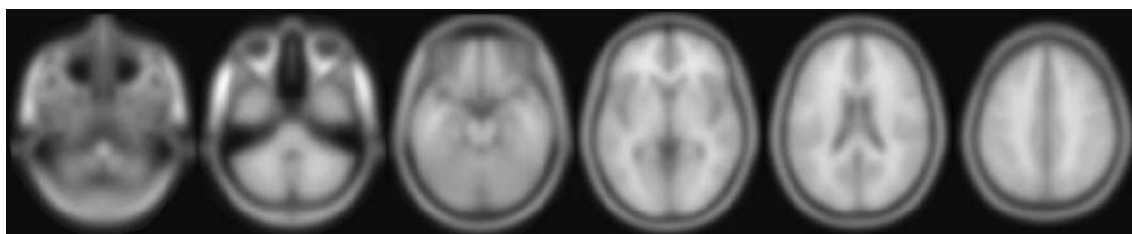


Figura 3. Seqüência de imagens axiais de RM suavizadas com filtro gaussiano de 8 mm.
Fonte: Imagens do próprio estudo.

Esta suavização reduz as variações causadas pela diferença individual na anatomia dos sulcos e giros, em conformidade com o modelo de campos gaussianos implícito no processo estatístico usado para inferência criada sobre a significância de um determinado achado (Ashburner e Friston, 2000).

Em geral, é utilizado o filtro de 12 mm para a inspeção da maioria das estruturas cerebrais. Quando o interesse é o de investigar somente estruturas menores, como por exemplo a amídala e o hipocampo, são utilizados filtros menores como o de 4mm (Kubicki et al., 2002).

1.2.2.4 Mapas estatísticos

Uma vez que as imagens tenham sido normalizadas espacialmente para a imagem molde de referência, segmentadas e suavizadas, o SPM permite que se faça a análise estatística separada para cada voxel do volume cerebral total. Isto conduzirá à geração de mapas paramétricos mostrando a localização espacial e extensão das diferenças que sejam estatisticamente significantes entre os grupos estudados.

A análise estatística empregada no SPM é baseada no modelo linear geral (MLG), cuja expressão matemática é uma equação simples de primeiro grau:

$$A = BC + e \quad (1)$$

na qual, “A” = resposta variável, que representa o sinal mensurável para cada observação; “B” = parâmetro desconhecido; “C” = variável preditora, que contém os parâmetros usados para prever os dados de “A”; e “e” é o erro.

Usando as imagens segmentadas, as análises estatísticas obtidas com o VBM padrão, fornecem testes de diferença entre grupos em termos de densidade (ou concentração) de substância cinzenta (ou dos outros compartimentos).

1.2.3 Avanços recentes no uso de VBM: a otimização de protocolos de análise

Nos últimos anos, foram feitas diversas críticas e discussões sobre as limitações do uso de VBM em seu formato padrão, no que diz respeito às

etapas de normalização espacial e segmentação de imagens (Bookstein, 2001). A fim de minimizar tais limitações, foram desenvolvidos protocolos mais sofisticados, conhecidos hoje como protocolos de VBM otimizado (Good et al., 2001).

A inspeção de imagens segmentadas do pré-processamento no VBM convencional freqüentemente mostra áreas de substância não-cinza. Por exemplo, sobre imagens de substância cinza segmentada, voxels de seios venosos durais, gordura do escalpo, ápice petroso e espaço díploe são freqüentemente classificados como substância cinza. Isto tem implicações confundidoras de resultados se existem diferenças sistemáticas no tamanho e forma do crânio ou espessura do couro cabeludo entre os grupos estudados, especialmente se existe um número muito grande de sujeitos em um grupo. No método do VBM otimizado (Good et al., 2001) existe maior precisão dos achados, uma vez que é realizada uma etapa de normalização espacial usando como parâmetro a própria imagem segmentada do sujeito.

O método do VBM otimizado permite também a criação de moldes especificamente para o estudo (usando média de imagens cerebrais adquiridas exatamente com o mesmo equipamento e protocolo de aquisição de dados), além de um procedimento de modulação das imagens, o qual permite a preservação relativa dos volumes de estruturas cerebrais que tenham sido substancialmente deformadas durante o processo de normalização espacial (Good et al., 2001).

Em termos mais simples, o VBM otimizado consiste em realizar, primeiramente, a segmentação das imagens originais, a fim de se extrair o tipo de substância desejada, por exemplo, o compartimento de substância cinzenta de cada sujeito. Em seguida, esta imagem de substância cinzenta é normalizada para uma imagem *a priori* de substância cinzenta pré-definida. Nesta etapa, são obtidos os parâmetros de deformação da imagem. Estes parâmetros de deformação são, então, usados para se fazer a normalização espacial das imagens originais. Após a normalização das imagens originais, é realizada a segmentação destas imagens normalizadas. Estas novas imagens segmentadas são moduladas pelo determinante jacobiano (descrito a seguir) e por fim, é realizada a suavização das imagens moduladas com filtro gaussiano de tamanho desejado.

1.2.3.1 Modulação

Para se compreender este processo, deve-se imaginar a imagem cerebral de um sujeito no qual a estrutura cerebral “A” seja minúscula, mas com uma alta intensidade de sinal. Quando se realiza a normalização espacial da imagem (especificamente as transformações não-lineares), este sujeito terá sua região cerebral “A” expandida em volume, alterando-se substancialmente a característica original desta estrutura anatômica. Da mesma forma, uma outra estrutura anatômica que tivesse um volume grande poderia ser exageradamente reduzida durante a normalização espacial. Assim sendo, quando se usa o VBM padrão, mede-se diferenças de densidade de sinal entre grupos, e não propriamente diferenças

volumétricas. No VBM otimizado, diferentemente do padrão, aplica-se na etapa de modulação a função do determinante jacobiano para se devolver à estrutura a sua característica anatômica original (preservando a intensidade de sinal dos seus voxels).

Com a inclusão da modulação, as imagens segmentadas passam a representar mapas do volume absoluto de substância cinzenta e as análises estatísticas podem então fornecer testes de diferença entre grupos em termos de volume regional e não mais de densidade (ou concentração) de substância cinzenta.

Outro aspecto de importância considerável é que a modulação aumenta o grau de suavização das imagens. É, portanto, recomendado usar um baixo filtro de suavização (FWHM) em imagens moduladas (reduzindo em torno de 70-80% da largura do filtro para o SPM). Por exemplo, para tornar os dados comparáveis a imagens não moduladas suavizadas com FWHM de 12 mm, podem-se modulá-las com 8 ou 9 mm para obter aproximadamente o mesmo resultado de suavização.

1.3 Aplicações de VBM no estudo dos transtornos neuropsiquiátricos: o exemplo do transtorno obsessivo-compulsivo (TOC)

Estudos com imagens funcionais usando PET, SPECT e RM funcional (RMf) têm repetidamente reportado a presença de anormalidades cerebrais no TOC, localizadas predominantemente no circuito envolvendo o córtex órbito-frontal, giro do cíngulo anterior, gânglios da base e tálamo (Baxter et al., 1988; McGuire et al., 1994; Rauch et al., 1994; Breiter et al., 1996;

Saxena et al., 1998; Busatto et al., 2000; Lacerda et al., 2003; Mataix-Cols et al., 2004). Estes achados têm dado suporte ao modelo neurobiológico de TOC que propõe um papel central para des-regulação da atividade do circuito talâmico-estriatal-frontal na fisiopatologia deste transtorno (Rauch et al., 1998; Saxena et al., 1998).

Houve também diversos estudos de RM estrutural investigando anormalidades volumétricas cerebrais em pacientes com TOC em comparação com grupos de controles saudáveis, usando métodos de delimitação de ROIs. No entanto, os resultados destes estudos têm sido menos consistentes do que aqueles realizados usando as técnicas de neuroimagem funcional descritas acima (Saxena et al., 2001). As análises por ROIs nestes estudos de RM morfométrica têm sido focadas sobre o circuito tálamo-estriatal-cingulado-óritofrontal (Scarone et al., 1992; Jenike et al., 1996; Robinson et al., 1995; Rosenberg et al., 1997; Rosenberg e Keshavan, 1998; Szeszko et al., 1999; Giedd et al., 2000; Peterson et al., 2000; Choi et al., 2004; Szeszko et al., 2004). Além disso, alguns estudos de RM baseados em ROIs no TOC têm investigado anormalidades volumétricas em estruturas têmporo-mediais (Szeszko et al., 1999; Kwon et al., 2003; Szeszko et al., 2004), tais como a amídala, o hipocampo e o giro parahipocampal, refletindo o papel mais generalizado de regiões límbico-temporais em transtornos de ansiedade (Rauch et al., 2003).

As inconsistências dos estudos de RM podem estar relacionadas ao uso de métodos de ROI. Regiões vistas como críticas para modelos neurobiológicos do TOC, como o córtex órbito-frontal e o giro do cíngulo

anterior, têm conhecidas subdivisões anatômicas e funcionais, (Zald e Kim, 1996; Devinski et al., 1995; Ongur et al., 2003), o envolvimento das quais pode ser variável no TOC. Raramente tem sido possível estudar estas sub-regiões no TOC em estudos de RM estrutural, devido ao grande tamanho e variação das bordas anatômicas das ROIs empregadas (Choi et al., 2004). Além disso, o posicionamento de ROIs apenas em porções selecionadas do circuito subcortical-órbitofrontal tem impedido a investigação de outras regiões cerebrais que podem também estar envolvidas na patofisiologia do TOC.

O uso do método de VBM no TOC tem se mostrado promissor. Kim et al. (2001) reportaram alterações de aumento de substância cinzenta na porção anterior do córtex órbito-frontal esquerdo e no tálamo esquerdo num grupo de pacientes com TOC versus um grupo-controle de voluntários saudáveis pareados para idade e sexo. Num estudo mais recente e extenso, Pujol et al. (2004) encontraram diminuição de substância cinzenta em pacientes com TOC comparados a controles saudáveis no córtex órbito-frontal ventro-medial, no giro frontal médio direito e na ínsula posterior esquerda, bem como aumento de substância cinzenta bilateralmente no putâmem ventral e no cerebelo esquerdo. O nosso grupo de pesquisa também reportou recentemente a avaliação de volume de substância cinzenta de 19 sujeitos com TOC comparados com 15 voluntários saudáveis, usando a técnica de VBM (Valente et al., 2005), identificando diferenças significativas em regiões previstas *a priori* como relevantes para o TOC. A comparação entre os grupos identificou as seguintes anormalidades nos

pacientes com TOC: aumento de substância cinzenta no córtex órbito-frontal posterior e córtex parahipocampal à esquerda; e diminuição de substância cinzenta no córtex cingulado anterior esquerdo. Além disso, uma alteração não prevista *a priori* de redução de substância cinzenta foi detectada no córtex associativo parietal direito. Por fim, no estudo mais recente de VBM no TOC reportado na literatura (Szeszko et al., 2008), analisando 37 pacientes pediátricos com TOC livres de medicação comparados a 26 sujeitos saudáveis pareados para idade e sexo, os autores encontraram alterações significativas em regiões nas quais era prevista *a priori* a presença de anormalidades volumétricas no grupo de pacientes, incluindo o putâmen direito e esquerdo e o córtex órbito-frontal direito. Estes dados foram confirmados pela técnica de ROI na mesma amostra. Szeszko et al. (2008) também reportaram uma alteração nos pacientes comparados aos sujeitos controles no cíngulo anterior, mas esta alteração foi significativa somente com a técnica de ROI.

Em geral, os estudos de morfometria cerebral no TOC, incluindo investigações recentes com métodos de VBM, têm sido direcionados exclusivamente para a busca de alterações de substância cinzenta. Apenas uma pequena parcela de investigações vem sendo focada em alterações de volume do compartimento de substância branca em portadores de TOC comparados a controles saudáveis, e tais estudos geralmente têm reportado achados negativos (Pujol et al., 2004).

Recentemente, no entanto, dados de estudos de genética e neurocirurgia sugerem que é altamente relevante pesquisar alterações em

tratos de substância branca no TOC (Nuttin et al., 1999,2003; Rauch et al., 2003; Lopes et al., 2004; Stewart et al. 2006). Além disso, estudos recentes usando a inovadora técnica de imagens por tensor de difusão (*Diffusion Tensor Imaging* - DTI) com RM, mostraram aumento de anisotropia no fascículo do cíngulo esquerdo e na porção anterior da cápsula interna esquerda, bem como aumento de anisotropia no fascículo do cíngulo direito comparados a sujeitos saudáveis, sugerindo que existem alterações da arquitetura destes tratos de substância branca no TOC (Camistraro et al. 2007). Estes achados são relevantes por envolverem feixes de substância branca que interconectam as regiões fronto-talâmico-estriatais mencionadas acima como relevantes para a fisiopatologia do TOC, e demonstram a importância da avaliação volumétrica de substância branca em estudos de VBM neste transtorno psiquiátrico.

1.4 Avaliação de ventrículos laterais em estudos de VBM: problemas potenciais

Apesar dos achados de VBM no TOC e em outros transtornos psiquiátricos e neurológicos serem promissores até o momento, algumas questões a respeito desta metodologia ainda precisam ser mais bem investigadas. Um ponto de particular interesse diz respeito ao volume dos ventrículos laterais, que pode se mostrar freqüentemente aumentado em pacientes com transtornos psiquiátricos (Gaser et al., 2004).

Quando o método do VBM é utilizado, a presença do alargamento de ventrículos pode introduzir erros na normalização espacial (Ashburner e

Friston, 2001), e isto pode confundir a avaliação dos volumes de substância cinzenta em estruturas sub-corticais como os gânglios da base e o tálamo. No estudo de VBM em pacientes com TOC recentemente concluído pelo nosso grupo, obtivemos indicações preliminares de que achados de alargamento ventricular tiveram influência sobre os padrões de diferença de substância cinzenta identificados entre os grupos (Valente et al., 2005).

Até hoje, nenhum estudo avaliou sistematicamente a influência de achados de dilatação ventricular sobre os resultados de comparações estatísticas voxel-a-voxel usando os métodos de VBM convencional e VBM otimizado.

A avaliação deste tipo de questão de forma sistemática é importante para estudos de VBM de forma geral, visto que não só no TOC, mas também em outros transtornos psiquiátricos, tais como a esquizofrenia, achados de dilatação ventricular são freqüentes (Sallet et al., 2003), e podem introduzir vieses em avaliações realizadas com o método de VBM (Elkis et al., 1995).

2. Objetivos

Neste projeto, foram usadas imagens de pacientes com TOC e controles saudáveis de um banco de dados de RM estrutural do Laboratório de Neuroimagem em Psiquiatria (LIM 21) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP) (Valente e Busatto, 2001; Valente et al., 2005). Estas imagens foram processadas em um computador padrão Intel fazendo o uso do programa SPM nas duas técnicas de análise morfométrica voxel-a-voxel citadas, denominadas respectivamente VBM padrão e VBM otimizado.

Os objetivos foram os seguintes:

Gerais:

- (1) Implementar métodos otimizados de VBM para aplicação em estudos de RM estrutural investigando a presença de alterações volumétricas de substância cinzenta, substância branca e ventrículos laterais em grupos de pacientes portadores de transtornos psiquiátricos e neurológicos.
- (2) Comparar os resultados obtidos com os métodos automatizados de VBM versus métodos convencionais de delimitação de ROIs em pacientes com TOC comparados a voluntários saudáveis.

- (3) Comparar os resultados obtidos com os métodos de VBM otimizado e VBM padrão para análise morfométrica voxel-a-voxel dos compartimentos de substância cinzenta, substância branca e líquido de pacientes com TOC comparados a voluntários saudáveis.
- (4) Comparar a incidência de artefatos de normalização espacial e segmentação entre os métodos de VBM padrão e otimizado.

Específicos:

- (1) Verificar as similaridades e diferenças nos padrões de resultados obtidos entre os métodos de VBM padrão e otimizado em regiões nas quais anormalidades no grupo de pacientes com TOC seriam previstas *a priori*, incluindo: córtex órbito-frontal, núcleo caudado, tálamo e porção anterior do giro do cíngulo (sabidamente relevantes para este transtorno); e estruturas têmporo-mediais (amígdala, hipocampo e giro parahipocampal), sabidamente relevantes para os transtornos de ansiedade de forma geral.
- (2) Verificar as similaridades e diferenças nos padrões de resultados obtidos entre os métodos de VBM padrão e otimizado em regiões cerebrais não previstas *a priori* como focos preferenciais de anormalidades no grupo de pacientes com TOC.

- (3) Verificar as similaridades e diferenças nos padrões de resultados obtidos entre os métodos de VBM e ROIs especificamente em regiões subcorticais (gânglios da base e tálamo) e nos ventrículos laterais, que são particularmente sujeitas a artefatos de normalização espacial e segmentação.
- (4) Investigar a presença de artefatos causados por achados de dilatação ventricular em amostra de pacientes com TOC sobre os resultados obtidos usando métodos de VBM.

Hipóteses:

- (1) A extensão e a significância estatística dos achados de anormalidades volumétricas de substância cinzenta e branca nas regiões nas quais se prevê anormalidades em pacientes com TOC comparados a controles serão maiores com o uso do VBM otimizado em comparação com o VBM padrão.
- (2) Com o VBM otimizado, haverá um menor número de achados em regiões nas quais não se prevê anormalidades nos pacientes com TOC, indicando menor risco de achados falso-positivos em comparação com o VBM padrão.
- (3) Os resultados de comparação volumétrica entre grupos e de correlação com gravidade de sintomas serão equivalentes entre o método de VBM otimizado e o de ROIs.
- (4) O uso do método VBM otimizado para investigação de volumes de substância cinzenta estará associado a uma

menor influência de artefatos de ventrículos dilatados em comparação com os resultados obtidos com o método de VBM padrão.

3. Material e Métodos

3.1 Dados clínicos e demográficos relativos aos sujeitos incluídos no banco de dados utilizado para os processamentos de imagens

Foram utilizadas as imagens de RM estrutural de 19 pacientes ambulatoriais portadores de TOC, os quais passaram por triagem pelo Projeto Transtorno Obsessivo-Compulsivo (PROTOC) do Instituto de Psiquiatria (IPQ) do HC-FMUSP. As imagens de um sujeito adicional portador de TOC não foram utilizadas em vista da ausência de dados clínicos completos.

3.1.1 Critérios para inclusão e exclusão dos sujeitos para a seleção de pacientes e controles saudáveis

Os critérios de inclusão e exclusão para a seleção da amostra de pacientes que foi submetida aos exames radiológicos foram os seguintes:

Inclusão:

- 1) Diagnóstico de TOC de acordo com os critérios do *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th edition* (DSM-IV) (American Psychiatric Association, 1994), firmado com base em informações coletadas através da *Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders - patient edition* (SCID - I/P, version 2.0) (First et al., 1995).
- 2) Idade entre 18 e 55 anos

Exclusão:

- 1) História de abuso de álcool e/ou outras drogas;
- 2) História de traumatismo crânio-encefálico com amnésia pós-traumática;
- 3) História de doenças sistêmicas ou neurológicas que possam provocar manifestações no sistema nervoso central, detectadas com base em entrevista detalhada com paciente e familiares, exame físico geral e neurológico, e análise de prontuários médicos.

Para o grupo de sujeitos-controle, foram utilizadas como imagens de RM, os dados relativos a 15 voluntários saudáveis, pareados com o grupo de pacientes com TOC para as seguintes variáveis: idade, sexo, nível educacional, classe social e dominância cerebral. Este grupo foi selecionado de acordo com os seguintes critérios de exclusão, após avaliação pelo mesmo questionário médico e a mesma entrevista estruturada usada para os pacientes (SCID-I/P):

- 1) História pregressa ou atual de transtorno psiquiátrico maior incluindo abuso de álcool e/ou drogas;
- 2) História presente ou pregressa de doenças sistêmicas e/ou neurológicas que possam provocar manifestações no sistema nervoso central.
- 3) Antecedentes familiares (primeiro grau) de transtornos psiquiátricos maiores.

Os dados demográficos dos pacientes com TOC e dos sujeitos-

controle são mostrados na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1 - Dados demográficos dos pacientes com TOC e controles normais

	Pacientes	Controles	Teste estatístico	P
N	19	15		
Idade (DP)	32,7 (8,8)	32,3 (11,8)	0,099 ¹	0,922 ³
Sexo:				
Feminino	9	8	0,118 ²	0,732 ³
Masculino	10	7		
Escolaridade (DP)	11,7 (4,5)	10,4 (8,5)	0,567 ¹	0,575 ³
Lateralidade:				
Destro	17	11		
Canhoto	2	2	2,86 ²	0,240 ³
Ambidestro	0	2		

¹ Valor da distribuição do teste t de Student para comparação de variáveis contínuas.

² Valor da distribuição do teste Qui-quadrado (χ^2) para variáveis categóricas.

³ Significância Estatística.

DP: desvio padrão.

3.1.2 Critérios para inclusão e exclusão das imagens para processamento

Para avaliar a inclusão e exclusão das imagens para o processamento de todos os sujeitos que atenderam os critérios de inclusão clínica, tais imagens foram avaliadas individualmente. Esta avaliação foi feita logo após as mesmas serem convertidas do padrão DICOM para o padrão *Analyze*. Procedeu-se à inspeção visual das imagens verificando a existência de artefatos de movimento, que ocorrem quando o sujeito não fica totalmente imóvel durante o exame de RM, bem como artefatos que possam

ser causados por falhas no aparelho de RM durante a aquisição dos dados. Esta inspeção foi realizada corte a corte, em todos os planos do volume cerebral (axial, coronal e sagital), pelo autor desta tese.

Na análise desta amostra de sujeitos não foi encontrado nenhum tipo de artefato, podendo-se assim incluir todos os sujeitos para o processamento das imagens.

3.2 Avaliação da intensidade dos sintomas nos pacientes com TOC

Na data da realização dos exames de RM estrutural, foi realizada nos pacientes portadores de TOC uma avaliação da gravidade de sintomas psiquiátricos, incluindo as seguintes escalas:

(1) *Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale* (Y-BOCS) (Goodman et al., 1989), para avaliação de gravidade de sintomas obsessivo-compulsivos, em sua tradução para o português (Asbahr et al., 1992).

A escala Y-BOCS foi planejada como solução ao problema de escalas já existentes, pois ela é capaz de fornecer uma medida específica da gravidade dos sintomas do TOC que não é influenciada pelo tipo de obsessões ou compulsões presentes. A escala é de avaliação clínica, com 10 itens; cada item é pontuado de 0 a 4 (total, 0 a 40), com subtotais separados para gravidade de obsessões ou compulsões. Para as análises do presente estudo, foram usados apenas os escores totais da escala Y-BOCS.

(2) *Beck Depression Inventory* (Beck-DEP) (Beck et al., 1961), para avaliação da gravidade de sintomas depressivos.

Este questionário é preenchido pelo próprio paciente, sendo composto de 21 questões, cada uma com pontuação de 0 a 3. A ausência de sintomas é pontuada em zero e é pontuada em 3 se os sintomas forem insuportáveis, podendo-se chegar ao máximo de 63 pontos. Desta forma, avalia-se a visão do paciente sobre sua sintomatologia depressiva, se presente ou não e de sua intensidade. A escala avalia sentimentos de tristeza, esperança, satisfação pessoal, culpa, castigo, desapontamento, incapacitação, ideação suicida, irritabilidade e preocupação com a própria saúde física. Outros comportamentos avaliados são choro, interesse no mundo externo, capacidade para tomar decisões e para o trabalho, auto-estima, padrão de sono, cansaço, apetite, perda de peso e alterações de libido.

(3) *Beck Anxiety Scale* (Beck-Ans) (Beck et al., 1961), para avaliação da gravidade de sintomas ansiosos.

Esta escala também é de auto-avaliação, possuindo 21 questões com os sintomas de ansiedade autonômicos mais comumente encontrados, como dormência ou formigamento, sensações de calor, tremor nas pernas, incapacidade de relaxar, medo de acontecimentos ruins, confusão e pensamentos delirantes, coração batendo rápido e forte, insegurança, sensação de apavoramento, sufocamento, nervosismo, tremor nas mãos, medo de perder o controle, dificuldade de respirar, medo de morrer, sensação de estar assustado, indigestão e desconforto abdominal, presença de desmaios, rubor facial e sudorese não atribuível ao calor. As pontuações para cada questão variam de zero (ausência de sintomas) até 3 (sintoma insuportável), podendo chegar ao máximo de 63 pontos.

(4) *Yale Global Tic Severity Scale* (YGTSS) (Leckman et al., 1989), para avaliação da presença de tiques motores e/ou vocais durante o curso da doença. Esta escala é dividida em duas partes, sendo que a primeira corresponde a um resumo da lista de sintomas do questionário TS-OC (questionário para avaliação da ST e do TOC). O questionário TS-OC contém os sintomas listados em duas outras escalas, a escala Y-BOCS e a escala YGTSS sem as descrições e os exemplos dos diversos tipos de tiques. A segunda parte corresponde à escala de gravidade de tiques da YGTSS, composta por questões sobre número, frequência, intensidade, complexidade, interferência e comprometimento causado pela presença dos tiques motores e vocais, sendo que sua pontuação máxima é 100 (dos quais 25 pontos para tiques motores, 25 para tiques vocais e 50 para comprometimento geral).

Os resultados das escalas aplicadas, bem como dados relativos à história pregressa do transtorno, frequência de comorbidades e dados sobre tratamento medicamentoso são mostrados na Tabela 2 abaixo.

Tabela 2 - Dados clínicos do grupo de pacientes com TOC

Questionário	Pacientes (n=19)
Y-BOCS (DP)	24,6 (7,4)
Beck-DEP (DP)	20,3 (11,0)
Beck-Ans (DP)	16,4 (10,1)
YGTSS ¹ (DP)	12,4 (7,1)
Mínimo	03
Máximo	26
Episódio depressivo atual	07
Duração do TOC (anos) (média)	18,32 (10,6)
Idade de início (anos) (média)	14,4 (9,2)
Comorbidades:	
Transtorno de Pânico	1
Transtorno de Ansiedade	3
Fobia Social	7
Fobia Específica	5
Exposição à medicação:	
Medicados	11
Não medicados	8

¹Escore médio entre os 5 pacientes que apresentaram tiques.

DP: Desvio Padrão.

Y-BOCS (Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale): Escala de gravidade de sintomas obsessivo-compulsivos.

Beck-DEP (Beck Depression Inventory): Escala para avaliação da intensidade de sintomas depressivos.

Beck-Ans (Beck Anxiety Scale): Escala para avaliação da intensidade de sintomas ansiosos.

YGTSS (Yale Global Tic Severity Scale-Escala): para avaliação da presença de tiques motores e/ou vocais durante o curso da doença.

O resultado obtido com a aplicação da escala Y-BOCS mostra que os pacientes com TOC apresentam um grau de gravidade de sintomas médio para alto.

3.3 Aspectos éticos

Na época em que os dados de RM foram coletados, todos os sujeitos convidados a participar do estudo receberam, juntamente a um familiar próximo, informações detalhadas sobre os objetivos do estudo e sobre os procedimentos envolvidos. Também foi assinado um termo de consentimento informado, antes da realização dos exames de RM, em linguagem acessível, que continha informações sobre os procedimentos, tempo de duração dos exames e possíveis riscos. Foi oferecido aos pacientes com TOC, encaminhamento para tratamento farmacológico especializado por profissionais do IPQ-HCFMUSP.

Para a re-análise dos exames de RM estrutural para o presente projeto, o Comitê de ética do HC-FMUSP foi notificado, e o projeto foi aprovado.

3.4 Protocolos utilizados para a aquisição de imagens de RM estrutural

As imagens de RM estrutural foram adquiridas na Divisão de Diagnóstico por Imagem do Instituto do Coração (InCor) do HC-FMUSP, utilizando aparelho de RM Philips Gyroscan S 15 - ACS, 1,5 T (Philips Medical System, Eindhoven, Holanda). Foram adquiridos cortes coronais (espessura de 1,2 mm) ao longo do cérebro inteiro, utilizando sempre o mesmo protocolo padronizado, otimizado para permitir boa diferenciação do sinal entre áreas de substância cinzenta e substância branca. O protocolo consistiu em uma seqüência "3 D/ volume - FFE" ("*fast field echo*"), pesada

em T1¹, com TR² (“*time relaxation*”) de 30 mseg, TE³ (“*time echo*”) de 8,9 mseg e “*flip-angle*”⁴ de 30 graus, matriz de 256 x 256 FOV (“*field of view*”, ou campo de estudo) de 240 mm quadrados (Figura 4). A resolução espacial alcançada foi de 0,94 mm x 0,94 mm x 1,2 mm, com volume de voxels de 1,06 mm cúbicos e sem intervalo entre cortes. Foram adquiridos no total cerca de 140 cortes, com tempo total de aquisição de 25 minutos.

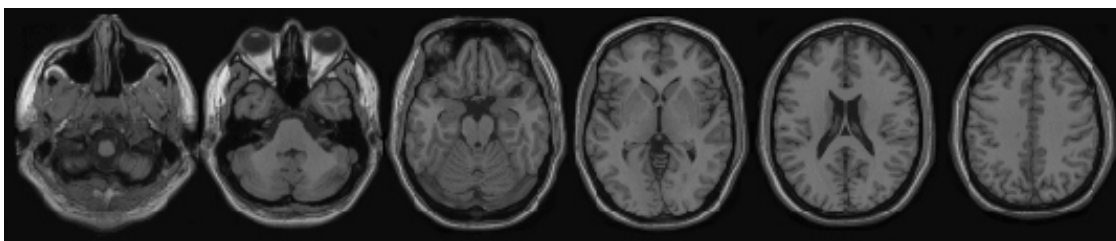


Figura 4. Exemplo de cortes axiais obtidos na seqüência T1.
Fonte: Imagens do próprio estudo.

3.5 Processamentos das imagens

Em todas as etapas de análise quantitativa das imagens e estatística dos dados para este plano de pesquisa, foi utilizado um computador padrão Intel, com sistema operacional Microsoft Windows XP, sendo todos os processos realizados pelo autor deste projeto.

As imagens cerebrais adquiridas originalmente corte-a-corte no

¹ relaxamento T1 corresponde ao processo de dissipação de energia para o ambiente magnético circundante com o retorno dos prótons ao estado de baixa energia, após a estimulação de radiofrequência-RF.

² TR ou tempo de repetição é o tempo em ms desde o início do primeiro pulso de RF a 90 graus, por toda a seqüência de pulsos spin, até ser dado outro pulso de RF a 90 graus para começar novamente todo o processo.

³ TE ou tempo de eco é o período em ms do pulso de RF a 90 graus até que o eco seja recebido.

⁴ *Flip-angle* é o grau de inclinação do vetor de magnetização, acompanhando o pulso de RF desde o eixo longitudinal até o plano transversal, designado como ângulo de inclinação.

padrão DICOM pelo aparelho de RM, foram inicialmente convertidas para o formato *Analyze* (formato padrão utilizado pelo SPM), gerando-se uma matriz volumétrica (x,y,z). Em seguida, os volumes cerebrais foram reorientados um a um em planos paralelos à linha que une as comissuras anterior (CA) e posterior (CP) (Figura 1) e a CA foi definida como ponto de origem para o processo de registro das imagens cerebrais. Isto se deve ao fato de que o volume cerebral utilizado dentro do SPM para o registro das imagens cerebrais, segue o padrão do Atlas Estereotático do Cérebro Humano (Tallarach e Tournoux 1998), que tem seu ponto de origem $x,y,z=(0,0,0)$ definido na CA (Figura 1). Foi realizada então a transformação dos volumes cerebrais de convenção radiológica (lado direito da imagem correspondendo ao hemisfério esquerdo cerebral, e vice-versa) para a neurológica (lado direito da imagem correspondendo ao hemisfério cerebral direito).

Para se realizar o processamento das imagens cerebrais dos pacientes e dos sujeitos-controle, foram utilizados dois métodos de VBM (padrão e otimizado).

3.5.1 VBM padrão

Inicialmente, os volumes cerebrais foram normalizados espacialmente de acordo com uma imagem cerebral molde de RM de modalidade T1, provida no programa SPM, que é baseada numa média de imagens 152 sujeitos saudáveis do *Montreal Neurological Institute* (MNI) (Mazziotta et al., 1995), aproximadas anatomicamente ao espaço definido no Atlas

Estereotáxico do Cérebro Humano (Talairach e Tournoux, 1998). A normalização espacial envolveu, inicialmente, a transformação das imagens usando 12 parâmetros lineares. Em seguida, foram realizadas transformações não lineares (função base $7 \times 9 \times 7$). Estas imagens cerebrais normalizadas foram interpoladas tri-linearmente para um voxel de tamanho final de $2 \times 2 \times 2$ mm³. Após as imagens serem normalizadas espacialmente, elas foram segmentadas em extratos de substância cinzenta, substância branca e líquido céfalo-raquidiano, usando a técnica de análise de bloco (Ashburner e Friston, 2000). Como descrito na introdução desta tese (item 1.2.2.2), este passo usa mapas probabilísticos pré-definidos no SPM, onde cada voxel é classificado de acordo com a probabilidade de sua intensidade. Este processo resulta em imagens que possuem valores de 0 até 1, onde 0 significa 0% e 1 significa 100% da substância naquele voxel específico. O processo da segmentação incluiu a extração do tecido extra cerebral, e um algoritmo de correção da não uniformidade de intensidade da imagem devido à variação de intensidade causada pela posição do crânio no campo magnético. Por fim, as imagens segmentadas foram suavizadas com filtro gaussiano isotrópico de 12 mm. Após estes passos, as imagens do grupo de pacientes com TOC e do grupo controle saudável estavam prontas para as comparações estatísticas. O fluxograma da seqüência de processos realizados no método do VBM padrão está exemplificado na Figura 5.

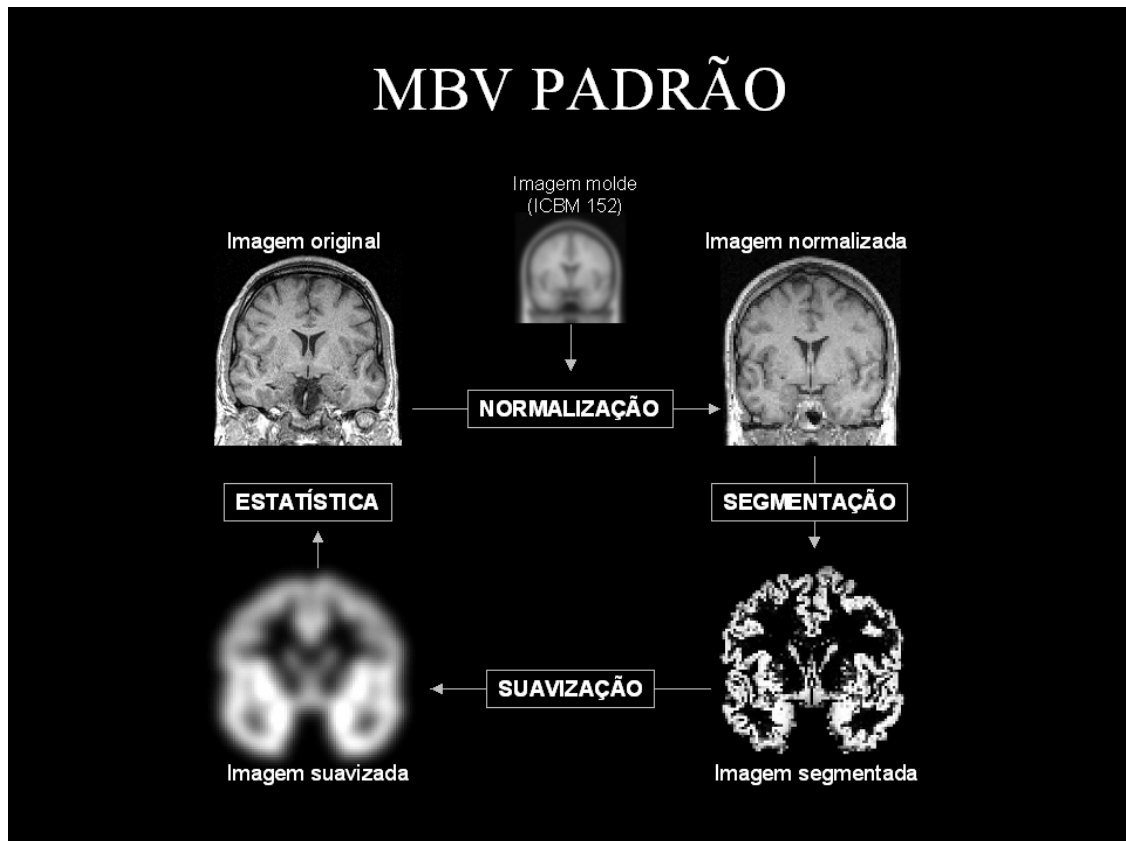


Figura 5.1. Fluxograma da seqüência de processos realizados no método do VBM padrão exemplificado com figuras.

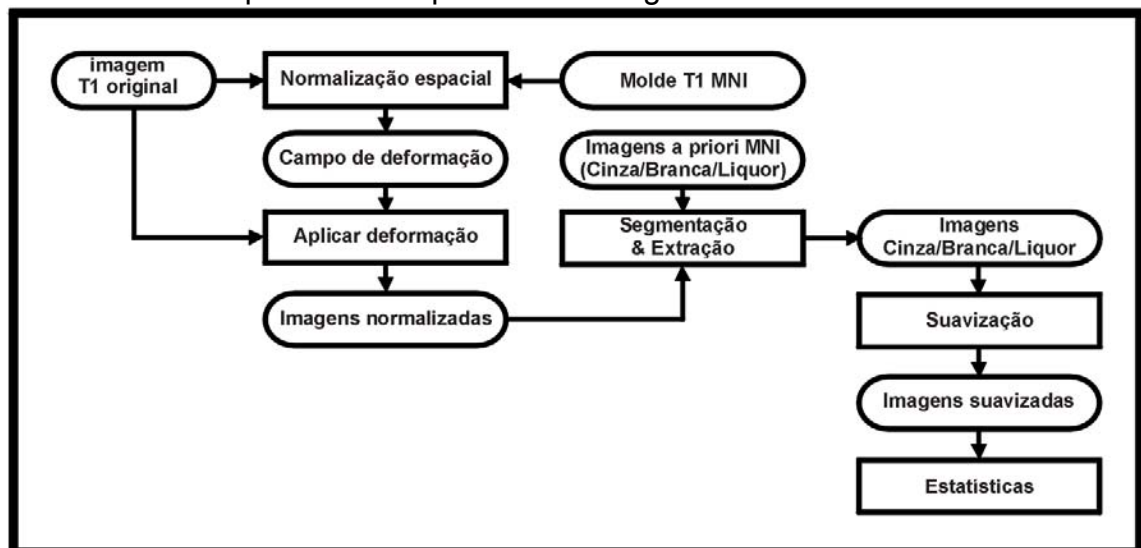


Figura 5.2. Fluxograma da seqüência de processos realizados no método do VBM padrão.

3.5.2 VBM otimizado

Conforme já descrito anteriormente (item 1.2.3), o VBM otimizado consiste em processar as imagens cerebrais a partir de moldes customizados criados usando os sujeitos do próprio estudo, bem como usar recursos de modulação (Good et al., 2001).

Todo o processo do VBM otimizado realizado na presente tese está descrito em detalhe a seguir.

3.5.2.1 Criação dos moldes customizados

No VBM otimizado, primeiramente, criamos moldes customizados especificamente para o estudo, consistindo em quatro imagens médias: uma imagem de modalidade T1; uma imagem de substância cinzenta; uma imagem de substância branca; e, por fim, uma imagem de líquido céfalo-raquidiano. Para a criação destes moldes customizados para a presente tese, foram utilizados todos os indivíduos do estudo.

Inicialmente, as imagens foram normalizadas espacialmente de acordo com a imagem cerebral média de RM estrutural de modalidade T1 do MNI provida no programa do SPM. Nesta etapa, a normalização espacial foi restrita a transformação em 12 parâmetros lineares, a fim de minimizar a deformação na imagem original de cada sujeito. Após a normalização espacial, as imagens foram segmentadas em substância cinzenta, substância branca e líquido céfalo-raquidiano, usando a técnica de análise de bloco e os mapas probabilísticos pré-definidos no SPM. O processo da segmentação incluiu a extração do tecido extra-cerebral e correção para

não-uniformidade de intensidade das imagens. Por fim, essas imagens segmentadas foram suavizadas com filtro Gaussiano isotrópico de 8 mm, que é o tamanho de filtro usado pelo MNI para a construção dos moldes padronizados dentro do programa SPM. Todo o processo de criação das imagens-modelo médias (*templates*) para o próprio estudo está exemplificado na Figura 6.

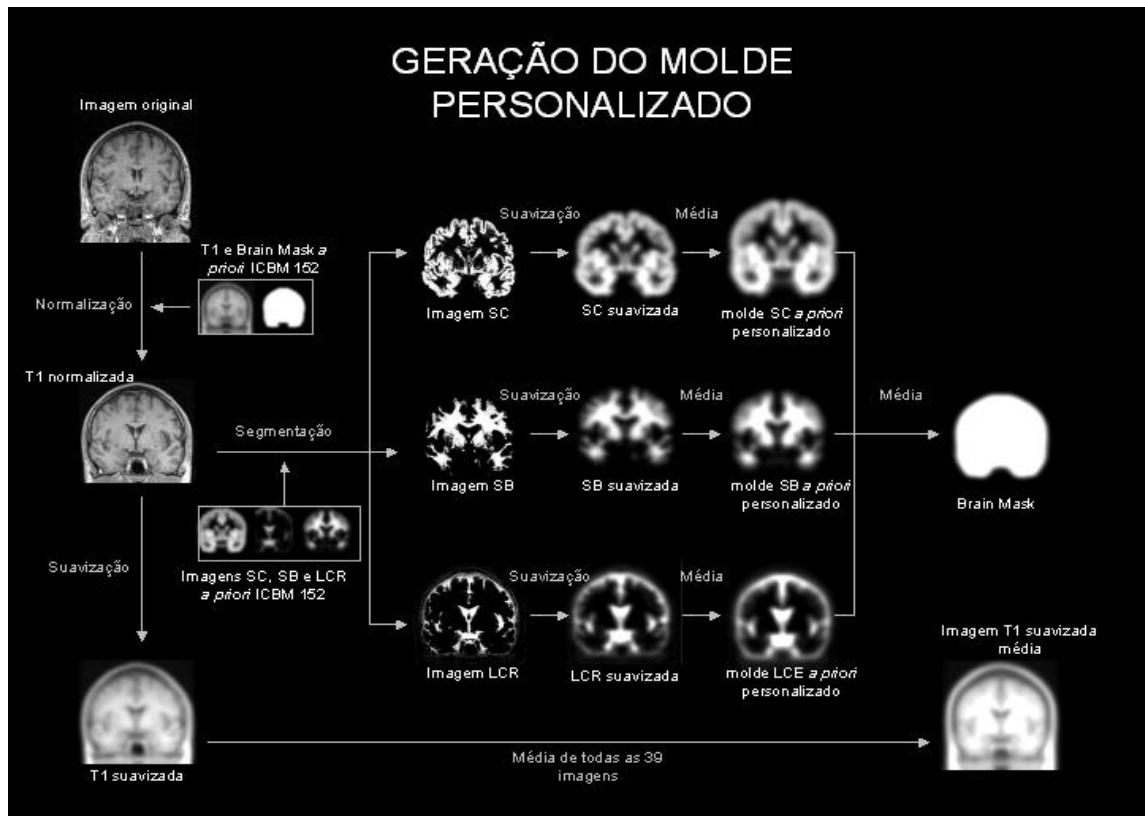


Figura 6.1. Fluxograma da seqüência de processos realizados para a criação dos moldes para o método VBM otimizado exemplificado com figuras.

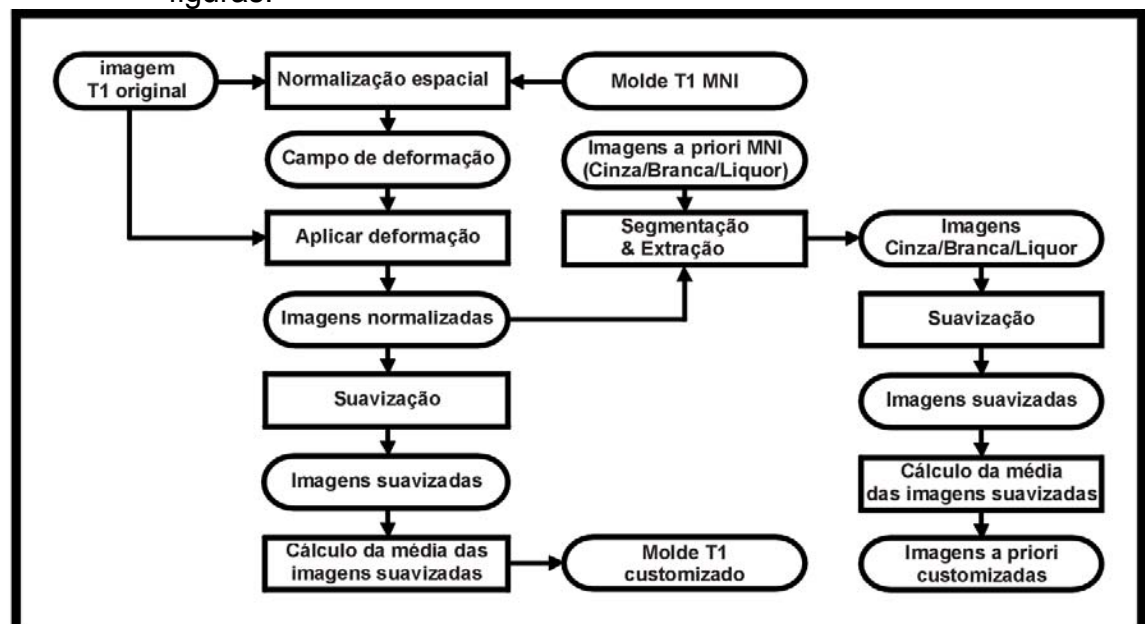


Figura 6.2. Fluxograma da seqüência de processos realizados para a criação dos moldes para o método VBM otimizado.

3.5.2.2 Processamento das imagens originais utilizando os moldes customizados criados para o estudo

Fazendo uso dos moldes customizados criados anteriormente, as imagens originais foram normalizadas espacialmente usando 12 parâmetros lineares e transformações não-lineares (função base $7 \times 9 \times 7$). Estas imagens normalizadas foram interpoladas tri-linearmente para um voxel de tamanho final de $2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$. Feito isto, as imagens foram segmentadas em substância cinzenta, substância branca e líquido céfalo-raquidiano, utilizando as imagens probabilísticas criadas para o próprio estudo. Como a normalização espacial não-linear aumenta o volume de certas regiões cerebrais e diminui outras, as imagens de substância cinzenta, substância branca e líquido céfalo-raquidiano foram novamente processadas, de modo que fossem relativamente preservados os volumes das diferentes regiões cerebrais (Good et al., 2001). Esta etapa foi realizada pela modulação dos valores dos voxels pelo determinante jacobiano derivado da normalização espacial (conforme descrito na seção 1.2.3.1 desta tese). Finalmente, estas imagens foram suavizadas usando um filtro gaussiano isotrópico de 12 mm. Todo o processo do VBM otimizado está exemplificado na Figura 7.

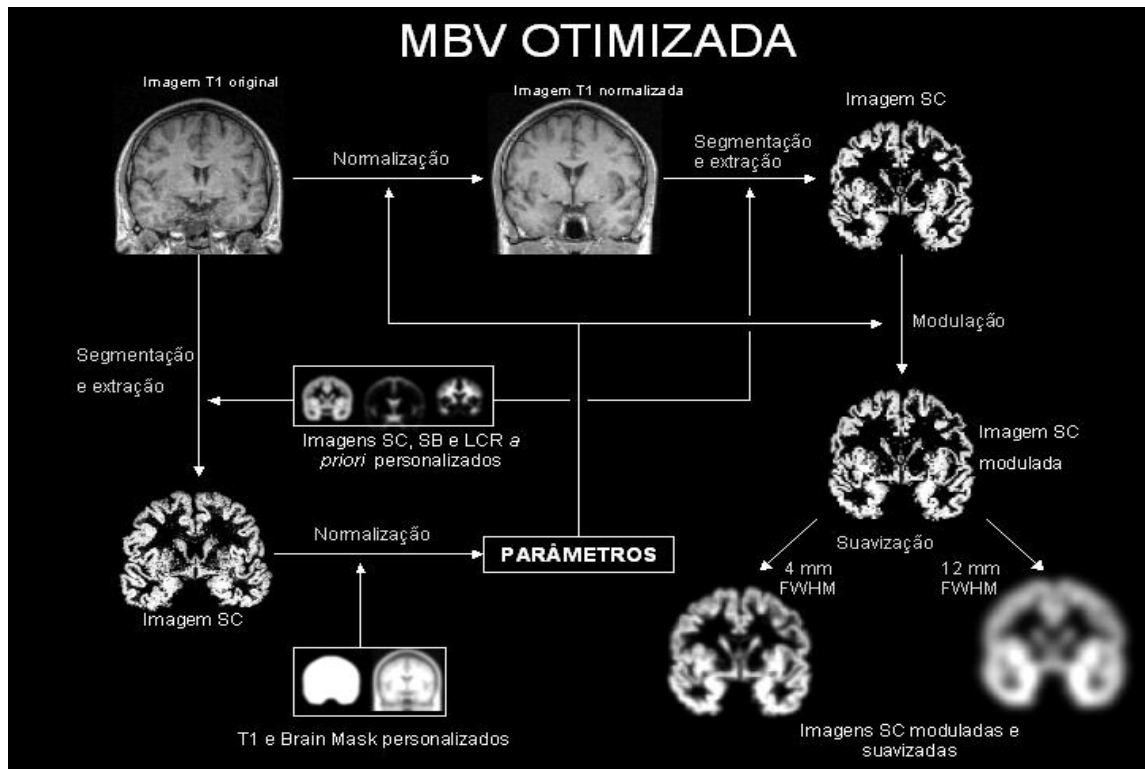


Figura 7.1. Fluxograma de processos realizados no método do VBM otimizado, exemplificados com figuras.

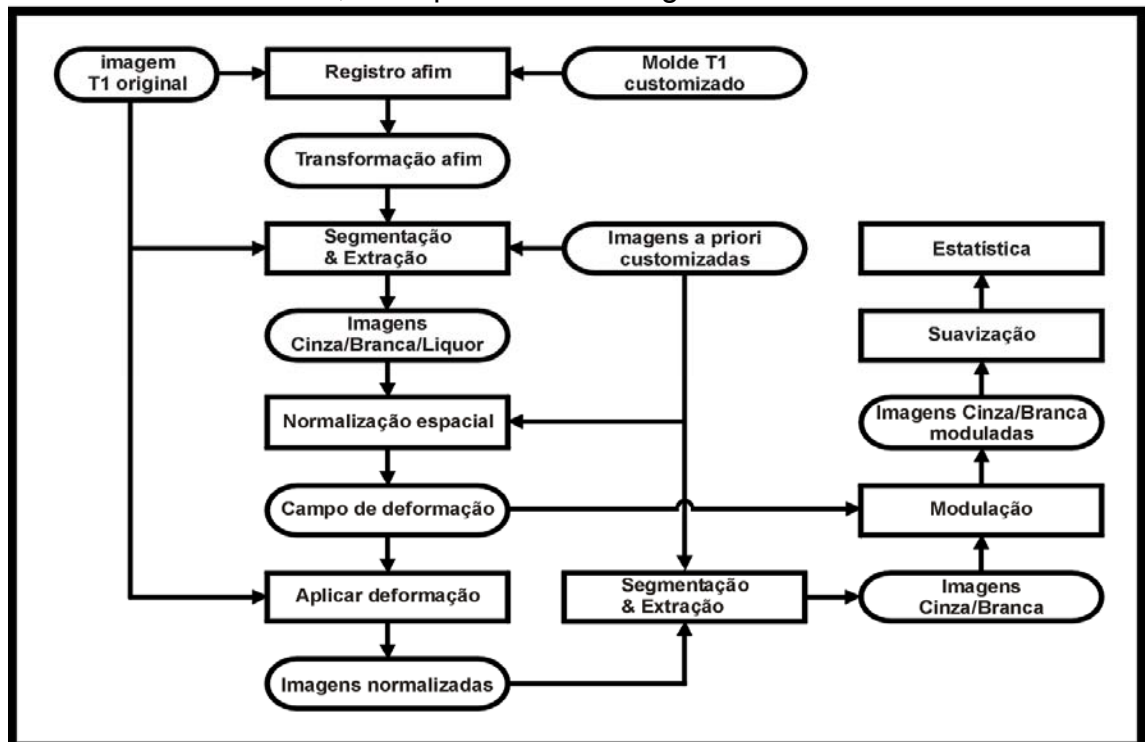


Figura 7.2. Fluxograma de processos realizados no método do VBM otimizado.

3.6 Análise estatística dos dados obtidos com os dois métodos de VBM (convencional e otimizado)

Foram realizadas comparações estatísticas voxel-a-voxel do volume de substância cinzenta no cérebro inteiro entre os dois grupos (pacientes versus sujeitos saudáveis), utilizando o teste t de *Student*. Nesta análise, foram comparados para cada voxel os valores de intensidade de cinza (entre 0 e 1, correspondendo à probabilidade de haver substância cinzenta naquele local, conforme explicado no item 1.2.2.4 desta tese). Estas comparações foram feitas construindo mapas estatísticos mostrando a localização anatômica cerebral dos agrupamentos de voxels (*clusters*), significativamente diferentes entre os dois grupos. O mesmo procedimento estatístico foi usado para comparações entre grupos usando os extratos de substância branca, e finalmente para o compartimento de líquido céfalo-raquidiano.

Além disso, correlações lineares entre o volume de cada compartimento e a gravidade de sintomas (medida através dos escores totais da escala de gravidade de sintomas Y-BOCS), foram investigadas usando índices de correlação linear de Pearson, calculados voxel-a-voxel.

Os mapas estatísticos acima foram criados tanto para as comparações usando o método de VBM convencional, como para o método de VBM otimizado. Para classificação dos achados como significativos, foi utilizado um limiar estatístico de $p < 0,001$ (não corrigido para comparações múltiplas) para as regiões nas quais se previa *a priori* a presença de anormalidades volumétricas no grupo com TOC, quais sejam: córtex órbito-

frontal, núcleo caudado, tálamo, porção anterior do giro do cíngulo e áreas do córtex temporal medial (amígdala, hipocampo e giro parahipocampal). Níveis de significância estatística de $p < 0,001$, não corrigidos para comparações múltiplas, têm sido usados em análises prévias no SPM em dados de imagens funcionais e estruturais (Friston et al., 1995; Wright et al., 1995, 1999; Liotti et al., 2000; Saxena et al., 2001; Moorhead et al., 2004; Gimenez et al., 2006) e são considerados adequados para fornecer proteção contra resultados falso positivos (Erro Tipo I) quando há hipóteses claras quanto à localização dos achados.

Já para classificar como significativos os achados em regiões para as quais anormalidades no grupo de pacientes com TOC não eram previstas *a priori* (sem risco aumentado de Erro Tipo I), foi utilizado um valor de $p \leq 0,05$ (corrigido para comparações múltiplas) ao nível dos voxels individualmente (*family-wise error correction* - FWE) ao longo de todo o volume cerebral (Friston et al., 1996).

Para classificação dos achados de substância branca como significativos, foi utilizado o mesmo limiar estatístico usado anteriormente para o compartimento de substância cinzenta de $p < 0,001$ (não corrigido para comparações múltiplas) para as regiões cerebrais nas quais se previa *a priori* a presença de anormalidades volumétricas no grupo com TOC, quais sejam: cápsula interna (bilateral) e corona radiata (bilateral). Para as demais regiões ao longo do cérebro inteiro nas quais não se previa *a priori* a presença de anormalidades volumétricas no grupo com TOC, foi utilizado um

limiar estatístico de $p_{FWE} \leq 0,05$ (corrigido para comparações múltiplas) a fim de se eliminar o Erro Tipo I (falso positivo).

O mesmo padrão estatístico também foi usado para avaliar os achados em ventrículos laterais.

Em todas as análises estatísticas acima, foi usada como co-variável a quantidade total de substância cinzenta cerebral de cada sujeito (para as comparações dos volumes de substância cinzenta entre grupos), e a quantidade total de substância branca e líquido nas comparações entre grupos destes dois tipos de compartimento cerebral. As medidas totais de substância cinzenta, branca e líquido em todos os casos foram obtidas utilizando um programa destinado a extrair a quantidade de voxels classificados como pertencentes àquele compartimento (substância cinzenta, substância branca ou líquido) na imagem cerebral que foi normalizada, segmentada e suavizada.

A fim de avaliar a sensibilidade dos métodos de VBM padrão e otimizado para a detecção de alterações significativas em cada substância, foram comparados os resultados obtidos com os métodos do VBM padrão e do VBM otimizado em termos de: número total de voxels incluídos nos *clusters* significativos localizados em áreas sub-corticais; e intensidade no voxel do pico de maior significância estatística em cada *cluster* de diferença entre grupos.

3.7 Análise do volume dos ventrículos e de núcleos subcorticais usando ROIs

Dados preliminares usando um rastreamento rudimentar no banco de dados de RM usado nesta tese (Valente et al., 2005) sugeriram a presença de alteração de dilatação ventricular na amostra de pacientes com TOC comparados aos controles saudáveis.

A fim de confirmar estas alterações, as imagens de todos os sujeitos foram utilizadas no presente projeto para desenhar ROIs sobre os ventrículos laterais, através do programa MRICro, versão 1.4 *Build 1* (<http://www.sph.sc.edu/comd/rorden/mricro.html>). Com o objetivo de melhorar a precisão das ROIs desenhadas, foi utilizado monitor de alta definição de 19 polegadas e um *mouse* especial para processamento de imagens.

Estas ROIs foram sobrepostas aos ventrículos laterais de cada sujeito em diversos cortes contíguos, e a média das áreas em cada corte foram somadas para a obtenção do volume de cada ventrículo. Além disso, nos mesmos cortes cerebrais, foram obtidas medidas de volume cerebral total, as quais foram usadas como denominador nos índices do volume relativo das ROIs ventriculares em cada sujeito.

Além disso, foram desenhadas ROIs em estruturas de substância cinzenta adjacentes aos ventrículos laterais, quais sejam: núcleo caudado, putâmen e tálamo, todas estas desenhadas em ambos os hemisférios. A fim de evitar qualquer tipo de viés, o delineador permaneceu cego quanto à

classificação dos sujeitos (ou seja, não se sabia qual o nome do sujeito nem a que grupo pertencia cada imagem).

Foram desenhadas somente as ROIs sobre estas estruturas cerebrais por estarem elas localizadas em adjacência aos ventrículos laterais, pois a finalidade principal do estudo foi a de avaliar a influência artefactual da dilatação ventricular sobre as medidas do volume destas estruturas vizinhas obtidas usando o programa SPM.

Para investigar a confiabilidade do estudo, as mesmas medidas foram obtidas por outro avaliador mais experiente em desenhar ROIs nas estruturas dos gânglios da base, utilizando uma pequena amostra de 10 sujeitos do presente estudo. Este segundo avaliador permaneceu cego quanto ao grupo ao qual pertenciam tais imagens, e mediu as mesmas estruturas avaliadas pelo primeiro avaliador. A confiabilidade entre as medidas dos dois avaliadores foi avaliada usando o coeficiente de correlação intra-classe (*intraclass correlation coefficient* - ICC). O ICC é usado para medir a fidedignidade entre dois avaliadores, sendo que os valores do resultado do teste variam entre 0 (ausência de concordância) e 1 (concordância completa). Para a confiabilidade de dados de neuroimagem, quando o seu resultado é $\geq 0,75$, o valor de ICC é considerado excelente (Dancey e Reidy, 2006).

3.7.1. Delineamento manual das regiões de interesse

3.7.1.1 Núcleo Caudado

No corte em que a comissura anterior foi melhor visualizada, desenhou-se uma linha horizontal logo abaixo dos ventrículos laterais para servir como o limite inferior, a fim de excluir a presença do núcleo *accumbens* na medida. O delineamento foi iniciado no corte mais anterior em que foi identificado o núcleo caudado, lateral ao ventrículo lateral, e prosseguiu em todos os cortes (1,2mm para cada corte) até a parte posterior, tendo a cápsula interna como limite medial. O limite posterior foi até o primeiro corte no qual foi possível a visualização da ponte (Brambilla et al., 2001).

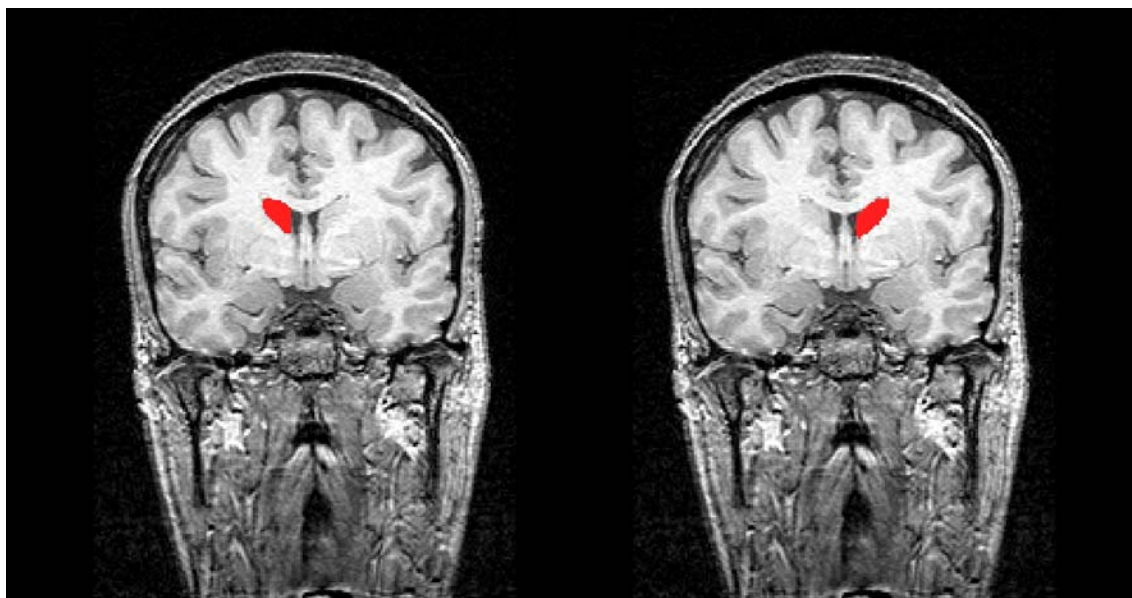


Figura 8. Ilustração da delimitação dos núcleos caudados (direito e esquerdo).

Fonte: Imagens do próprio estudo.

3.7.1.2. Putâmen

O delineamento do putâmen foi iniciado no primeiro corte mais anterior em que esta estrutura foi visualizada, lateralmente ao núcleo caudado. O contorno do putâmen foi desenhado em toda a sua extensão, para cada corte de 1,2mm, até o ponto em que não era mais possível sua visualização ao lado da *corona radiata*. O limite superior foi a borda da *corona radiata*, o limite medial foi a cápsula interna e o limite lateral, a cápsula externa (Brambilla et al., 2001).

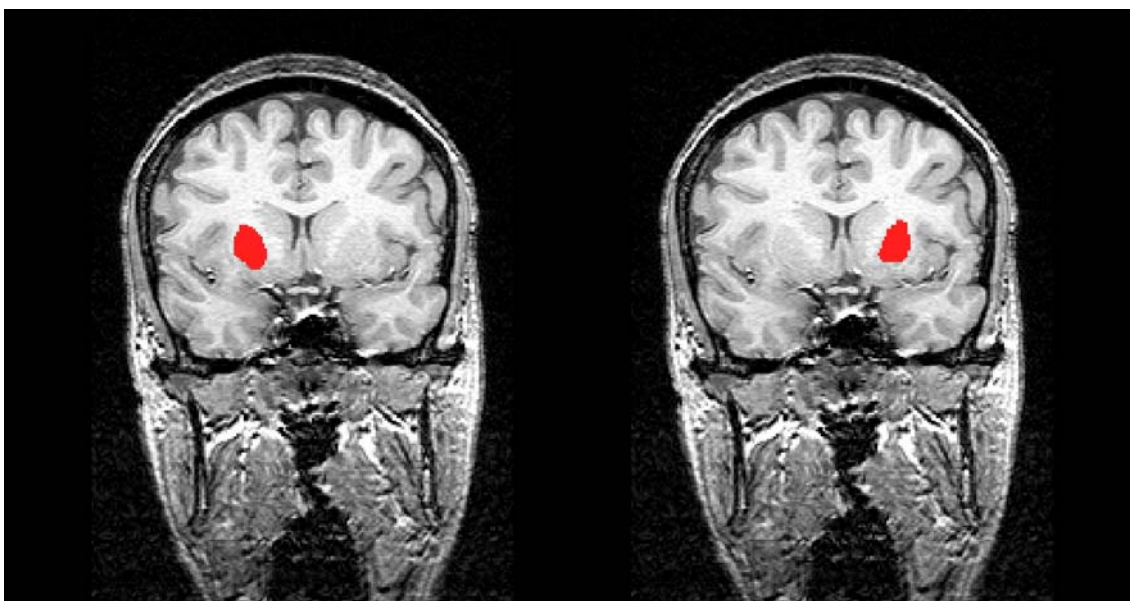


Figura 9. Ilustração da delimitação do putâmen (direito e esquerdo).
Fonte: Imagens do próprio estudo.

3.7.1.3. Tálamo

O delineamento do tálamo começou no corte mais anterior em que a ponte foi visualizada, e prosseguiu corte-a-corte em direção à parte posterior do cérebro, até o plano onde o tálamo não podia mais ser distinguido das estruturas adjacentes (geralmente onde surge a cruz do fórnice). Os contornos foram desenhados em todos os cortes. Os limites superiores foram os ventrículos laterais, o limite inferior foi a substância negra, o limite lateral foi a cápsula interna, e o terceiro ventrículo foi usado como limite medial do tálamo (Caetano et al., 2001).

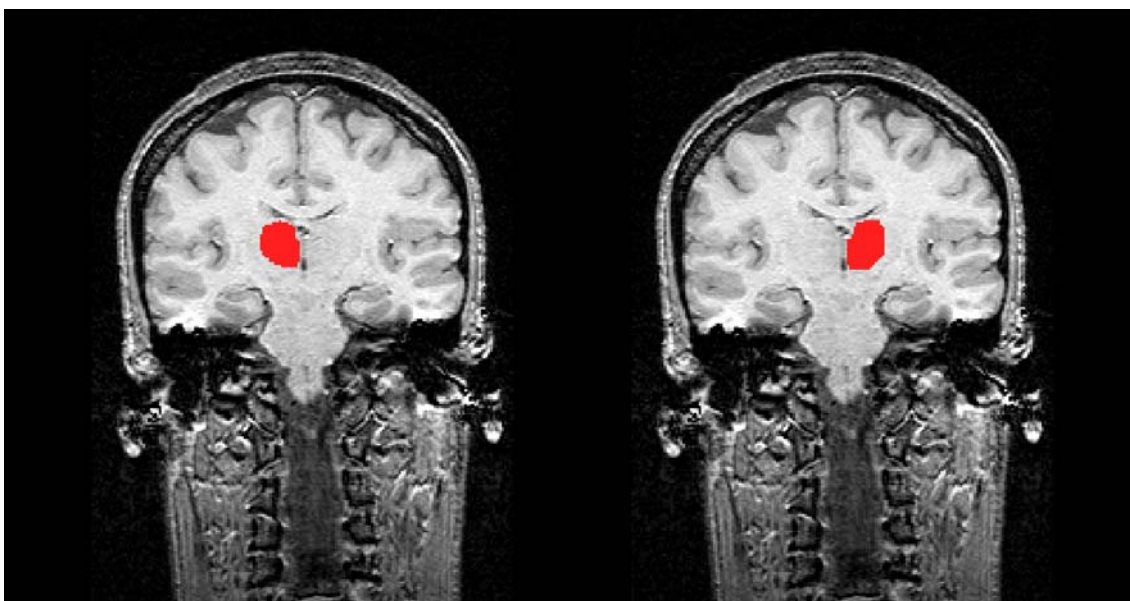


Figura 10. Ilustração da delimitação dos tálamos (direito e esquerdo).
Fonte: Imagens do próprio estudo.

3.7.1.4. Ventrículos Laterais

Vários estudos descrevem diferentes maneiras de se quantificar os ventrículos laterais (Buchsbaum et al.,1997; Silverman et al., 1998; Davis et al.,1998; Hauser et al., 2000; Kurokawa et al., 2000; Mathalon et al.,2001; Yotsutsuji et al., 2003). Para o delineamento dos ventrículos laterais na presente tese, procedeu-se como segue: o corte coronal onde era melhor visualizada a comissura anterior foi definido como origem; a partir deste corte, foram desenhados os contornos dos ventrículos em três cortes frontais e em mais sete cortes posteriores com intervalos de 6mm entre si; o total foi de onze cortes, que tiveram seus volumes somados.

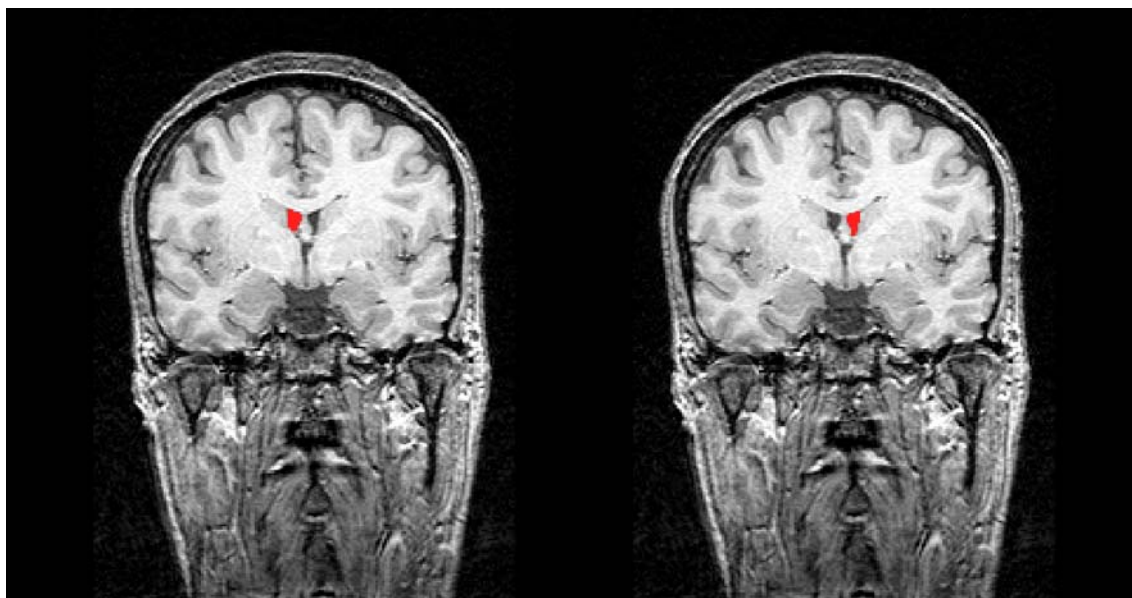


Figura 11. Ilustração da delimitação dos ventrículos laterais (direito e esquerdo).

Fonte: Imagens do próprio estudo.

3.7.1.5 Volume cerebral total

Para obtermos uma estimativa do volume cerebral total de todos os sujeitos, foram desenhadas ROIs nos mesmo cortes em que foram desenhados as ROIs dos ventrículos laterais, com espaçamento de 6mm entre cada corte, em toda a área onde era possível visualizar o volume cerebral. Os resultados dos volumes de cada corte foram somados para se obter uma estimativa do volume cerebral total.

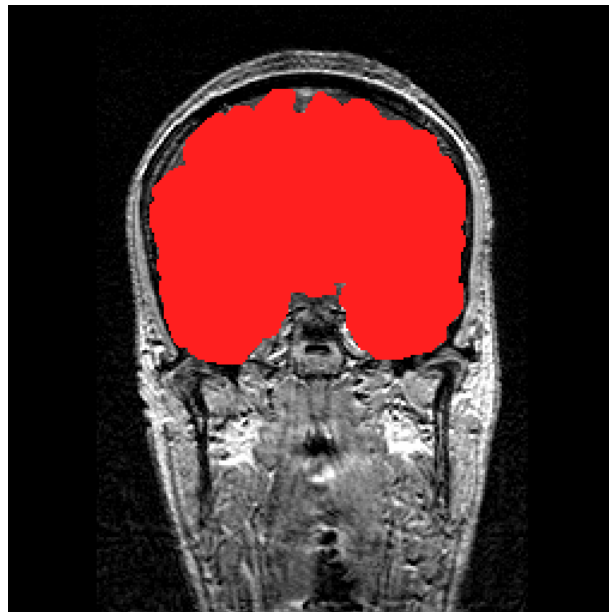


Figura 12. Ilustração da delimitação do volume cerebral.
Fonte: Imagens do próprio estudo.

3.7.2 Análise estatística dos dados obtidos com ROIs

Através do programa SPSS versão 7.5.3 e usando o teste não paramétrico de Mann-Whitney, foram comparados os volumes dos ventrículos laterais, gânglios da base e tálamo entre pacientes com TOC e controles saudáveis, e calculados índices de correlação de Spearman entre o volume de cada uma destas estruturas e a intensidade de sintomas avaliados pela escala Y-BOCS.

4. Resultados

4.1. Resultados obtidos no processamento automático usando o método de VBM

4.1.1 Substância cinzenta

Todos os achados relativos ao compartimento de substância cinzenta no grupo de pacientes com TOC avaliados nos níveis de inferência estatística usados para aferir a significância dos resultados nesta tese (descritos na seção de Métodos), estão mostrados na Tabela 3. Já a listagem completa dos focos evidenciados nos mapas produzidos com resultados no nível de significância de $p < 0,001$ (sem hipóteses *a priori* ou correção para comparações múltiplas), é fornecida no Anexo (Tabelas A.1 a A.4).

4.1.1.1 Achados em regiões nas quais anormalidades volumétricas foram previstas *a priori*

Os mapas estatísticos investigando a presença de diferenças significativas do volume de substância cinzenta entre o grupo de pacientes com TOC e o grupo controle mostrou uma única área de diminuição de volume no grupo com TOC envolvendo região cerebral na qual alterações haviam sido previstas *a priori*, qual seja a porção anterior do giro do cíngulo (Figura 13), bem como aumento de volume em áreas órbito-frontais e giro

parahipocampal, quando foi usado o método de VBM otimizado (Figura 14). Já na análise usando o VBM padrão, o único achado envolvendo regiões cerebrais nas quais anormalidades haviam sido previstas *a priori* foi o de aumento de substância cinzenta bilateral nos pacientes com TOC no giro parahipocampal (Figura 14), com número total de voxels e pico de significância estatística equiparáveis aos valores obtidos com o método de VBM otimizado. Estes resultados são descritos na Tabela 3.1. Tal padrão de resultados indicou que o método de VBM otimizado foi mais sensível do que o VBM padrão para identificar alterações volumétricas cerebrais em regiões previamente implicadas na fisiopatologia do TOC.

A análise estatística de correlações positivas entre a gravidade dos sintomas no grupo com TOC e o volume de substância cinzenta não mostrou nenhum achado em regiões cerebrais nas quais se previa *a priori* a presença de anormalidades volumétricas no grupo com TOC, tanto quando se usou o VBM padrão quanto com o VBM otimizado.

Quando se pesquisou a presença de correlações negativas entre a gravidade dos sintomas no grupo com TOC e volumes de substância cinzenta, o uso do VBM padrão mostrou um *cluster* extenso de correlação significativa envolvendo áreas subcorticais, incluindo o tálamo bilateralmente e regiões límbicas (hipocampo esquerdo e o giro parahipocampal bilateralmente), núcleo caudado, putâmen e giro do cíngulo (Tabela 3.2). No entanto, este *cluster* invadiu consideravelmente o ventrículo lateral, expandindo-se para o terceiro ventrículo e o corpo caloso, com 4587 voxels (escore $Z=4.97$, $p<0,001$ não corrigido para comparações múltiplas) (Figura

15). Este achado indicou fortemente a possibilidade de que a presença de dilatação ventricular numa parcela dos sujeitos no grupo com TOC, poderia levar a artefatos no cálculo estatístico envolvendo os extratos de substância cinzenta. A correlação negativa utilizando o VBM otimizado mostrou um *cluster* na mesma região sub-cortical invadindo áreas ventriculares, mas com apenas 254 voxels ($Z=4,87$, $p<0,001$ não corrigido para comparações múltiplas) (Figura 15). Diferentemente dos achados obtidos com o VBM padrão, as únicas áreas de substância cinzenta identificada neste *cluster* foram o cíngulo posterior e as adjacências do tálamo medial esquerdo (Tabela 3.1).

4.1.1.2 Achados em regiões nas quais anormalidades volumétricas não foram previstas *a priori*

Seguindo o limiar estatístico de $p_{FWE}\leq 0,05$ (corrigido para comparações múltiplas ao nível do voxel para o cérebro inteiro), foram encontradas alterações volumétricas na comparação de pacientes com TOC versus controles, indicadas pela presença de um foco de redução de volume de substância cinzenta no lobo parietal direito (giro supramarginal e giro angular) com 354 voxels ($Z=4,73$) quando a análise foi realizada usando o VBM otimizado, e com 944 voxels ($Z=4,98$) quando foi usado o VBM padrão, conforme as Tabela 3.1 e Tabela 3.2 consecutivamente.

Analisando as correlações entre gravidade de sintomas e o volume de substância cinzenta em regiões nas quais não se previa *a priori* a presença de achados volumétricos no grupo com TOC, não foi encontrada nenhuma

relação significativa no limiar estatístico de $p_{FWE} \leq 0,05$ (corrigido para comparações múltiplas) ao nível do voxel para o cérebro inteiro.

Tabela 3.1- Achados significantes das análises de substância cinzenta usando o método de VBM otimizado

Estrutura cerebral ¹	Direção	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ score	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido
			x	y	z			
Comparação entre Pacientes com TOC (n=19) e Controles saudáveis (n=15)								
Achado em regiões preditas <i>a priori</i>								
Giro do cíngulo anterior esquerdo, avançando em direção aos giros frontais medial e superior (BA 09/32)	Redução	39	-18	38	22	3,82	<0,001	0,756
Córtex orbitofrontal posterior e ínsula anterior esquerdos (BA 13/47)	Aumento	237	-26	27	-3	4,75	<0,001	0,049
Giro parahipocampal e uncus esquerdos (BA 20/28/35/36)	Aumento	363	-26	-22	-16	4,33	<0,001	0,223
Giros parahipocampal e fusiforme direitos (BA 36)	Aumento	28	40	-34	-12	3,46	<0,001	0,983
Achado em regiões não preditas <i>a priori</i>								
Giros supramarginal e angular direitos (BA 39/40)	Redução	354	44	-50	45	4,73	<0,001	0,052
Correlação do volume de substância cinzenta nos pacientes com TOC com os escores da escala Y-BOCS para avaliação da gravidade de sintomas obsessivo-compulsivos								
Achado em regiões preditas <i>a priori</i>								
Adjacências do tálamo dorso medial e cíngulo posterior esquerdos, invadindo o ventrículo lateral	Inversa	254	-12	-22	25	3,76	<0,001	0,938

¹ Os números entre parênteses correspondem à Área de Brodmann (*Brodmann areas*, BA).

² Número de voxels contíguos que ultrapassaram o limiar inicial de $p < 0,001$ (não corrigido) nos mapas estatísticos.

³ Coordenadas do Atlas Estereotático do Cérebro Humano (Talairach e Tournoux, 1988) do voxel de máxima significância estatística dentro de cada *cluster*.

⁴ Valor do Escore Z para o voxel de maior significância estatística dentro do *cluster*.

⁵ Significância estatística sem correção para comparações múltiplas.

⁶ Significância estatística depois de correção para comparações múltiplas; inferências foram realizadas ao nível dos voxels individualmente (*family-wise error correction*, FWE) (Friston et al., 1996).

Tabela 3.2- Achados significantes das análises de substância cinzenta usando o método de VBM padrão

Estrutura cerebral ¹	Direção	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ escore	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido
			x	y	z			
Comparação entre Pacientes com TOC (n=19) e Controles saudáveis (n=15)								
Achados em regiões preditas <i>a priori</i>								
Giro parahipocampal esquerdo, avançando em direção aos giros temporais inferior e médio e uncus (BA 20/36)	Aumento	225	-32	-7	-32	4,89	<0,001	0,034
Giro parahipocampal e fusiforme direitos (BA 20)	Aumento	23	38	-15	-23	3,36	<0,001	0,958
Achado em regiões não preditas <i>a priori</i>								
Giro angular; giro supramarginal; córtex parietal inferior e superior, giros temporais médio e superior (BA 39/40)	Redução	944	-50	-48	45	4,98	<0,001	0,024
Correlação do volume de substância cinzenta nos pacientes com TOC com os escores da escala Y-BOCS para avaliação da gravidade de sintomas obsessivo-compulsivos								
Achado em regiões preditas <i>a priori</i>								
Tálamo bilateral; núcleo caudado bilateral; giro do cíngulo bilateral; hipocampo bilateral; giro fusiforme esquerdo; putâmen esquerdo; giro lingual esquerdo; giro parahipocampal esquerdo; cíngulo posterior esquerdo; e culmen cerebelar esquerdo (BA 19/20/27/29/30/36/37), com extensa invasão de: fórnix; terceiro ventrículo; corpo caloso bilateral; ventrículo lateral bilateral; e terceiro ventrículo bilateral.	Inversa	4587	-6	-9	21	4,97	<0,001	0,054

¹ Os números entre parênteses correspondem à Área de Brodmann (*Brodman areas*, BA).

² Número de voxels contíguos que ultrapassaram o limiar inicial de $p < 0,001$ (não corrigido) nos mapas estatísticos.

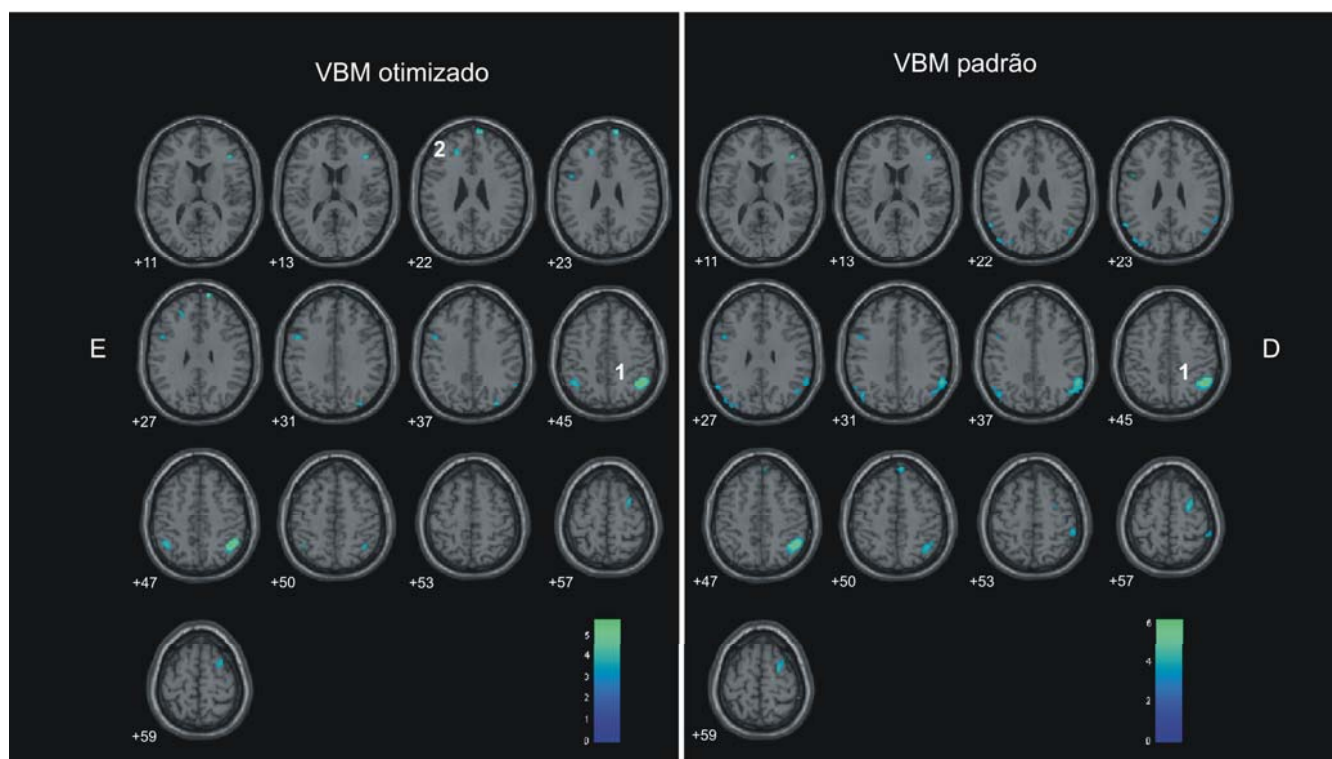
³ Coordenadas do Atlas Estereotáxico do Cérebro Humano (Talairach e Tournoux, 1988) do voxel de máxima significância estatística dentro de cada *cluster*.

⁴ Valor do Escore Z para o voxel de maior significância estatística dentro do *cluster*.

⁵ Significância estatística sem correção para comparações múltiplas.

⁶ Significância estatística depois de correção para comparações múltiplas; inferências foram realizadas ao nível dos voxels individualmente (*family-wise error correction*, FWE) (Friston et al., 1996).

Figura 13: Regiões cerebrais onde foram encontrados focos de diminuição de volume de substância cinzenta, com significância estatística no nível de $p < 0.001$ ($Z > 3.09$) em 19 pacientes com transtorno obsessivo-compulsivo (TOC) em comparação com 15 controles saudáveis.

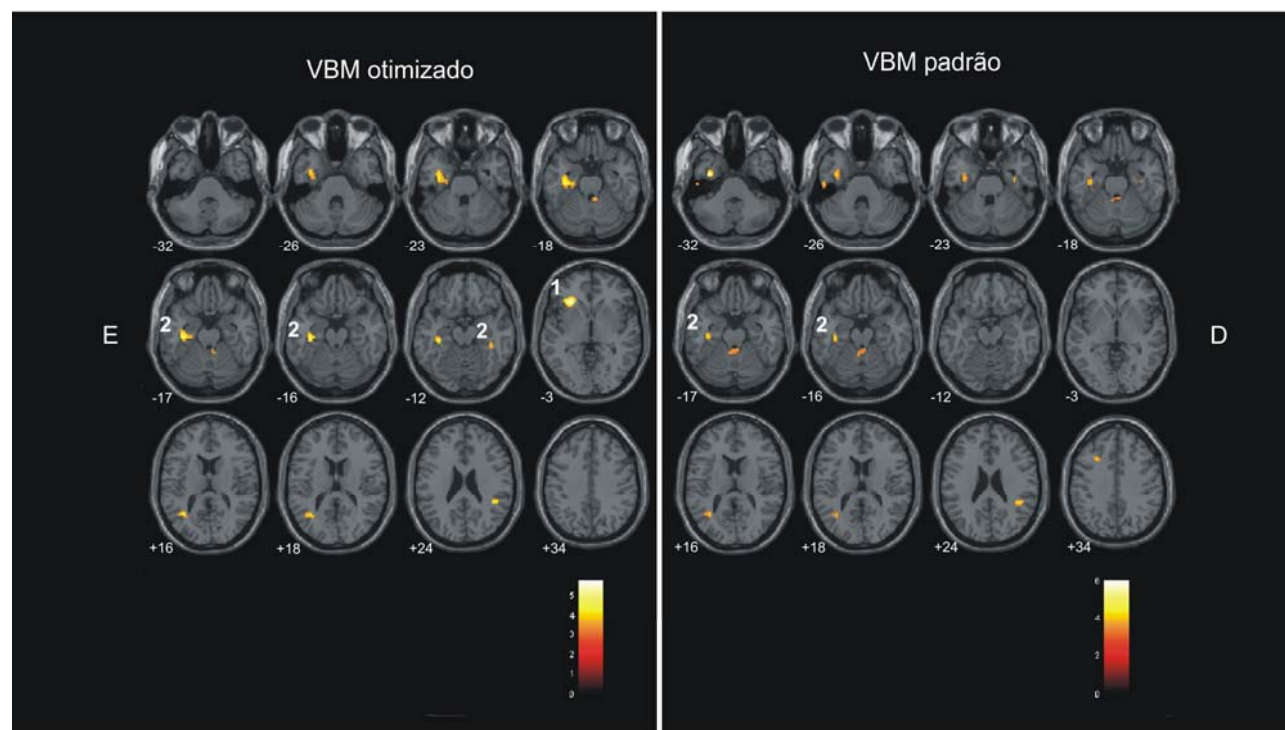


Focos de significância estatística visualizados sobre cortes axiais cerebrais normalizados espacialmente para o Atlas Estereotático do Cérebro Humano (Talairach e Tournoux, 1988). Os números associados a cada corte do cérebro correspondem à coordenada do eixo Z do referido Atlas. A escala corresponde ao valor do escore Z de pico de maior significância estatística.

(i) Resultados obtidos usando o método VBM otimizado. - (ii) Resultados obtidos com o método VBM padrão.

Apenas na análise com o VBM otimizado foi identificado um achado em regiões cerebrais nas quais se previa *a priori* anormalidades nos pacientes com TOC, qual seja o giro do cíngulo anterior (indicado na figura com o número 2). Na análise estatística referente a outras regiões cerebrais com ambos os métodos de VBM, o único achado que sobreviveu a correção para comparações múltiplas foi localizado na região do giro supramarginal e angular direitos, indicado na figura com o número (1).

Figura 14: Regiões cerebrais onde foram encontrados focos de aumento de volume de substância cinzenta, com significância estatística no nível de $p < 0.001$ ($Z > 3.09$) em 19 pacientes com transtorno obsessivo-compulsivo (TOC) em comparação com 15 controles saudáveis.

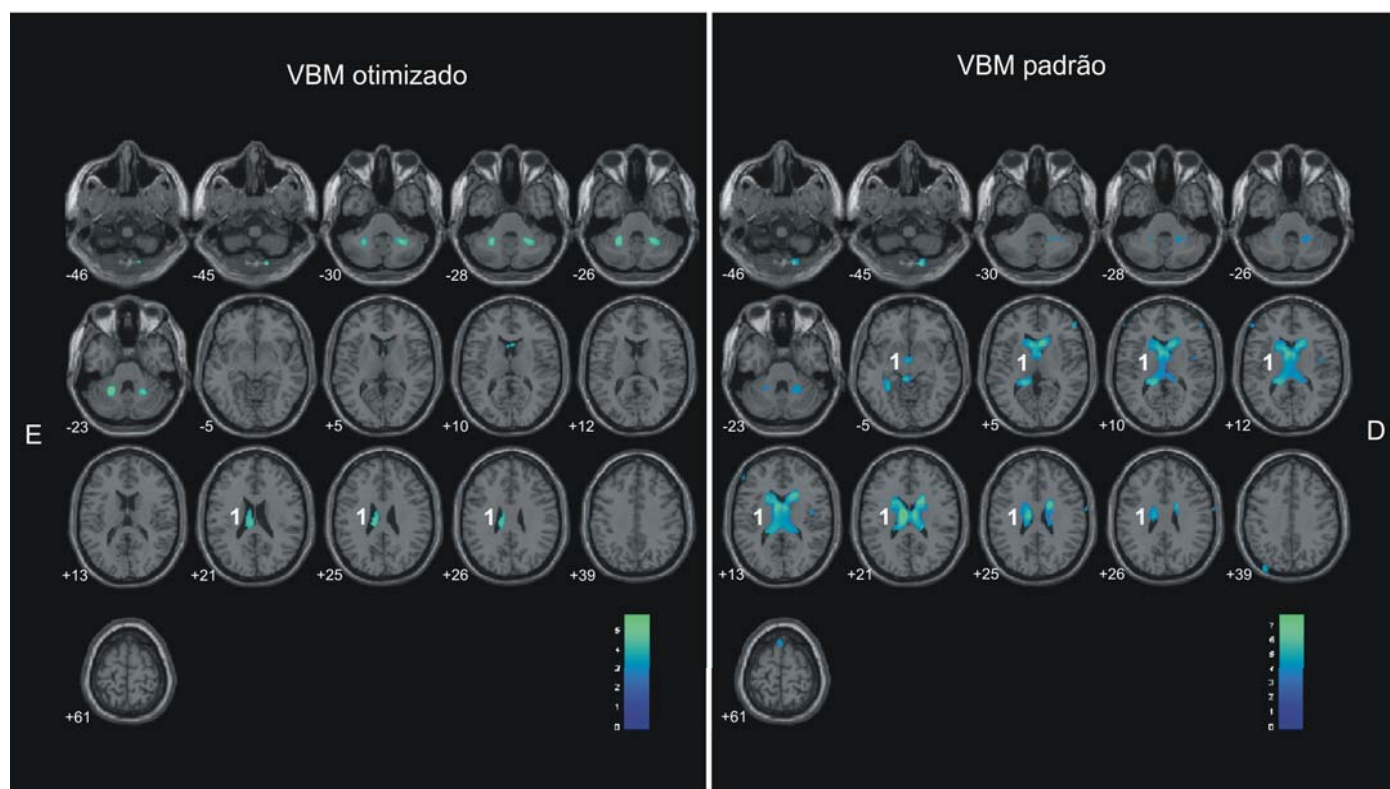


Focos de significância estatística visualizados sobre cortes axiais cerebrais normalizados espacialmente para o Atlas Estereotático do Cérebro Humano (Talairach e Tournoux, 1988). Os números associados a cada corte do cérebro correspondem à coordenada do eixo Z do referido Atlas. A escala corresponde ao valor do escore Z de pico de maior significância estatística.

(i) Resultados obtidos usando o método VBM otimizado. - (ii) Resultados obtidos com o método VBM padrão.

Na análise estatística com o VBM otimizado, a figura mostra achados em algumas regiões cerebrais nas quais se previa *a priori* anormalidades nos pacientes com TOC, incluindo o córtex órbito-frontal posterior (indicado na figura com o número 1) e o giro parahipocampal bilateral (indicado na figura com o número 2). Já no VBM padrão, foram identificados focos de aumento de substância cinzenta apenas na região do giro parahipocampal bilateralmente (indicados com o número 2). A figura mostra outros focos de diferença entre os grupos em regiões não previstas, mas nenhum destes focos atingiu significância estatística após correção para comparações múltiplas.

Figura 15: Regiões cerebrais onde foram encontradas correlações negativas significativas entre a gravidade dos sintomas no grupo com TOC (N=19) e o volume de substância cinzenta, com significância estatística no nível de $p < 0.001$ ($Z > 3.09$)



Focos de significância estatística visualizados sobre cortes axiais cerebrais normalizados espacialmente para o Atlas Estereotático do Cérebro Humano (Talairach e Tournoux, 1988). Os números associados a cada corte do cérebro correspondem à coordenada do eixo Z do referido Atlas. A escala corresponde ao valor do escore Z de pico de maior significância estatística.

(i) Resultados obtidos usando o método VBM otimizado. - (ii) Resultados obtidos com o método VBM padrão.

Na análise com o VBM otimizado, nota-se um *cluster* (indicado com o número 1) envolvendo o tálamo medial e o giro do cíngulo posterior esquerdos, na adjacência do ventrículo lateral. Já na análise com o VBM padrão, o mesmo *cluster* se mostra muito mais amplo, invadindo toda a extensão dos ventrículos laterais bilateralmente.

4.1.2 Substância branca

Todos os achados relativos ao compartimento de substância branca no grupo de pacientes com TOC avaliados nos níveis de inferência estatística usados para aferir a significância dos resultados nesta tese (descritos na seção de Métodos), estão mostrados na Tabela 4. Já a listagem completa dos focos evidenciados nos mapas produzidos com resultados no nível de significância de $p < 0,001$ (sem hipóteses *a priori* ou correção para comparações múltiplas), é fornecida no Anexo (Tabelas A.5 a A.8).

4.1.2.1 Achados em regiões nas quais anormalidades volumétricas foram previstas *a priori*

Os mapas estatísticos investigando a presença de alterações regionais de volume de substância branca no grupo de pacientes com TOC em comparação com o grupo de sujeitos controle não mostrou nenhuma diferença entre os grupos envolvendo as regiões cerebrais nas quais se previa *a priori* a presença de anormalidades volumétricas no grupo com TOC, em nenhum dos métodos (Figuras 16 e 17).

Quando se pesquisou a presença de correlações entre a gravidade dos sintomas no grupo com TOC e o volume de substância branca, o VBM otimizado mostrou achados significantes bilaterais em regiões cerebrais nas quais se previa *a priori* a presença de anormalidades, localizados na corona radiata e porção anterior da cápsula interna. O *cluster* localizado no hemisfério esquerdo teve 691 voxels (escore $Z = 4,34$, $p < 0,001$ não corrigido

para comparações múltiplas) abrangendo a corona radiata e a porção anterior da cápsula interna. Já o *cluster* localizado no hemisfério direito teve 366 voxels (escore $Z= 4,30$, $p<0,001$ não corrigido para comparações múltiplas) abrangendo a corona radiata. Ambos os resultados são mostrados na Tabela 4 e na Figura 18.

Quando se pesquisou a presença de correlações entre a gravidade dos sintomas no grupo com TOC e o volume de substância branca usando o VBM padrão, não se observou nenhum achado envolvendo as regiões cerebrais nas quais se previa *a priori* a presença de achados volumétricos no grupo com TOC (Figura 18). Este padrão de resultados indicou uma maior sensibilidade do VBM otimizado para identificar achados envolvendo regiões de substância branca previamente implicadas na fisiopatologia do TOC.

4.1.2.2 Achados em regiões nas quais anormalidades volumétricas não foram previstas *a priori*

Não foram encontradas alterações estatísticas significativas de volume de substância branca com um limiar estatístico de $p_{FWE}\leq 0,05$ (corrigido para comparações múltiplas ao nível do voxel para o cérebro inteiro) na comparação entre o grupo de pacientes com TOC e o grupo controle saudável (Figuras 16 e 17).

Também não foram encontrados achados estatisticamente significativos na análise de correlação entre a gravidade de sintomas e o

volume de substância branca, usando o mesmo limiar estatístico de $p_{FWE} \leq 0,05$ (corrigido para comparações múltiplas) (Figura 18).

Tabela 4 - Achados significantes das análises de substância branca usando o método de VBM otimizado

Estrutura cerebral ¹	Direção	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ escore	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido
			x	y	z			
Correlação do volume de substância branca nos pacientes com TOC com os escores da escala Y-BOCS para avaliação da gravidade de sintomas obsessivo-compulsivos								
Achado em regiões preditas <i>a priori</i>								
Corona radiata e porção anterior da cápsula interna esquerdos	Direta	691	-24	7	20	4,34	<0,001	0,297
Corona radiata direita	Direta	366	24	3	20	4,30	<0,001	0,341

¹ Os números entre parênteses correspondem à Área de Brodmann (*Brodman areas*, BA).

² Número de voxels contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p < 0,001$ (não corrigido) nos mapas estatísticos.

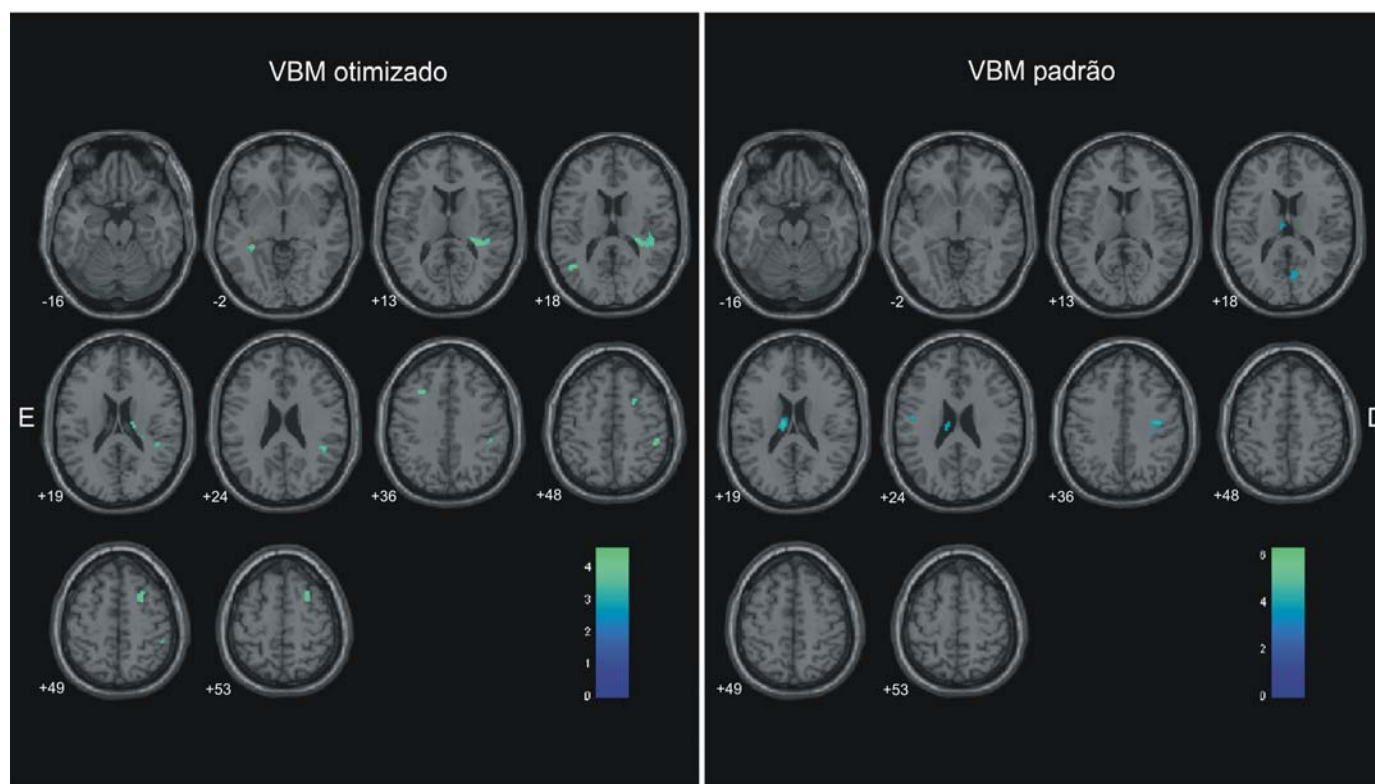
³ Coordenadas do Atlas Estereotáxico do Cérebro Humano (Talairach e Tournoux, 1988) do voxel de máxima significância estatística dentro de cada *cluster*.

⁴ Valor do Escore Z para o voxel de maior significância estatística dentro do *cluster*.

⁵ Significância estatística sem correção para comparações múltiplas.

⁶ Significância estatística depois de correção para comparações múltiplas; inferências foram realizadas ao nível dos voxels individualmente (*family-wise error correction*, FWE) (Friston et al., 1996).

Figura 16: Regiões cerebrais onde foram encontrados focos de diminuição de volume de substância branca, com significância estatística no nível de $p < 0.001$ ($Z > 3.09$) em 19 pacientes com transtorno obsessivo-compulsivo (TOC) comparados a 15 controles saudáveis.

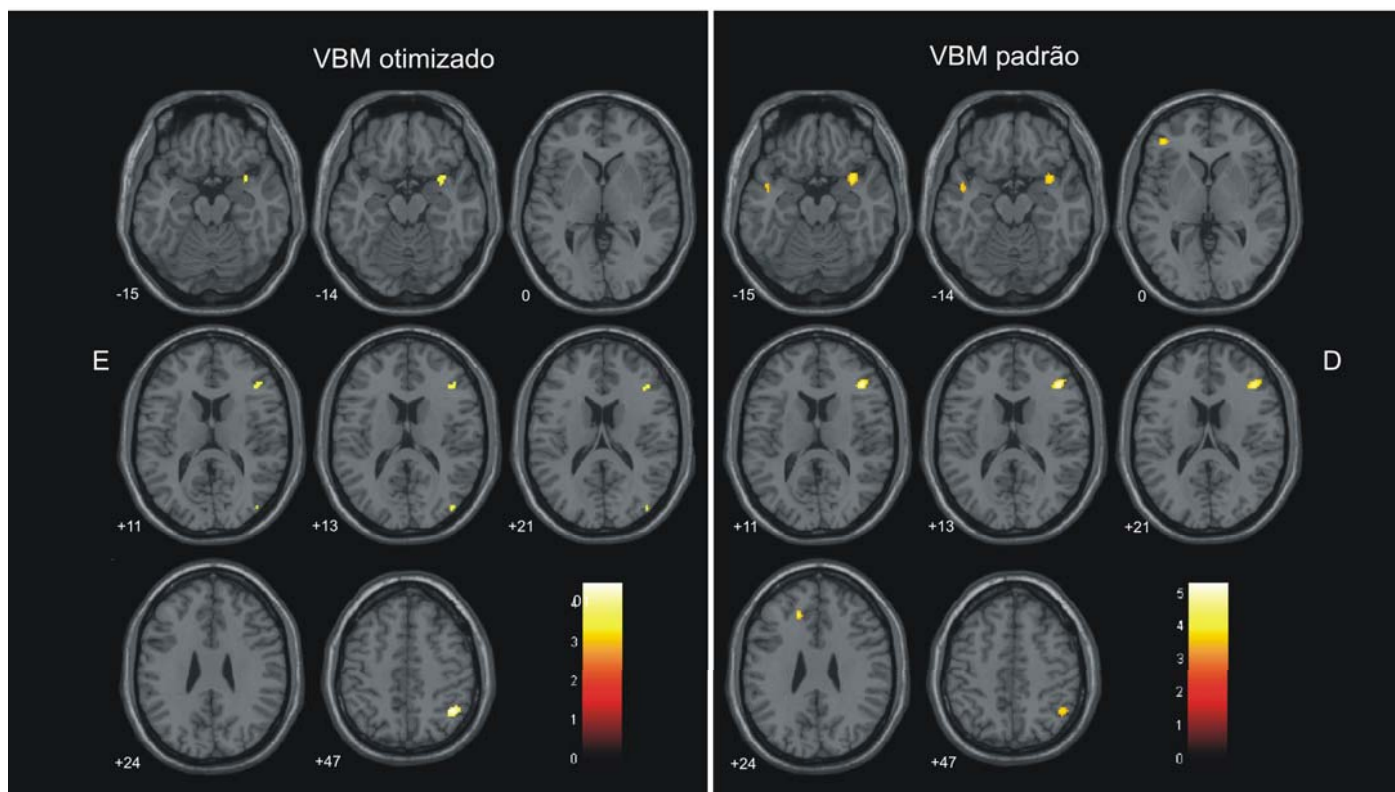


Focos de significância estatística visualizados sobre cortes axiais cerebrais normalizados espacialmente para o Atlas Estereotático do Cérebro Humano (Talairach e Tournoux, 1988). Os números associados a cada corte do cérebro correspondem à coordenada do eixo Z do referido Atlas. A escala corresponde ao valor do escore Z de pico de maior significância estatística.

(i) Resultados obtidos usando o método VBM otimizado. - (ii) Resultados obtidos com o método VBM padrão.

Não foram identificados achados significantes nas regiões nas quais anormalidades foram previstas *a priori* no grupo de pacientes com TOC (cápsula interna e corona radiata). Nota-se alguns focos de alteração de substância branca em outras regiões cerebrais no grupo de pacientes com TOC, mas nenhum destes achados sobreviveu a correção para comparações múltiplas.

Figura 17: Regiões cerebrais onde foram encontrados focos de aumento de volume de substância branca, com significância estatística no nível de $p < 0.001$ ($Z > 3.09$) em 19 pacientes com transtorno obsessivo-compulsivo (TOC) comparados a 15 controles saudáveis

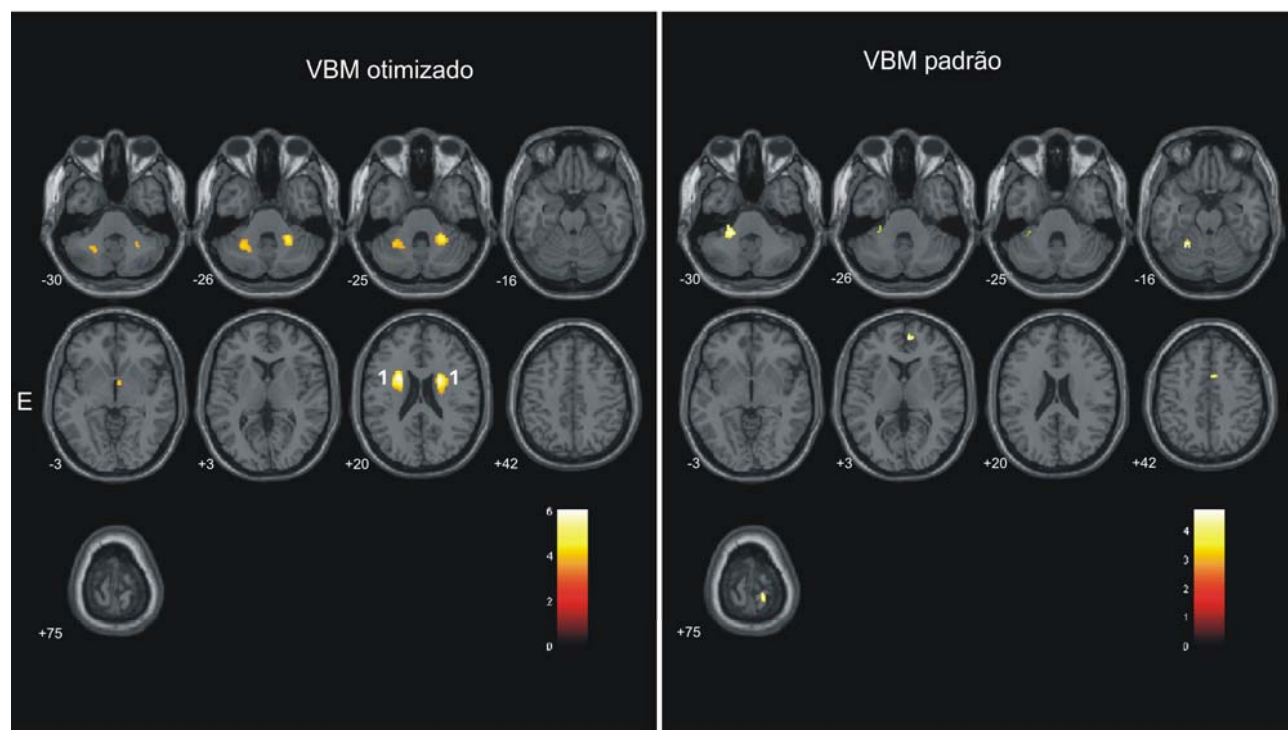


Focos de significância estatística visualizados sobre cortes axiais cerebrais normalizados espacialmente para o Atlas Estereotático do Cérebro Humano (Talairach e Tournoux, 1988). Os números associados a cada corte do cérebro correspondem à coordenada do eixo Z do referido Atlas. A escala corresponde ao valor do escore Z de pico de maior significância estatística.

(i) Resultados obtidos usando o método VBM otimizado. - (ii) Resultados obtidos com o método VBM padrão.

Não foram identificados achados significantes nas regiões nas quais anormalidades foram previstas a priori no grupo de pacientes com TOC (cápsula interna e corona radiata). Nota-se alguns focos de alteração de substância branca em outras regiões cerebrais no grupo de pacientes com TOC, mas nenhum destes achados sobreviveu a correção para comparações múltiplas.

Figura 18: Regiões cerebrais onde foram encontradas correlações positivas significativas entre a gravidade dos sintomas no grupo com TOC (n=19) e o volume de substância branca, com significância estatística no nível de $p < 0.001$ ($Z > 3.09$).



Focos de significância estatística visualizados sobre cortes axiais cerebrais normalizados espacialmente para o Atlas Estereotáxico do Cérebro Humano (Talairach e Tournoux, 1988). Os números associados a cada corte do cérebro correspondem a coordenada do eixo Z do referido Atlas. A escala corresponde ao valor do escore Z de pico de maior significância estatística.

(i) Resultados obtidos usando o método VBM otimizado. - (ii) Resultados obtidos com o método VBM padrão.

Nota-se que apenas na análise usando o VBM otimizado foi possível notar *clusters* bilaterais de correlação positiva significativa entre o volume de substância branca e a intensidade de sintomas obsessivo-compulsivos localizados proximalmente aos ventrículos laterais (abrangendo a cápsula interna e a corona radiata) (indicados com o número 1). Observa-se outros pequenos focos de correlação positiva em regiões de substância branca, mas nenhum destes *clusters* se manteve significativo após correção para comparações múltiplas.

4.1.3 Líquido céfalo-raquidiano

Os mapas estatísticos investigando a presença de diferenças significativas de volume de líquido céfalo-raquidiano entre o grupo de pacientes com TOC e o grupo controle não mostraram áreas de anormalidades no grupo com TOC em região ventricular, sendo notadas apenas algumas alterações em regiões de sulcos e extra-cerebrais em ambos os métodos.

Quando se investigou a presença de correlações entre o volume de líquido céfalo-raquidiano e a gravidade dos sintomas no grupo de pacientes com TOC, os mapas não mostraram achados de correlações negativas estatisticamente significantes em regiões ventriculares em nenhum dos dois métodos.

Já na análise da correlação positiva entre os escores na escala de intensidade de sintomas obsessivo-compulsivos com o volume do líquido céfalo-raquidiano, o VBM padrão mostrou um *cluster* com 3149 voxels (escore Z de pico=4,36, $p < 0,001$ não corrigido para comparações múltiplas) na região do ventrículo lateral bilateral invadindo estruturas cerebrais adjacentes como núcleo caudado, putâmen, tálamo, corpo caloso e giro do cíngulo (Tabela 5.2 e Figura 19). Esta mesma análise feita pelo método do VBM otimizado mostrou um *cluster* na mesma região, com 1088 voxels (escore Z de pico=3,64, $p < 0,001$ não corrigido para comparações múltiplas) e também invadindo as estruturas cerebrais adjacentes mas em menor proporção, conforme ilustrado na Tabela 5.1 e na Figura 19.

Tabela 5.1- Achados significantes das análises de líquido céefalo-raquidiano usando o método de VBM otimizado

Estrutura cerebral ¹	Direção	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ Escore	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido
			x	y	z			
Correlação do volume ventricular dos pacientes com TOC (n=19) e os escores na escala Y-BOCS para avaliação da gravidade de sintomas obsessivo-compulsivos								
Ventrículo lateral bilateral	Direta	1088	-8	-7	22	3,64	<0,001	0,973

¹ Os números entre parênteses correspondem à Área de Brodmann (*Brodmann areas*, BA).

² Número de voxels contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p < 0,001$ (não corrigido) nos mapas estatísticos.

³ Coordenadas do Atlas Estereotáxico do Cérebro Humano (Talairach e Tournoux, 1988) do voxel de máxima significância estatística dentro de cada *cluster*.

⁴ Valor do Escore Z para o voxel de maior significância estatística dentro do *cluster*.

⁵ Significância estatística sem correção para comparações múltiplas.

⁶ Significância estatística depois de correção para comparações múltiplas; inferências foram realizadas ao nível dos voxels individualmente (*family-wise error correction*, FWE) (Friston et al., 1996).

Tabela 5.2- Achados significantes das análises de líquido céfalo-raquidiano usando o método de VBM padrão

Estrutura cerebral ¹	Direção	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ Escore	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido
			x	y	z			
Correlação do volume ventricular dos pacientes com TOC (n=19) e os escores da escala Y-BOCS para avaliação da gravidade de sintomas obsessivo-compulsivos								
Ventrículo lateral bilateral	Direta	3149	-10	-14	23	4,36	<0,001	0,386

¹ Os números entre parênteses correspondem à Área de Brodmann (*Brodmann areas*, BA).

² Número de voxels contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p < 0,001$ (não corrigido) nos mapas estatísticos.

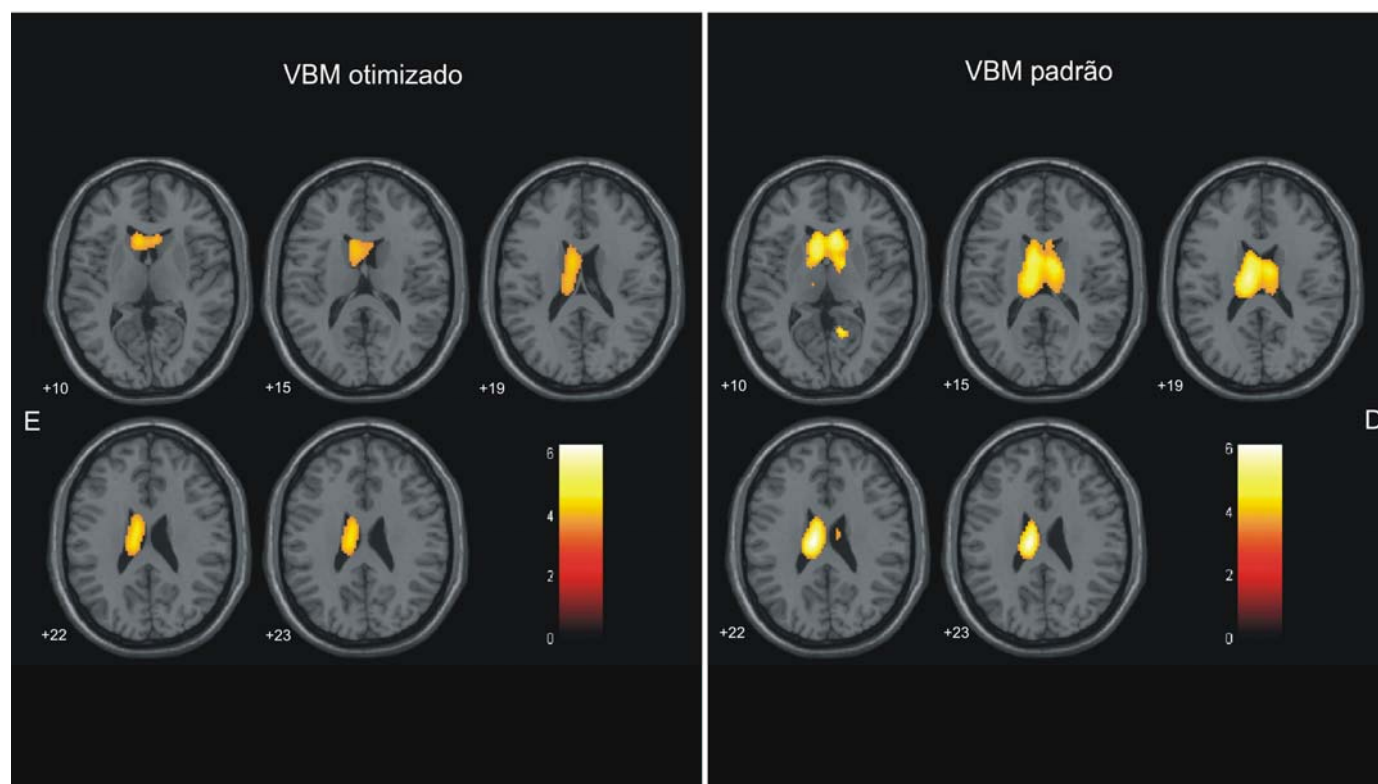
³ Coordenadas do Atlas Estereotáxico do Cérebro Humano (Talairach e Tournoux, 1988) do voxel de máxima significância estatística dentro de cada *cluster*.

⁴ Valor do Escore Z para o voxel de maior significância estatística dentro do *cluster*.

⁵ Significância estatística sem correção para comparações múltiplas.

⁶ Significância estatística depois de correção para comparações múltiplas; inferências foram realizadas ao nível dos voxels individualmente (*family-wise error correction*, FWE) (Friston et al., 1996).

Figura 19: Regiões cerebrais onde foram encontradas correlações positivas significativas entre a gravidade dos sintomas no grupo com TOC (n=19) e o volume de líquido céfalo-raquidiano, com significância estatística no nível de $p < 0.001$ ($Z > 3.09$)



Focos de significância estatística visualizados sobre cortes axiais cerebrais normalizados espacialmente para o Atlas Estereotático do Cérebro Humano (Talairach e Tournoux, 1988). Os números associados a cada corte do cérebro correspondem a coordenada do eixo Z do referido Atlas. A escala corresponde ao valor do escore Z de pico de maior significância estatística.

(i) Resultados obtidos usando o método VBM otimizado. - (ii) Resultados obtidos com o método VBM padrão.

Em ambos os métodos, nota-se extensos *clusters* bilaterais localizados nos ventrículos laterais, mas com menor invasão de estruturas adjacentes de substância cinzenta e branca na análise com o VBM otimizado.

4.2. Resultados obtidos usando o método de delineamento manual de ROIs

4.2.1 Confiabilidade das medidas entre observadores

A análise de correlação entre as medidas dos dois avaliadores teve como resultado um coeficiente maior que 0,93 para todas as regiões de interesse mensuradas, conforme mostra a Tabela 6 abaixo.

Conforme descrito no item 3.7, deve-se lembrar que foram desenhadas somente as ROIs das estruturas subcorticais (incluindo os gânglios da base e os tálamos), por estarem localizadas em adjacência aos ventrículos laterais, pois a finalidade principal do estudo foi a de avaliar a possível influência artefactual da dilatação ventricular sobre as análises comparativas do volume destas estruturas vizinhas entre os grupos usando o programa SPM.

Tabela 6- Resultado do coeficiente de correlação intraclassa entre dois avaliadores

Região cerebral	ICC (p)	
	Hemisfério direito	Hemisfério esquerdo
Núcleo caudado	0,96 ¹ (<0,001 ²)	0,98 ¹ (<0,001 ²)
Putâmen	0,99 ¹ (<0,001 ²)	0,96 ¹ (<0,001 ²)
Tálamo	0,95 ¹ (<0,001 ²)	0,82 ¹ (0,001 ²)
Ventrículo lateral	0,99 ¹ (<0,001 ²)	0,99 ¹ (<0,001 ²)

¹ Coeficiente de correlação intraclassa para confiabilidade entre dois avaliadores treinados em nosso grupo (n=10).

² Significância estatística (p).

4.2.2 Diferenças volumétricas entre pacientes com TOC e controles assintomáticos

O teste não paramétrico de Mann-Whitney, que foi utilizado para fazer a comparação entre os valores medidos através de ROIs no grupo de pacientes com TOC e nos sujeitos controles (normalizadas para o volume total do cérebro), indicou a existência de apenas uma tendência em direção a um maior volume do ventrículo lateral esquerdo no grupo de pacientes com TOC comparado ao grupo controle, conforme mostra a Tabela 7.

Tabela 7- Comparação estatística dos resultados da volumetria manual entre o grupo dos indivíduos com TOC e o grupo controle usando o teste não paramétrico de Mann-Whitney

Região cerebral	Pacientes (n= 19)	Controles (n=15)	Comparação entre grupos
	Média ± DP		Mann-Whitney (p)
Núcleo Caudado Direito	0,023 ± 0,003	0,024 ± 0,004	1,000 ¹ (0,986 ²)
Núcleo Caudado Esquerdo	0,022 ± 0,002	0,023 ± 0,005	1,000 ¹ (0,986 ²)
Putâmen Direito	0,013 ± 0,004	0,013 ± 0,006	0,945 ¹ (0,931 ²)
Putâmen Esquerdo	0,013 ± 0,002	0,015 ± 0,005	0,391 ¹ (0,376 ²)
Tálamo Direito	0,027 ± 0,007	0,028 ± 0,005	0,215 ¹ (0,206 ²)
Tálamo Esquerdo	0,029 ± 0,007	0,029 ± 0,005	0,681 ¹ (0,665 ²)
Ventrículo Lateral Direito	0,008 ± 0,004	0,007 ± 0,005	0,179 ¹ (0,171 ²)
Ventrículo Lateral Esquerdo	0,009 ± 0,005	0,007 ± 0,004	0,077 ¹ (0,074 ²)

¹ Valor do teste estatístico de Mann-Whitney

² Significância estatística (p).

Com a análise não paramétrica usando índices de correlação de Spearman (ρ), houve uma correlação direta significativa entre o volume do ventrículo lateral medido através de ROIs, normalizado para o volume cerebral total, e a intensidade de sintomas obsessivo-compulsivos medidos pela escala Y-BOCS no grupo de pacientes com TOC, conforme demonstrado na Tabela 8.

Tabela 8 - Correlação entre a gravidade de sintomas e os volumes medidos pelas ROIs no grupo de pacientes com TOC (n=19) usando o teste não paramétrico de Spearman (ρ)

Região cerebral	ρ (p)	
	Hemisfério direito	Hemisfério esquerdo
Núcleo Caudado	-0,119 (0,629)	-0,100 (0,683)
Putâmen	-0,155 (0,527)	0,049 (0,841)
Tálamo	0,292 (0,226)	0,140 (0,568)
Ventrículo lateral	0,682 (<0,001)	0,734 (<0,001)

A Tabela 9 abaixo mostra a correspondência dos resultados obtidos usando os métodos de ROI e VBM otimizado nas áreas subcorticais de substância cinzenta que foram avaliadas pelos dois métodos e nas quais se previa *a priori* a presença de anormalidades volumétricas no grupo com TOC, bem como nos ventrículos laterais. Os dados mostrados na tabela mostram relativa concordância entre os dois métodos em termos de uma ausência quase completa de achados significantes na comparação entre

pacientes e controles no volume de núcleos de substância cinzenta subcorticais; uma presença de correlação significativa positiva entre o volume dos ventrículos laterais e a intensidade de sintomas obsessivo-compulsivos.

Tabela 9 - Comparação dos resultados obtidos nas análises que usaram VBM otimizado ou ROIs para a avaliação de regiões cerebrais subcorticais

Região cerebral	Análise	VBM otimizado	ROI
Núcleo caudado direito	PC	NS	NS
	Y-BOCS	NS	NS
Núcleo caudado esquerdo	PC	NS	NS
	Y-BOCS	NS	NS
Putâmen direito	PC	NS	NS
	Y-BOCS	NS	NS
Putâmen esquerdo	PC	NS	NS
	Y-BOCS	NS	NS
Tálamo direito	PC	NS	NS
	Y-BOCS	NS	NS
Tálamo esquerdo	PC	NS	NS
	Y-BOCS	Correlação negativa, Z=3,76(p<0,001 ¹)	NS
Ventrículos laterais	PC	NS	Tendência a aumento nos pacientes no lado direito, valor do teste=0,077 ² (p=0,074 ¹)
	Y-BOCS	Correlação positiva, Z=3.64 (p<0,001 ¹)	Correlação positiva no lado direito, r=0,682 ³ (p<0,001 ¹) e correlação positiva no lado esquerdo, r= 0,734 ³ (p<0,001 ¹)

¹Significância estatística (p).

² Valor do teste estatístico de Mann-Whitney.

³ Valor do teste estatístico não paramétrico de Spearman.

Y-BOCS (*Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale*) - Escala de gravidade de sintomas obsessivo-compulsivos.

PC (Pacientes versus Controles) - Comparação entre pacientes versus controles

NS – Valor estatístico não significativo.

5. Discussão

5.1 Comparação dos achados de VBM no TOC com os dados anteriores da literatura

Muitos estudos anteriores de neuroimagem já investigaram a presença de alterações cerebrais em pacientes diagnosticados com TOC, usando tanto técnicas baseadas em ROIs quanto técnicas de análise baseadas no voxel. Num considerável número de estudos de neuroimagem funcional, usando métodos como o PET, o SPECT ou a RMf, têm sido reportada a presença de anormalidades cerebrais predominantemente no córtex órbito-frontal e no cíngulo anterior e também nos gânglios da base e tálamo (Baxter et al., 1988; Nordahl et al., 1998; McGuire et al., 1994; Rauch et al., 1994; Breiter et al., 1996; Saxena et al., 1998; Busatto et al., 2000; Lacerda et al., 2003; Mataix-Cols et al., 2004). Há também estudos de métodos funcionais indicando a presença de anormalidades em áreas límbicas em portadores de TOC comparados a controles assintomáticos, tais como o hipocampo e o giro parahipocampal (van den Heuvel et al., 2005; Rauch et al., 2007). Já em relação aos estudos de RM estrutural, algumas investigações têm detectado a presença de anormalidades morfométricas cerebrais em pacientes com TOC em comparação com sujeitos saudáveis, mas estes mostraram resultados não tão consistentes quanto os da literatura de neuroimagem funcional (Saxena et al., 2001). Medidas morfométricas em estudos de RM no TOC geralmente são focadas no circuito orbitofrontal-cíngulo-estriado-talâmico usando a técnica de ROIs (Scarone et al., 1992;

Robinson et al., 1995; Jenike et al., 1996; Rosenberg et al., 1997; Rosenberg e Keshavan, 1998; Szeszko et al., 1999, 2004; Giedd et al., 2000; Peterson et al., 2000; Choi et al., 2004).

O presente estudo, ao demonstrar alterações de substância cinzenta em regiões límbicas (giro parahipocampal e hipocampo) e paralímbicas (cíngulo anterior e córtex órbita-frontal) mostrou-se consistente com uma parcela considerável dos estudos anteriores mencionados acima (Nordahl et al., 1998; Rauch et al., 1994; Breiter et al., 1996; Phillips et al., 2000). Isto dá reforço à noção de que o método de VBM é válido, já que o presente estudo mostrou alterações nas mesmas regiões que se mostraram afetadas em grande parte dos estudos anteriores de neuroimagem funcional e estrutural em grupos de pacientes com TOC. Além disso, houve no presente estudo também achados de alteração de substância cinzenta em regiões não avaliadas com freqüência em estudos anteriores de ROI, mais notadamente no córtex parietal, que sobreviveram a um limiar rígido de significância estatística, corrigido para comparações múltiplas. Este último achado mostra que o uso do método do VBM, ao avaliar o volume cerebral total, permite a análise de regiões cerebrais nas quais não era previstas *a priori* a presença de anormalidades volumétricas no grupo de pacientes com TOC. Tais regiões não são comumente investigadas em estudos que usam o método de ROI pois não se formula qualquer hipótese para anormalidades nas mesmas, e portanto estas áreas acabam não sendo avaliadas.

Os resultados obtidos na análise dos extratos de substância branca também forneceram dados compatíveis com a literatura prévia sobre o TOC.

Apesar de não termos observado diferenças de volume de substância branca regional entre os grupos, nós detectamos uma correlação positiva significativa entre a gravidade dos sintomas obsessivo-compulsivos no grupo de pacientes com TOC (quantificados pelos escores da escala Y-BOCS) e o volume regional de substância branca, num foco bilateral estendendo-se desde as porções anteriores e posteriores da cápsula interna até a região superior da corona radiata. Isto indicou uma relação entre aumento do volume de substância branca e forte gravidade de sintomas do TOC. Esses resultados são consistentes com recentes achados de estudos de imagens por tensor de difusão (*Diffusion Tensor Imaging* - DTI), que vêm indicando a presença de uma arquitetura anormal localizada especificamente na porção anterior da cápsula interna e no fascículo do cíngulo em pacientes com TOC (Cannistraro et al., 2007). A cápsula interna desempenha um papel crítico na interligação das várias estruturas corticais e sub-corticais (Alexander et al., 1986) que estão implicadas na fisiopatologia do TOC (Rauch et al., 2003), especialmente os gânglios da base, tálamo, córtex órbito-frontal e giro do cíngulo anterior.

O foco de correlação positiva significativa entre o volume da porção anterior da cápsula interna de substância branca e a gravidade de sintomas nos pacientes com TOC, relatado neste trabalho, foi localizado nas proximidades do nosso achado já descrito anteriormente, de uma correlação negativa significativa entre a escala de gravidade de sintomas Y-BOCS e o volume de substância cinzenta sub-cortical na mesma amostra, nas adjacências do núcleo talâmico medial. É anatomicamente plausível supor

que esses dois achados estão relacionados entre si, visto que a porção anterior da cápsula interna interconecta o núcleo talâmico medial dorsal ao córtex órbito-frontal e ao giro do cíngulo anterior (Rauch et al, 2003). No entanto, deve salientar-se que a significância estatística e a extensão do *cluster* de correlação positiva entre o volume da porção anterior da cápsula interna e a gravidade de sintomas do TOC (no VBM otimizado) foram consideravelmente maiores do que os nossos achados de correlação entre a gravidade de sintomas no TOC com o volume de substância cinzenta na adjacência do núcleo talâmico medial dorsal. Isto sugere que os resultados patológicos envolvendo os tratos de substância branca na porção anterior da cápsula interna podem contribuir mais proeminentemente para a gravidade dos sintomas do TOC do que alterações volumétricas em regiões de substância cinzenta adjacentes.

5.2 Comparação entre os resultados obtidos com os métodos VBM e de ROIs – substância cinzenta

Um ponto importante deste estudo foi a demonstração de que os resultados obtidos na análise estatística pelo método de ROI foram similares aos resultados obtidos com o método de VBM. Ambos os métodos não detectaram alterações estatisticamente significantes nas regiões dos gânglios da base, e mostraram uma correlação negativa entre a gravidade de sintomas obsessivo-compulsivos com o volume do ventrículo lateral direito.

Esta discussão, no entanto, deve ser feita com cautela, visto que esta tese não teve o objetivo de avaliar de forma completa volumes de múltiplas áreas cerebrais usando o método de delimitação manual de ROIs. O objetivo específico foi desenhar somente as ROIs sobre estas estruturas cerebrais localizadas em adjacência aos ventrículos laterais, pois a finalidade principal do estudo foi a de avaliar a influência artefactual da dilatação ventricular sobre as medidas do volume destas estruturas vizinhas, obtidas usando o programa SPM.

Alguns estudos anteriores de neuroimagem que compararam as técnicas de ROI e a de VBM (Job et al., 2002; Kubicki et al., 2002; Moorhead et al., 2004; Giuliani et al., 2005; Douaud et al., 2006), embora tenham usado um número limitado de ROIs, mostram que os resultados obtidos com os dois métodos são consistentes entre si. No mais recente destes estudos que compararam as duas técnicas, Kennedy et al. (2008), realizaram uma comparação entre o método do VBM otimizado e volumetria manual usando o método de ROIs. Os autores avaliaram a correlação do volume regional cerebral com a idade em uma amostra de indivíduos saudáveis. Eles usaram 200 indivíduos saudáveis (119 mulheres; 81 homens), destros, tendo a língua inglesa como nativa, com idade entre 18 e 81 anos (média de 46,93), todos com nível educacional médio (média de 15,76 anos de escolaridade). Os autores reportaram um complexo padrão de similaridades e diferenças entre os dois métodos, e devido a este fato, sugerem o uso do VBM como primeira metodologia seguida do uso de ROIs para se obter uma ótima avaliação das alterações cerebrais relacionadas com a idade.

Deve-se também lembrar que os métodos de VBM e ROI são muito diferentes entre si, sendo portanto difícil estabelecer parâmetros para uma comparação absoluta entre os mesmos. Por outro lado, é importante discutir as semelhanças e diferenças de resultados entre os dois métodos, visto que cada vez mais o método de VBM tem sido usado na literatura.

Alguns estudos citam que o método do VBM pode apresentar inconsistências. Embora o método do VBM seja automático e rápido de se executar, seus mapas estatísticos de teste t podem apresentar uma baixa significância quando o valor do p é corrigido para comparações múltiplas. Em outras palavras, quando não é feita a correção para múltiplas comparações tem-se risco de falso-positivos, ou falso-negativos se for feita correção para comparações múltiplas de forma rígida, levando em conta todos os voxels do volume do compartimento cerebral (que é de aproximadamente 250.000 voxels para o compartimento de substância cinzenta e 170.000 voxels para o compartimento de substância branca).

Já na análise estatística pelo método de ROIs, o risco de falso-positivos ou falso-negativos é menor, uma vez que está análise não trata cada voxel como uma variável separada a ser comparada entre grupos, mas sim o volume todo incluído na ROI. Assim sendo, as correções para comparações múltiplas levam em conta o número de ROIs selecionadas e não todos os voxels do cérebro. Contudo, este método é de baixa reprodutibilidade e possui muitas limitações, conforme citado no item 1.2.1.

Devido à existência de vantagens e desvantagens em ambos os métodos, alguns trabalhos sugerem a combinação das duas técnicas

(Giuliani et al., 2005; Kennedy et al., 2008). Um exemplo de como isto pode ser implementado no SPM, é através da função *Small Volume Correction* (SVC). Esta função limita o número de comparações estatísticas de um mapa de resultado voxel-a-voxel a uma ou algumas poucas regiões pré-determinadas.

A função SVC calcula o valor de p corrigido para comparações múltiplas de um mapa estatístico somente em uma área pré-determinada do mapa. Esta área pré-determinada pode ser em forma de caixa, esfera ou mesmo, uma imagem *a priori* de uma determinada região cerebral, como por exemplo o núcleo caudado esquerdo, putâmen direito, tálamo esquerdo e muitas outras. Estas áreas pré-determinadas fazem com que sejam incluídos na análise estatística somente os voxels do mapa estatístico do SPM que estão dentro desta região selecionada. Quando ocorre esta seleção de voxels no mapa estatístico do SPM, o programa calcula novamente o valor do p corrigido para comparações múltiplas, levando em conta somente a quantidade de voxels abrangidos na região selecionada. Esta nova análise faz com que o valor estatístico da região selecionada seja corrigido para um número menor de voxels, aumentando o seu valor estatístico e diminuindo o risco de falso-negativos (Worsley et al., 1996).

Na presente tese, como os objetivos principais na análise de VBM eram os de avaliar a correspondência de achados entre as formas padrão e otimizada de uso deste método automático, optamos por não introduzir o uso do SVC. No entanto, em estudos futuros cujo objetivo seja avaliar alterações cerebrais em porções específicas do cérebro numa população de pacientes

em comparação com voluntários assintomáticos, acreditamos que o uso de SVC (com correção para comparações múltiplas) esteja fortemente indicado nestas regiões específicas, seguido de uma segunda avaliação dos mapas estatísticos a fim de identificar outros achados em áreas adicionais (usando correção para comparações múltiplas no cérebro inteiro nesta segunda análise).

Um achado inédito do presente estudo é a correspondência que houve entre os resultados pela técnica de ROI no ventrículo lateral e os resultados da técnica de VBM do compartimento de CSF na mesma região. Estes resultados sugerem a possibilidade de uso do método de VBM para a investigação de dilatação ventricular em imagens estruturais de RM. Foram poucos os estudos que analisaram de forma automática ou semi-automática o volume dos ventrículos laterais em amostras de pacientes com transtornos neuropsiquiátricos comparados a controles assintomáticos (Schnack et al., 2001; Gaser et al., 2004; Papiol et al., 2005; Styner et al., 2005; Schneider-Axmann et al., 2006). No entanto, nenhum estudo de RM até hoje comparou diretamente os resultados do compartimento de líquido obtidos com método de VBM e com o método de ROIs na mesma amostra de sujeitos, como foi feito na presente tese.

5.3 Artefatos de dilatação ventricular e sua influência sobre resultados de substância cinzenta obtidos com os métodos de VBM padrão e otimizado

Os mapas de correlação negativa do volume de substância cinzenta com a escala de gravidade de sintomas Y-BOCS, mostraram achados de similaridade entre os dois métodos. No VBM otimizado, a região cerebral com correlação negativa mais expressiva, com 254 voxels (escore $Z=3,76$, $p<0,001$) (Tabela 5), foi localizada nas adjacências do tálamo e giro do cíngulo direitos, invadindo o ventrículo lateral e o corpo caloso. No VBM padrão, foi encontrado um *cluster* muito mais amplo, com 4587 voxels, abrangendo áreas sub-corticais como núcleo caudado, putâmen e tálamo bilateralmente, giro do cíngulo, hipocampo, giro parahipocampal, giro fusiforme, giro lingual e culmen do cerebelo, e sobretudo, invadindo toda a extensão do ventrículo lateral e terceiro ventrículo, expandindo-se por áreas adjacentes aos ventrículos laterais como o corpo caloso.

Observando os resultados de substância cinzenta em ambos os métodos, podemos verificar a ocorrência de achados que foram localizados fora dos compartimentos de substância cinzenta, mais evidentes no ventrículo lateral. Deve-se notar que a extensão destes focos ultrapassou muito o valor de 12 mm do filtro gaussiano usado (principalmente quando se usou o VBM padrão), indicando que estes resultados não foram simplesmente um espalhamento do achado significativo em focos de substância cinzenta pela suavização das imagens. Além disso, os resultados do VBM no compartimento de ventrículos indicaram alargamento ventricular

nos pacientes com TOC em correlação direta com a gravidade dos sintomas obsessivo-compulsivos, e a análise de ROIs mostrou também um padrão de maior volume ventricular quanto maior a intensidade de sintomas. Tomados em conjunto, estes dados permitem que se afirme com segurança que os achados do VBM de substância cinzenta em áreas subcorticais foram fortemente influenciados por dilatação ventricular na amostra de sujeitos com TOC.

O VBM é uma técnica automática que detecta diferenças de volume regionais sobre algum compartimento cerebral específico, voxel-a-voxel (Ashburner e Friston, 2000).

O artefato de dilatação ventricular observado neste estudo indica que, apesar de todas as vantagens da técnica de VBM, a mesma apresenta limitações. Estas limitações, de forma geral, têm sido extensamente discutidas na literatura. Por exemplo, segundo Ashburner e Friston (2001), a função base de normalização adotada no SPM é perfeita com dados anatômicos cerebrais íntegros. Existem casos nos quais há alguma diferença regional cerebral devida a alguma deformidade anatômica, que não está diretamente relacionada ao volume de substância cinzenta mas que pode aparecer como significativa nos mapas estatísticos relacionados a este compartimento. Um exemplo claro é quando uma população apresenta ventrículos alargados ou intensa atrofia cortical; nestes casos, as imagens cerebrais podem não conseguir atingir uma correspondência exata na normalização espacial.

Além disso, em áreas onde a diferenciação de substância cinzenta e branca é pobre, como por exemplo, o tronco cerebral e o tálamo, o algoritmo de segmentação pode classificar de forma incorreta os compartimentos cerebrais (Good et al., 2001).

5.4 Comparação dos resultados obtidos com o método de VBM padrão e otimizado – substância cinzenta

Nos resultados obtidos com o método de VBM padrão e otimizado em regiões cerebrais de substância cinzenta, o VBM otimizado detectou anormalidades no giro do cíngulo anterior, córtex órbito-frontal e no giro parahipocampal, ao passo que, o VBM padrão somente detectou anormalidades no giro parahipocampal. Isto mostra que o método otimizado foi mais sensível para identificar alterações volumétricas em regiões cerebrais de substância cinzenta nas quais se previa *a priori* a presença de anormalidades volumétricas no grupo de sujeitos com TOC com significância estatística de $p < 0,001$ (corrigido para comparações múltiplas).

Com relação a regiões nas quais não se previa *a priori* a presença de anormalidades volumétricas no compartimento de substância cinzenta no grupo com TOC, ambos os métodos detectaram o mesmo foco de anormalidade na região do lobo parietal (Figuras 13 e 14), com significância estatística de $p_{FWE} \leq 0.05$ (corrigido para comparações múltiplas). Portanto, com relação a regiões cerebrais nas quais não se previa *a priori* a presença de anormalidades volumétricas de substância cinzenta no grupo de pacientes com TOC, podemos dizer que os dois métodos foram equivalentes

em sua sensibilidade, sendo ambos capazes de identificar alterações volumétricas numa região que não era sede primordial de pesquisa.

A otimização das técnicas de VBM surgiu a partir das discussões na literatura sobre as limitações metodológicas desta técnica, conforme sintetizado no item anterior.

Observando os resultados nas análises de substância cinzenta no presente trabalho, principalmente na correlação entre volumes cerebrais e a gravidade de sintomas medida pela escala Y-BOCS, pudemos verificar que com o método de VBM otimizado ocorre uma grande redução quantitativa de achados artefatuais fora dos compartimentos de substância cinzenta, como por exemplo a dilatação do ventrículo lateral nos pacientes com TOC, em comparação com os resultados obtidos com o VBM padrão. Estes resultados sugerem que o uso de VBM otimizado é mais apropriado para amostras nas quais há dilatação dos ventrículos laterais do cérebro.

Segundo Good et al. (2001), para o VBM ser válido, existem algumas regras a se seguir. Primeiramente, todas as imagens originais brutas devem ser obtidas no mesmo aparelho de RM, com os parâmetros de imagens idênticos, já que diferentes aquisições podem resultar em intensidades e variações geométricas distintas, em particular, em estudos longitudinais.

Além disso, os moldes customizados devem ser compostos de sujeitos do mesmo estudo. Estes moldes também são utilizados como informação *a priori* para a segmentação. A segmentação no SPM ocorre utilizando uma imagem *a priori* da probabilidade da existência de substância de um determinado compartimento cerebral para extrair o valor

correspondente em um volume cerebral completo com todos os seus compartimentos. O uso de imagens *a priori* customizadas permite uma melhor segmentação destas imagens completas porque esta nova imagem *a priori* também é parte dos moldes customizados. Assim, no VBM otimizado, utilizando um molde customizado para o estudo dos próprios indivíduos e com um maior refinamento nas etapas iniciais de normalização, os achados estatísticos mostraram-se mais otimizados, ou seja, com menos risco de falso-positivos. Se ocorresse um possível desalinhamento na normalização espacial das imagens de um dos grupos de estudo (em caso de uso de molde não customizado), este desalinhamento poderia levar a diferenças entre os grupos, gerando um resultado falso-positivo no mapa estatístico. O artefato de dilatação ventricular torna-se claramente evidente quando não se é utilizado um molde customizado para o estudo durante as etapas de normalização espacial e segmentação.

5.5 Resultados obtidos com o método de VBM padrão e otimizado – substância branca

Na análise do compartimento de substância branca dos pacientes com TOC com os métodos do VBM padrão e otimizado, somente o VBM otimizado foi capaz de detectar achados significantes em regiões nas quais se previa *a priori* a presença de anormalidades volumétricas (corona radiata e porção anterior da cápsula interna) no grupo de sujeitos com TOC, com significância estatística de $p < 0,001$ (sem correção para comparações múltiplas). Nesta investigação, o VBM padrão não detectou anormalidades

dentro deste limiar de significância estatística. Este achado confirma a maior sensibilidade do VBM otimizado em comparação com o VBM padrão para detectar achados em regiões com hipóteses *a priori* também para o compartimento de substância branca.

Usando um limiar de significância estatística de $p_{FWE} < 0,05$ (corrigido para comparações múltiplas) a fim de investigar anormalidades não previstas *a priori* no grupo de pacientes com TOC envolvendo o compartimento de substância branca, não houve nenhum achado significativo com VBM otimizado ou padrão.

Em contraste com o grande número de estudos de VBM avaliando anormalidades de substância cinzenta em amostras de portadores de transtornos neuro-psiquiátricos, poucas investigações até hoje têm sido feitas no compartimento de substância branca usando este tipo de método automatizado (Jeniki et al., 1996; Rosenberg et al., 1997; Zhou et al., 2003; McMillan et al., 2004; Pujol et al., 2004; Szeszko et al., 2004; Riffkin et al., 2005; Baldeweg et al., 2006; Gimenez et al., 2006; Chaim et al., 2007; Carey et al., 2008; Li et al., 2008; Menzies et al., 2008; Nave et al., 2008; Yu et al., 2008).

No presente estudo, observamos que algumas porções cerebrais, mais notadamente as das regiões dos gânglios da base, tálamo e estruturas próximas, mostraram achados mais significantes no compartimento de substância branca em comparação com o compartimento de substância cinzenta quando se usou o método de VBM otimizado. Estes achados no compartimento de substância branca foram interessantes, visto que os tratos

envolvidos interconectam regiões de substância cinzenta que são importantes para a fisiopatologia do TOC. No presente estudo, se fosse avaliado somente o compartimento de substância cinzenta, estes achados na substância branca seriam perdidos e informações que podem ser importantes para este transtorno mental não seriam consideradas.

A possibilidade de realizar análises separadamente do compartimento de substância branca pode ser considerada outra vantagem dos métodos de VBM sobre os métodos que usam a técnica de ROI. Como a ROI convencional não separa substância cinzenta de substância branca, os achados de anormalidades de volume, que sejam específicos para um destes dois compartimentos, podem não ser identificados. No presente estudo, quando realizamos as análises estatísticas com os valores medidos pela técnica de ROIs, os resultados das estruturas dos gânglios da base não foram estatisticamente significantes (Tabelas 7 e 8).

Em síntese, os achados do presente estudo confirmam a noção defendida recentemente por alguns autores de que os estudos de VBM ficam mais completos quando avaliam o compartimento de substância cinzenta e o compartimento de substância branca na mesma amostra (McMillan et al., 2004; Riffkin et al., 2005; Bruggemann et al., 2007; Carey et al., 2008).

Outra vantagem da análise automática de substância branca sobre as análises por ROIs, é que não é possível fazer volumetria manual destes compartimentos de substância branca de forma válida e confiável, pois as diferentes regiões de substância branca não possuem contornos específicos

como aqueles observados nas estruturas de substância cinzenta (Zhou et al., 2003; Yu et al., 2008).

5.6 Escolha dos níveis de inferência estatística em estudos de neuroimagem utilizando o programa SPM

Dado que os mapas gerados pelo programa SPM sempre atribuem um valor estatístico (por exemplo, teste t) para cada voxel, depende do pesquisador a escolha do limiar que será usado para definir um determinado achado como significativo, levando em conta os riscos de falso-positivos ou negativos.

Nesta tese, usamos para as regiões para as quais havia hipóteses *a priori* a respeito de anormalidades no grupo com TOC (núcleo caudado, putâmen, tálamo, cíngulo anterior, córtex órbita-frontal e giro parahipocampal) o nível de $p < 0,001$ (não corrigido para comparações múltiplas). É preciso admitir que esta escolha pode estar associada a risco de falso-positivos (Friston et al., 1995). Por outro lado, se forem aplicados níveis mais estritos, corre-se o risco de não valorização de achados sutis em regiões cerebrais que são importantes para a fisiopatologia do transtorno que está sendo estudado. É este compromisso entre os riscos de falso-positivos e negativos que tem feito muitos pesquisadores usarem este critério em estudos de neuroimagem nos quais existem hipóteses claras da presença de anormalidades volumétricas em determinado transtorno psiquiátrico a ser estudado (Friston et al., 1995; Wright et al., 1995, 1999; Moorhead et al., 2004).

Recentemente, o uso da função SVC vem sendo cada vez mais usado nos estudos de neuroimagem que empregam o programa SPM. De fato, trata-se de estratégia interessante, pois permite-se assim restringir um pouco mais o número de voxels submetidos a correção para comparações múltiplas diretamente nas regiões cerebrais nas quais se prevê *a priori* a presença de anormalidades volumétricas em um grupo de pacientes a ser estudado. No entanto, deve-se salientar que para regiões de proporções diminuídas, como a maioria daquelas avaliadas na presente tese, o SVC interpreta como significativos resultados muito próximos dos valores não corrigidos para comparações múltiplas, na faixa de $Z=3,09$.

Levando em conta todos estes elementos, consideramos ainda válida a estratégia deste estudo, que foi a de usar o valor de $p<0,001$ não corrigido para comparações múltiplas nas regiões para as quais havia hipóteses *a priori* e $p_{FWE}<0,05$ corrigido para comparações múltiplas para o cérebro inteiro em regiões nas quais se previa a presença de anormalidades volumétricas no grupo de pacientes com TOC.

5.6 Considerações metodológicas

As investigações realizadas nesta tese têm limitações metodológicas que devem ser discutidas.

Foi utilizada uma amostra modesta de sujeitos (19 pacientes com TOC e 15 sujeitos saudáveis), que pode não ser representativa da população de onde os indivíduos foram recrutados, e estar associada a um aumento do risco de resultados falso-negativos. Além disso, medidas

volumétricas cerebrais podem ter sido afetadas pelo uso de medicação numa parcela substancial do grupo de pacientes com TOC. Portanto, é desejável a replicação dos achados aqui reportados em amostras com maior número de indivíduos, se possível não medicados.

Uma outra limitação vem do fato de que a presente tese foi restrita a um único transtorno psiquiátrico, qual seja o TOC. É importante, portanto, verificar se achados similares de diferenças e semelhanças entre VBM padrão e otimizado surgem também em amostras de sujeitos portadores de outros transtornos psiquiátricos, tais como a esquizofrenia e a doença de Alzheimer. Estamos, no momento, trabalhando com uma amostra ampla de sujeitos portadores de esquizofrenia e sujeitos saudáveis pareados epidemiologicamente (Schalferberger et al, 2007). Como próximo passo a partir da presente pesquisa, nós faremos comparações entre os métodos de VBM padrão e otimizado utilizando os dados deste novo estudo. Nesta nova investigação, incorporaremos a função SVC, a fim de verificar achados em regiões cerebrais nas quais se prevê *a priori* a presença de anormalidades volumétricas no grupo com esquizofrenia.

Por fim, deve-se mencionar que a comparação entre o método de ROI e o método de VBM não foi completa, visto que não se avaliaram, com o método manual, outras regiões cerebrais importantes para o TOC, como por exemplo, o córtex órbito-frontal. Por outro lado, deve-se lembrar que o objetivo principal da comparação entre os métodos era investigar a influência da dilatação ventricular nos resultados obtidos com o método de VBM.

5.7 Conclusão

Nesta tese, que teve como um de seus principais objetivos verificar as similaridades e diferenças nos padrões de resultados obtidos entre os métodos de VBM padrão e otimizado, o método otimizado se mostrou mais sensível para identificar alterações volumétricas em algumas regiões cerebrais de substância cinzenta nas quais se previa *a priori* a presença de anormalidades volumétricas no grupo de sujeitos com TOC (diminuição volumétrica no cíngulo anterior, e aumento no córtex órbito-frontal). Já nas áreas de substância branca, o VBM otimizado foi o único capaz de identificar achados volumétricos em regiões nas quais se previa *a priori* a presença de anormalidades volumétricas no grupo de sujeitos com TOC (correlação direta entre os volumes da corona radiata e da cápsula interna e a gravidade de sintomas). Conclui-se, portanto, que o VBM otimizado é nitidamente mais sensível para detectar alterações volumétricas voxel-a-voxel em regiões relevantes para a fisiopatologia do TOC.

Com relação a regiões nas quais não se previa *a priori* a presença de anormalidades volumétricas nos compartimentos de substância cinzenta e branca no grupo com TOC, os dois métodos de VBM se mostraram relativamente equiparáveis em sua sensibilidade. Assim sendo, não se confirmou a hipótese de que o VBM padrão estaria sujeito a maior risco de achados falso-positivos em áreas de substância cinzenta ou branca em comparação com o VBM otimizado.

Em relação ao objetivo de verificar as similaridades e diferenças nos padrões de resultados obtidos entre os métodos de VBM (para o

compartimento de substância cinzenta) e o método de ROIs, os resultados obtidos confirmaram a hipótese de que as duas técnicas são relativamente equiparáveis para a avaliação volumétrica de regiões subcorticais (gânglios da base, tálamo e ventrículos laterais).

Por fim, verificou-se que os métodos de VBM padrão e otimizado são ambos sujeitos a artefatos causados por achados de dilatação ventricular em amostra de pacientes com TOC, o que permite prever que tais artefatos devem aparecer em análises envolvendo outros grupos de pacientes que apresentem anormalidades proeminentes em ventrículos laterais. Os resultados obtidos confirmaram a hipótese de que a influência de dilatação ventricular sobre resultados detectados no compartimento de substância cinzenta é consideravelmente menor quando se usa o VBM otimizado, devendo ser este o método preferencial para estudos em populações nas quais pode haver alargamento de ventrículos.

Anexo

Listagem completa dos resultados das análises de VBM, sem levar em conta hipóteses *a priori* de presença de anormalidades volumétricas no grupo de pacientes com TOC (Tabelas A.1 a A.8).

Tabela A.1 - Focos de redução de substância cinzenta em pacientes com TOC (n=19) em comparação com controles assintomáticos (n=15)

VBM otimizado								VBM padrão							
Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ score	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido	Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ score	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido
		x	y	z						x	y	z			
Giros supramarginal e angular direitos (BA 39/40)	354	44	-50	45	4,73	<0,001	0,052	Giros temporais médio e superior; giro angular; giro supramarginal; córtex parietal inferior e superior (BA 39/40)	944	-50	-48	45	4,98	<0,001	0,024
Giro frontal superior direito (BA10)	76	14	63	23	4,23	<0,001	0,301	Giros supramarginal e angular direitos (BA 39/40)							
								Giro frontal médio direito (BA 06)	99	26	1	57	3,97	<0,001	0,669
Giros frontais inferior e médio direitos (BA 46)	32	42	32	13	3,85	<0,001	0,727	Giros frontais inferior e médio direitos (BA 46)	41	42	32	11	4,04	<0,001	0,591
								Giros frontais medial e superior (BA 08)	44	6	51	45	3,85	<0,001	0,801
Giros frontais medial e superior; giro do cíngulo anterior esquerdos (BA 09/32)	39	-18	38	22	3,82	<0,001	0,756								

continua

Tabela A.1 - Focos de redução de substância cinzenta em pacientes com TOC (n=19) em comparação com controles assintomáticos (n=15) (continuação)

VBM otimizado							VBM padrão								
Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ escore	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido	Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ escore	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido
		x	y	z						x	y	z			
Córtex parietal inferior esquerdo	77	-42	-48	47	3,73	<0,001	0,846	Giros temporais superior e médio; giro occipital superior; giro supramarginal; giro angular; precúneo e córtex parietal inferior (BA 19/39/40)	189	-55	-55	27	3,74	<0,001	0,898
Precúneo direito (BA 19)	33	34	-76	37	3,68	<0,001	0,887								
Giro frontal médio (BA06)	61	30	9	59	3,50	<0,001	0,973	Córtex parietal inferior e giro pós-central direitos (BA 02/40)	71	54	-32	53	3,69	<0,001	0,931
Giros frontais inferior e médio esquerdos (BA 09)	48	-46	9	31	3,42	<0,001	0,990	Giro frontal inferior esquerdo (BA09)	33	-46	9	27	3,56	<0,001	0,979

¹ Os números entre parênteses correspondem à Área de Brodmann (*Brodman areas*, BA).

² Número de voxels contíguos que ultrapassaram o limite inicial de p<0,001 (não corrigido) nos mapas estatísticos.

³ Coordenadas de Talairach e Tournoux (1998) do voxel de máxima significância estatística dentro de cada *cluster*.

⁴ Valor do Escore Z para o voxel de maior significância estatística dentro do *cluster*.

⁵ Significância estatística sem correção para comparações múltiplas.

⁶ Significância estatística depois de correção para comparações múltiplas; inferências foram realizadas ao nível dos voxels individualmente (*family-wise error correction*, FWE) (Friston et al., 1996).

Tabela A.2 - Focos de aumento de substância cinzenta em pacientes com TOC (n=19) em comparação com controles assintomáticos (n=15)

VBM otimizado								VBM padrão							
Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ score	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido	Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ score	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido
		x	y	z						x	y	z			
Córtex orbitofrontal posterior e ínsula anterior esquerdos (BA 13/47)	237	-26	27	-3	4,75	<0,001	0,049								
Giro parahipocampal e uncus esquerdos (BA 20/28/35/36)	363	-26	-22	-16	4,33	<0,001	0,223								
Córtex parietal inferior e ínsula direitos (BA 13)	46	44	-40	24	3,95	<0,001	0,609	Ínsula e córtex parietal inferior direitos (BA 13)	63	42	-40	24	4,07	<0,001	0,556
Giros temporais superior e médio esquerdos (BA 19/22)	52	-32	-57	18	3,95	<0,001	0,610	Giros temporais médio e superior esquerdos (BA 19/22)	43	-32	-57	16	3,71	<0,001	0,922
								Giros frontais médio esquerdos (BA 09)	56	-26	21	34	3,68	<0,001	0,936
								Giros parahipocampal e fusiforme direitos (BA 20)	23	38	-15	-23	3,63	<0,001	0,958

continua

Tabela A.2 - Focos de aumento de substância cinzenta em pacientes com TOC (n=19) em comparação com controles assintomáticos (n=15) (continuação)

VBM otimizado								VBM padrão							
Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ score	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido	Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ score	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido
		x	y	z						x	y	z			
Giros parahipocampal e fusiforme direitos (BA 36)	28	40	-34	-12	3,46	<0,001	0,983	Giros temporal inferior e fusiforme esquerdos (BA 20)	46	-51	-21	-26	3,55	<0,001	0,981
Culmen cerebelar	28	8	-40	-18	3,36	<0,001	0,995	Culmen e giro lingual cerebelar bilateral	55	-4	-44	-16	3,33	<0,001	0,999

¹ Os números entre parênteses correspondem à Área de Brodmann (*Brodman areas*, BA).

² Número de voxels contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p < 0,001$ (não corrigido) nos mapas estatísticos.

³ Coordenadas de Talairach e Tournoux (1998) do voxel de máxima significância estatística dentro de cada *cluster*.

⁴ Valor do Escore Z para o voxel de maior significância estatística dentro do *cluster*.

⁵ Significância estatística sem correção para comparações múltiplas.

⁶ Significância estatística depois de correção para comparações múltiplas; inferências foram realizadas ao nível dos voxels individualmente (*family-wise error correction*, FWE) (Friston et al., 1996).

Tabela A.3 - Focos de correlação inversa entre a gravidade de sintomas obsessivo-compulsivos pela escala YBOCS e o volume de substância cinzenta dos pacientes com TOC (n=19)

VBM otimizado								VBM padrão							
Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ score	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido	Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ score	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido
		x	y	z						x	y	z			
Corpo caloso esquerdo; ventrículo lateral esquerdo; adjacência do tálamo medial e giro do cíngulo posterior esquerdos	254	-12	-22	25	3,76	<0,001	0,938	Caudado bilateral; giro do cíngulo bilateral; fórnix; terceiro ventrículo; corpo caloso bilateral; ventrículo lateral bilateral; tálamo bilateral; terceiro ventrículo bilateral; hipocampo bilateral; giro fusiforme esquerdo; putamen esquerdo; giro lingual esquerdo; giro parahipocampal esquerdo; cíngulo posterior esquerdo; culmen cerebelar esquerdo (BA 19/20/27/29/30/36/37)	4587	-6	-9	21	4,97	<0,001	0,054
Extra-cerebral direito	44	16	-84	-45	4,25	<0,001	0,461	Extra-cerebral, giro piramidal cerebelar e córtex semi-lunar inferior direitos	270	18	-82	-46	4,66	<0,001	0,166
Tonsila; culmen e giro dentado cerebelar esquerdos	252	-22	-50	-23	4,23	<0,001	0,484	Culmen/giro dentado cerebelar esquerdos	42	-18	-48	-28	3,38	<0,001	1,000

continua

Tabela A.3 - Focos de correlação inversa entre a gravidade de sintomas obsessivo-compulsivos pela escala YBOCS e o volume de substância cinzenta dos pacientes com TOC (n=19) (continuação)

VBM otimizado								VBM padrão							
Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ score	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido	Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ score	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido
		x	y	z						x	y	z			
Tonsila, culmen e giro dentado cerebelar direitos	205	26	-50	-26	3,95	<0,001	0,796	Tonsila, culmen e giro dentado cerebelar direitos	202	20	-48	-30	3,90	<0,001	0,904
								Terceiro ventrículo e região inter-hemisférica esquerdos	190	-4	-33	-5	4,30	<0,001	0,474
								Giros frontais inferior e médio direitos (BA 46)	47	51	41	5	4,22	<0,001	0,571
								Giro occipital superior e Precúneo esquerdos (BA19)	66	-36	-84	39	3,79	<0,001	0,957
								Giros frontais inferior e médio esquerdos (BA46)	22	-53	43	13	3,68	<0,001	0,987
								Giro frontal superior bilateral (BA 06)	27	-2	26	61	3,60	<0,001	0,996
								Giro pré-central direito	22	71	-1	26	3,54	<0,001	0,998
Ventrículo lateral; caudado e corpo caloso direitos	34	6	16	10	3,38	<0,001	1,000	Giro pré-central e insula direitos (BA 13/44)	22	44	-7	12	3,35	<0,001	1,000

¹ Os números entre parênteses correspondem à Área de Brodmann (*Brodmann areas*, BA).

² Número de voxels contíguos que ultrapassaram o limite inicial de p<0,001 (não corrigido) nos mapas estatísticos.

³ Coordenadas de Talairach e Tournoux (1998) do voxel de máxima significância estatística dentro de cada *cluster*.

⁴ Valor do Escore Z para o voxel de maior significância estatística dentro do *cluster*.

⁵ Significância estatística sem correção para comparações múltiplas.

⁶ Significância estatística depois de correção para comparações múltiplas; inferências foram realizadas ao nível dos voxels individualmente (*family-wise error correction*, FWE) (Friston et al., 1996).

Tabela A.4 - Focos de correlação direta entre a gravidade de sintomas obsessivo-compulsivos pela escala YBOCS e o volume de substância cinzenta dos pacientes com TOC (n=19)

VBM otimizado								VBM padrão							
Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ score	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido	Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ score	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido
		x	y	z						x	y	z			
Córtex parietal inferior e giro pós-central direitos (BA 02/40)	85	50	-29	33	4,56	<0,001	0,190	Córtex parietal inferior e giro pós-central direitos (BA 02/40)	49	50	-29	33	4,57	<0,001	0,222
Córtex parietal inferior e giro supramarginal esquerdos (BA 40)	137	-42	-33	33	4,14	<0,001	0,588	Córtex parietal inferior e giro supramarginal esquerdos (BA40)	147	-40	-35	31	4,29	<0,001	0,485
Giro pré e pós-central direitos (BA 03/04)	63	40	-17	40	4,11	<0,001	0,618	Giros pré- e pós-central direitos (BA 03/04/06)	406	36	-19	40	4,49	<0,001	0,285
Giro pré e pós-central direitos	42	-42	-6	26	3,50	<0,001	0,996	Giros pré- e pós-central direitos (BA 03/04/06)	336	-44	-7	24	4,25	<0,001	0,531
								Giros frontais superior, medial e médio esquerdos (BA10)	115	-24	44	22	3,89	<0,001	0,910
								Giro fusiforme direito (BA 37)	31	36	-57	-11	3,69	<0,001	0,986
								Giros frontais inferior e médio; giro pré-central direitos (BA 06/09)	67	32	9	27	3,68	<0,001	0,986

continua

Tabela A.4 - Focos de correlação direta entre a gravidade de sintomas obsessivo-compulsivos pela escala YBOCS e o volume de substância cinzenta dos pacientes com TOC (n=19) (continuação)

VBM otimizado								VBM padrão							
Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ score	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido	Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ score	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido
		x	y	z						x	y	z			
							Giro fusiforme e declive cerebelar direitos (BA 19)	38	28	-71	-13	3,63	<0,001	0,993	
							Giro frontal superior esquerdo (BA 09)	23	-16	54	27	3,51	<0,001	0,999	
							Giros frontais medial e médio direitos (BA 09)	24	22	24	23	3,50	<0,001	0,999	
Cúneo e Precúneo direitos (BA 18/31)	69	14	-73	20	3,45	<0,001	0,998								
Giros pré- e pós-central esquerdos (BA 03/04)	44	-32	-22	36	3,44	<0,001	0,999								
							Giros frontais superior e médio; giro orbital esquerdos (BA 11)	34	-14	46	-19	3,41	<0,001	1,000	

¹ Os números entre parênteses correspondem à Área de Brodmann (*Brodmann areas*, BA).

² Número de voxels contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p < 0,001$ (não corrigido) nos mapas estatísticos.

³ Coordenadas de Talairach e Tournoux (1998) do voxel de máxima significância estatística dentro de cada *cluster*.

⁴ Valor do Escore Z para o voxel de maior significância estatística dentro do *cluster*.

⁵ Significância estatística sem correção para comparações múltiplas.

⁶ Significância estatística depois de correção para comparações múltiplas; inferências foram realizadas ao nível dos voxels individualmente (*family-wise error correction*, FWE) (Friston et al., 1996).

Tabela A.5 - Focos de redução de substância branca em pacientes com TOC (n=19) em comparação com controles assintomáticos (n=15)

VBM otimizado								VBM padrão							
Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ escore	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido	Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ escore	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido
		x	y	z						x	y	z			
Giros frontais superior e médio direitos (BA 16)	107	26	12	49	4,01	<0,001	0,449	Giros frontais superior e médio direitos (BA 06)	35	28	14	53	3,71	<0,001	0,885
Giro parahipocampal, hipocampo e ventrículo lateral esquerdos (BA 19)	73	-32	-37	-2	3,94	<0,001	0,523	Giro parahipocampal, hipocampo e ventrículo lateral esquerdos	24	-36	-18	-16	3,48	<0,001	0,985
Córtex parietal inferior e giro pós-central direitos (BA 40)	83	50	-31	48	3,93	<0,001	0,532								
Giro temporal médio e giro temporal superior esquerdos (BA 19/22/39)	39	-42	-57	18	3,85	<0,001	0,629								
Giro temporal transversal, giro temporal superior, ínsula e córtex parietal inferior direitos (BA 13/41)	224	34	-32	13	3,81	<0,001	0,677								

continua

Tabela A.5 - Focos de redução de substância branca em pacientes com TOC (n=19) em comparação com controles assintomáticos (n=15) (continuação)

VBM otimizado								VBM padrão							
Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ escore	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido	Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ escore	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido
		x	y	z						x	y	z			
Giro frontal médio e giro pré-central esquerdos (BA 08/09)	38	-28	21	36	3,60	<0,001	0,877	Córtex parietal inferior direito	35	44	-40	24	3,64	<0,001	0,930
Tálamo e caudado direitos	20	18	-15	19	3,52	<0,001	0,928	Precúneo direito (BA 07)	37	22	-55	25	3,55	<0,001	0,970

¹ Os números entre parênteses correspondem à Área de Brodmann (*Brodmann areas*, BA).

² Número de voxels contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p < 0,001$ (não corrigido) nos mapas estatísticos.

³ Coordenadas de Talairach e Tournoux (1998) do voxel de máxima significância estatística dentro de cada *cluster*.

⁴ Valor do Escore Z para o voxel de maior significância estatística dentro do *cluster*.

⁵ Significância estatística sem correção para comparações múltiplas.

⁶ Significância estatística depois de correção para comparações múltiplas; inferências foram realizadas ao nível dos voxels individualmente (*family-wise error correction*, FWE) (Friston et al., 1996).

Tabela A.6 - Focos de aumento de substância branca em pacientes com TOC (n=19) em comparação com controles assintomáticos (n=15)

VBM otimizado								VBM padrão							
Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ escore	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido	Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ escore	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido
		x	y	z						x	y	z			
Córtex parietal inferior direito (BA40)	100	44	-50	47	3,95	<0,001	0,513	Córtex parietal inferior direito (BA 40)	42	48	-50	47	3,46	<0,001	0,989
Giros frontais inferior e médio; giro supramarginal direitos (BA 46)	25	44	32	13	3,40	<0,001	0,977	Giros frontais inferior e médio direitos (BA46)	93	42	32	11	4,46	<0,001	0,154
Giros occipital e temporal médios direitos (BA 19)	21	44	-79	21	3,32	<0,001	0,990								
Giro temporal superior; giro frontal inferior direitos (BA 13/38)	49	32	7	-14	3,29	<0,001	0,993	Giros temporais superior/inferior e parahipocampal direitos (BA 13/38/47)	58	37	7	-15	3,72	<0,001	0,878
								Giros frontal medial e cíngulo anterior esquerdos (BA 09/32)	31	-16	34	24	3,81	<0,001	0,800
								Giro frontal inferior esquerdo	34	-40	41	0	3,47	<0,001	0,987
								Giro temporal superior esquerdo (BA13/21)	46	-44	-3	-13	3,38	<0,001	0,996

¹ Os números entre parênteses correspondem à Área de Brodmann (*Brodmann areas*, BA).

² Número de voxels contíguos que ultrapassaram o limite inicial de p<0,001 (não corrigido) nos mapas estatísticos.

³ Coordenadas de Talairach e Tournoux (1998) do voxel de máxima significância estatística dentro de cada *cluster*.

⁴ Valor do Escore Z para o voxel de maior significância estatística dentro do *cluster*.

⁵ Significância estatística sem correção para comparações múltiplas.

⁶ Significância estatística depois de correção para comparações múltiplas; inferências foram realizadas ao nível dos voxels individualmente (*family-wise error correction*, FWE) (Friston et al., 1996).

Tabela A.7 - Focos de correlação inversa entre a gravidade de sintomas obsessivo-compulsivos pela escala YBOCS e o volume de substância branca dos pacientes com TOC (n=19)

VBM otimizado								VBM padrão							
Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ escore	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido	Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ escore	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido
		x	y	z						x	y	z			
Tálamo esquerdo; ventrículo lateral e corpo caloso bilateral	235	-10	-16	21	4,36	<0,001	0,283	Tálamo, ventrículo lateral e corpo caloso esquerdos	93	-10	-15	19	3,75	<0,001	0,953
								Córtex parietal inferior e giro pós-central direitos (BA 02/40)	29	51	-29	35	4,42	<0,001	0,311
Giros do cíngulo e frontal médio direitos (BA 06/24)	92	4	-6	44	4,05	<0,001	0,600								
								Giro pré-central direito (BA 06)	146	40	-8	32	3,98	<0,001	0,795
Caudado direito e ventrículo lateral bilateral	162	10	18	5	3,93	<0,001	0,741								
								Córtex parietal inferior e giro supramarginal esquerdos (BA 40)	53	-40	-35	33	3,84	<0,001	0,907
								Giros pré- e pós-central esquerdos	41	-40	-6	26	3,66	<0,001	0,981

continua

Tabela A.7 - Focos de correlação inversa entre a gravidade de sintomas obsessivo-compulsivos pela escala YBOCS e o volume de substância branca dos pacientes com TOC (n=19) (continuação)

VBM otimizado							VBM padrão								
Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ escore	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido	Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ escore	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido
		x	y	z						x	y	z			
Giro paracentral e giro frontal medial direitos (BA 05/06)	56	2	-26	53	3,49	<0,001	0,991								
								Giros pré- e pós-central direitos (BA 03/04)	33	32	-23	42	3,48	<0,001	0,998
Giro frontal medial e giro frontal superior esquerdos (BA 06)	28	8	-7	63	3,42	<0,001	0,996								
Cíngulo posterior, cúneo e precúneo (BA31)	62	8	-67	20	3,36	<0,001	0,998	Precúneo (BA31)	24	6	-67	18	3,31	<0,001	1,000

¹ Os números entre parênteses correspondem à Área de Brodmann (*Brodman areas*, BA).

² Número de voxels contíguos que ultrapassaram o limite inicial de p<0,001 (não corrigido) nos mapas estatísticos.

³ Coordenadas de Talairach e Tournoux (1998) do voxel de máxima significância estatística dentro de cada *cluster*.

⁴ Valor do Escore Z para o voxel de maior significância estatística dentro do *cluster*.

⁵ Significância estatística sem correção para comparações múltiplas.

⁶ Significância estatística depois de correção para comparações múltiplas; inferências foram realizadas ao nível dos voxels individualmente (*family-wise error correction*, FWE) (Friston et al., 1996).

Tabela A.8 - Focos de correlação direta entre a gravidade de sintomas obsessivo-compulsivos pela escala YBOCS e o volume de substância branca dos pacientes com TOC (n=19)

VBM otimizado							VBM padrão								
Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ score	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido	Estrutura cerebral ¹	Número de Voxels ²	Coordenadas ³			Z ⁴ score	P ⁵ Não corrigido	P ⁶ Corrigido
		x	y	z						x	y	z			
Corona radiata e porção anterior da cápsula interna	691	-24	7	20	4,34	<0,001	0,297								
Corona radiata direita	366	24	3	20	4,30	<0,001	0,341								
Culmen cerebelar direito	193	26	-44	-25	3,92	<0,001	0,753								
Culmen, giro dentado e giro piramidal cerebelar esquerdos	131	-28	-52	-26	3,50	<0,001	0,989	Culmen cerebelar esquerdo	25	-26	-51	-16	3,72	<0,001	0,966
								Tonsila e culmen cerebelar esquerdos	69	-24	-36	-30	3,68	<0,001	0,977
								Giro frontal medial direito (BA 10)	36	6	53	3	3,67	<0,001	0,980
								Giro pós central direito (BA 03/04)	31	16	-33	75	3,50	<0,001	0,998
Hipotálamo e globo pálido medial (BA 25)	26	6	-2	-3	3,49	<0,001	0,990	Giro do cíngulo direito (BA 32)	36	8	10	42	3,39	<0,001	1,000

¹ Os números entre parênteses correspondem à Área de Brodmann (*Brodmann areas*, BA).

² Número de voxels contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p < 0,001$ (não corrigido) nos mapas estatísticos.

³ Coordenadas de Talairach e Tournoux (1998) do voxel de máxima significância estatística dentro de cada *cluster*.

⁴ Valor do Escore Z para o voxel de maior significância estatística dentro do *cluster*.

⁵ Significância estatística sem correção para comparações múltiplas.

⁶ Significância estatística depois de correção para comparações múltiplas; inferências foram realizadas ao nível dos voxels individualmente (*family-wise error correction*, FWE) (Friston et al., 1996).

6. Referências bibliográficas

Alexander GE, DeLong MR, Strick PL. Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu Rev Neurosci.* 1986;9:357-81.

Amaro Jr E, Yamashita H. Aspectos básicos de tomografia computadorizada e ressonância magnética. *Rev Bras de Psiquiatria.* 2001;23:2-3.

American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders.* 4th ed. Washington (DC): American Psychiatric Press; 1994.

Ashburner J, Friston KJ. Voxel-Based Morphometry – The Methods. *Neuroimage.* 2000;11:805-21.

Ashburner J, Friston KJ. Why Voxel-Based Morphometry Should Be Used. *Neuroimage.* 2001;14(6):1238-43.

Baldeweg T, Hogan AM, Saunders DE, Telfer P, Gadian DG, Vargha-Khadem F, Kirkham FJ. Detecting white matter injury in sickle cell disease using voxel-based morphometry. *Ann Neurol.* 2006;59(4):662-72.

Baron JC, Chetelat G, Desgranges B, Perchey G, Landeau B, de la Sayette V, Eustache F. In vivo mapping of gray matter loss with voxel-based morphometry in mild Alzheimer's disease. *Neuroimage.* 2001;14(2):298-309.

Baxter L, Schwartz J, Mazziotta J, Phelps ME, Pahl JJ, Guze BH, Fairbanks L. Cerebral glucose metabolic rates in nondepressed patients with obsessive-compulsive disorder. *Am J Psychiatry.* 1988;145(12):1560-3.

Beck AT, Ward CH, Mendleson M, Mock J, Erbaugh J. An Inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry.* 1961;4:561-71.

Bookstein FL. "Voxel-based morphometry" should not be used with imperfectly registered images. *Neuroimage.* 2001;14(6):1454-62.

Buchsbaum MS, Yang S, Hazlett E, Siegel BV Jr, Germans M, Haznedar M, O'Flaithbheartaigh S, Wei T, Silverman J, Siever LJ. Ventricular volume and asymmetry in schizotypal personality disorder and schizophrenia assessed with magnetic resonance imaging. *Schizophr Res.* 1997;27(1):45-53.

Busatto GF, Zamignan DR, Buchpiguel CA, Garrido GE, Glabus MF, Rocha ET, Maia AF, Rosario-Campos MC, Campi Castro C, Furuie SS, Gutierrez MA, McGuire PK, Miguel EC. A voxel-based investigation of regional cerebral blood flow abnormalities in obsessive-compulsive disorder using single

photon emission computed tomography (SPECT). *Psychiatry Res.* 2000;99(1):15-27.

Brambilla P, Harenski K, Nicoletti MA, Mallinger AG, Frank E, Kupfer DJ, Keshavan MS, Soares JC. Anatomical MRI study of basal ganglia in bipolar disorder patients. *Psychiatry Res.* 2001;106(2):65-80.

Breiter HC, Rauch SL, Kwong KK, Baker JR, Weisskoff RM, Kennedy DN, Kendrick AD, Davis TL, Jiang A, Cohen MS, Stern CE, Belliveau JW, Baer L, O'Sullivan RL, Savage CR, Jenike MA, Rosen BR. Functional magnetic resonance imaging of symptom provocation in obsessive compulsive disorder. *Arch Gen Psychiatry.* 1996;53(7):595-606.

Bruggemann JM, Wilke M, Som SS, Bye AM, Bleasel A, Lawson JA. Voxel-based morphometry in the detection of dysplasia and neoplasia in childhood epilepsy: combined grey/white matter analysis augments detection. *Epilepsy Res.* 2007;77(2-3):93-101.

Caetano SC, Sassi R, Brambilla P, Harenski K, Nicoletti M, Mallinger AG, Frank E, Kupfer DJ, Keshavan MS, Soares JC. MRI study of thalamic volumes in bipolar and unipolar patients and healthy individuals. *Psychiatry Res.* 2001;108(3):161-8.

Cannistraro PA, Makris N, Howard JD, Wedig MM, Hodge SM, Wilhelm S, Kennedy DN, Rauch SL. A diffusion tensor imaging study of white matter in obsessive-compulsive disorder. *Depress Anxiety.* 2007;24(6):440-6.

Carey ME, Haut MW, Reminger SL, Hutter JJ, Theilmann R, Kaemingk KL. Reduced frontal white matter volume in long-term childhood leukemia survivors: a voxel-based morphometry study. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2008;29(4):792-7.

Chaim TM, Duran FL, Uchida RR, Périco CA, de Castro CC, Busatto GF. Volumetric reduction of the corpus callosum in Alzheimer's disease in vivo as assessed with voxel-based morphometry. *Psychiatry Res.* 2007;154(1):59-68.

Choi JS, Kang DH, Kim JJ, Ha TH, Lee JM, Youn T, Kim IY, Kim SI, Kwon JS. Left anterior subregion of orbitofrontal cortex volume reduction and impaired organizational strategies in obsessive-compulsive disorder. *J. Psychiatr Res.* 2004;38(2):193-9.

Crippa JA, Lacerda AL, Amaro E, Busatto Filho G, Zuardi AW, Bressan RA. Brain effects of cannabis: neuroimaging findings. *Rev Bras Psiquiatr.* 2005;27(1):70-8.

Dancey CP, Reidy J. Estatística sem matemática para psicologia. Artmed, 2006.

Davis KL, Buchsbaum MS, Shihabuddin L, Spiegel-Cohen J, Metzger M, Frecska E, Keefe RS, Powchik P. Ventricular enlargement in poor-outcome schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 1998;43(11):783-93.

Devinsky O, Morrell MJ, Vogt BA. Contributions of anterior cingulate cortex to behavior. *Brain*. 1995;118:279-306.

Douaud G, Gaura V, Ribeiro MJ, Lethimonnier F, Maroy R, Verny C, Krystkowiak P, Damier P, Bachoud-Levi AC, Hantraye P, Remy P. Distribution of grey matter atrophy in Huntington's disease patients: a combined ROI-based and voxel-based morphometric study. *Neuroimage*. 2006;32(4):1562-75.

Duran FL, Zampieri FG, Bottino CC, Buchpiguel CA, Busatto GF. Voxel-based investigations of regional cerebral blood flow abnormalities in Alzheimer's disease using a single-detector SPECT system. *Clinics*. 2007;62(4):377-84.

Elkis H, Friedman L, Wise A, Meltzer HY. Meta-analyses of studies of ventricular enlargement and cortisol sulcal prominence in mood disorders. Comparisons with controls or patients with schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 1995;52(9):735-46.

First MB, Spitzer RL, Williams JBW, Gibbon M. *Structured Clinical Interview for DSM-IV – Patient Edition (SCID-I/P)*. Washington (DC): American Psychiatric Press; 1995.

Frackowiak RS, Friston KJ, Frith CD, Dolan RJ, Mazziotta JC. *Human Brain Function*. Academic Press; 1997.

Friston KJ, Holmes AP, Worsley K, Poline JB, Frith CD, Frackowiak RS. Statistic parametric maps in functional imaging: A general linear approach. *Hum Brain Mapp*. 1995;2:189–210.

Friston KJ, Holmes A, Poline JB, Price CJ, Frith CD. Detecting activations in PET and fMRI: levels of inference and power. *Neuroimage*. 1996;4:223-35.

Gaser C, Nenadic I, Buchsbaum BR, Hazlett EA, Buchsbaum MS. Ventricular enlargement in schizophrenia related to volume reduction of the thalamus, striatum, and superior temporal cortex. *Am J Psychiatry*. 2004;161(1):154-6.

Garrido GEJ, Furuie SS, Buchpiguel CA, Bottino CMC, Almeida OP, Cid CG, Camargo CH, Castro CC, Glabus MF, Busatto GF. Relation between medial temporal atrophy and functional brain activity during memory processing in Alzheimer's disease: a combined MRI and SPECT study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2002;73(5):508–16.

Giedd JN, Rapoport JL, Garvey MA, Perimutter S, Swedo SE. MRI assessment of children with obsessive-compulsive disorder or tics associated with streptococcal infection. *Am J Psychiatry*. 2000;157(2):281-3.

Giménez M, Junqué C, Narberhaus A, Bargalló N, Botet F, Mercader JM. White matter volume and concentration reductions in adolescents with history of very preterm birth: a voxel-based morphometry study. *Neuroimage*. 2006;32(4):1485-98.

Gonzalez RC, Woods RE. *Processamento de Imagens Digitais*. Edgard Blücher, 2000.

Good CD, Johnsrude IS, Ashburner J, Henson RNA, Friston KJ, Frackowiak RSJ. A Voxel-Based Morphometry Study of Ageing in 465 Normal Adult Human Brains. *Neuroimage*. 2001;14:21-36.

Goodman WK, Price LH, Rasmussen AS, Mazure C, Fleischmann RL, Hill CL, Heninger GR, Charney DS. The Yale-Brown Obsessive-Compulsive Scale I: development, use and reliability. *Arch Gen Psychiatry*. 1989;46(11):1006-11. Tradução de: Asbahr FR, Lotufo-Neto F, Bruzzi, M, Rodrigues LR, Turecki GX, Lima MA, Del Porto JÁ, Gentil V. "Programa de Distúrbio Obsessivo-Compulsivo do Ambulatório de Ansiedade do Instituto de Psiquiatria da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e do Departamento de Psiquiatria e Psicologia Médica da Escola Paulista de Medicina" - São Paulo, 1992.

Giuliani NR, Calhoun VD, Pearlson GD, Francis A, Buchanan RW. Voxel-based morphometry versus region of interest: a comparison of two methods for analyzing gray matter differences in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2005;74(2-3):135-47.

Hauser P, Matochik J, Altshuler LL, Denicoff KD, Conrad A, Li X, Post RM. MRI-based measurements of temporal lobe and ventricular structures in patients with bipolar I and bipolar II disorders. *J Affect Disord*. 2000;60(1):25-32.

Honea R, Crow TJ, Passingham D, Mackay CE. Regional deficits in brain volume in schizophrenia: a meta-analysis of voxel-based morphometry studies. *Am J Psychiatry*. 2005;162(12):2233-45.

Jenike MA, Breiter HC, Baer L, Kennedy DN, Savage CR, Olivares MJ. Cerebral structural abnormalities in obsessive-compulsive disorder. A quantitative morphometric magnetic resonance imaging study. *Arch Gen Psychiatry*. 1996;53(7):625-32.

Job DE, Whalley HC, McConnell S, Glabus M, Johnstone EC, Lawrie SM. Structural gray matter differences between first-episode schizophrenics and

normal controls using voxel-based morphometry. *NeuroImage*. 2002;17(2):880-9.

Keller SS, Roberts N. Voxel-based morphometry of temporal lobe epilepsy: an introduction and review of the literature. *Epilepsia*. 2008;49(5):741-57.

Kennedy KM, Erickson KI, Rodrigue KM, Voss MW, Colcombe SJ, Kramer AF, Acker JD, Raz N. Age-related differences in regional brain volumes: A comparison of optimized voxel-based morphometry to manual volumetry. *Neurobiol Aging*. In press 2008.

Kim JJ, Lee MC, Kim J, Kim IY, Kim SI, Han MH, Chang KH, Kwon JS. Grey matter abnormalities in obsessive-compulsive disorder: statistical parametric mapping of segmented magnetic resonance images. *Br J Psychiatry*. 2001;179:330-4.

Kubicki M, Shenton ME, Salisbury DF, Hirayasu Y, Kasai K, Kikinis R, Jolesz FA, McCarley RW. Voxel-based morphometric analysis of gray matter in first episode schizophrenia. *Neuroimage*. 2002;17(4):1711-9.

Kurokawa K, Nakamura K, Sumiyoshi, Hagino H, Yotsutsuji, Yamashita I, Suzuki M, Matsui M, Kurachi M. Ventricular enlargement in schizophrenia spectrum patients with prodromal symptoms of obsessive-compulsive disorder. *Psychiatry Res*. 2000;99(2):83-91.

Kwon JS, Shin YW, Kim CW, Kim YI, Youn T, Han MH, Chang KH, Kim JJ. Similarity and disparity of obsessive-compulsive disorder and schizophrenia in MR volumetric abnormalities of the hippocampus-amygdala complex. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2003;74(7):962-4.

Lacerda AL, Dalgalarondo P, Caetano D, Camargo EE, Etchebehere EC, Soares JC. Elevated thalamic and prefrontal regional cerebral blood flow in obsessive-compulsive disorder: a SPECT study. *Psychiatry Res*. 2003;123(2):125-34.

Lawrie SM, Hall J, McIntosh AM, Cunningham-Owens DG, Johnstone EC. Neuroimaging and molecular genetics of schizophrenia: pathophysiological advances and therapeutic potential. *Br J Pharmacol*. 2008;153(Suppl1):120-4.

Leckman JF, Riddle MA, Hardin MT, Ort SI, Swartz KL, Stevenson J, Cohen DJ. The Yale Global Tic Severity Scale: initial testing of a clinician-rated scale of tic severity. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 1989;28:566-73.

Li S, Pu F, Shi F, Xie S, Wang Y, Jiang T. Regional white matter decreases in Alzheimer's disease using optimized voxel-based morphometry. *Acta Radiol*. 2008;49(1):84-90.

Liotti M, Mayberg HS, Brannan SK, McGinnis S, Jerabek P, Fox PT. Differential limbic-cortical correlates of sadness and anxiety in healthy subjects: implications for affective disorders. *Biol Psychiatry*. 2000;48(1):30-42.

Lopes AC, de Mathis ME, Canteras MM, Salvajoli JV, Del Porto JA, Miguel EC. Update on neurosurgical treatment for obsessive compulsive disorder. *Rev Bras Psiquiatr*. 2004;26(1):62-6.

Mataix-Cols D, Wooderson S, Lawrence N, Brammer MJ, Speckens A, Phillips ML. Distinct neural correlates of washing, checking, and hoarding symptom dimensions in obsessive-compulsive disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 2004;61(6):564-76.

Mathalon DH, Sullivan EV, Lim KO, Pfefferbaum A. Progressive brain volume changes and the clinical course of schizophrenia in men: a longitudinal magnetic resonance imaging study. *Arch Gen Psychiatry*. 2001;58(2):148-57.

Mazziotta JC, Toga AW, Evans A, Fox P, Lancaster J. A probabilistic atlas of the human brain: theory and rationale for its development. The International Consortium for Brain Mapping (ICBM). *Neuroimage*. 1995;2(2):89-101.

McGuire PK, Bench CJ, Frith CD, Marks IM, Frackowiak RS, Dolan RJ. Functional anatomy of obsessive-compulsive phenomena. *Br J Psychiatry*. 1994;164(4):459-68.

McMillan AB, Hermann BP, Johnson SC, Hansen RR, Seidenberg M, Meyerand ME. Voxel-based morphometry of unilateral temporal lobe epilepsy reveals abnormalities in cerebral white matter. *Neuroimage*. 2004;23(1):167-74.

Menzies L, Chamberlain SR, Laird AR, Thelen SM, Sahakian BJ, Bullmore ET. Integrating evidence from neuroimaging and neuropsychological studies of obsessive-compulsive disorder: The orbitofronto-striatal model revisited. *Neurosci Biobehav Rev*. 2008;32(3):525-49.

Moorhead TW, Job DE, Whalley HC, Sanderson TL, Johnstone EC, Lawrie SM. Voxel-based morphometry of comorbid schizophrenia and learning disability: analyses in normalized and native spaces using parametric and nonparametric statistical methods. *Neuroimage*. 2004;22(1):188-202.

Della Nave R, Ginestroni CT, Salvatore E, Bartolomei I, Salvi F, Dotti MT, Michele G, Piacentini S, Mascalchi M. Brain white matter tracts degeneration in Friedreich ataxia. An in vivo MRI study using tract-based spatial statistics and voxel-based morphometry. *Neuroimage*. 2008;40(1):19-25.

Nordahl TE, Benkelfat C, Semple WE, Gross M, King AC, Cohen RM. Cerebral glucose metabolic rates in obsessive compulsive disorder. *Neuropsychopharmacology*. 1998;2(1):23-8.

Nuttin B, Cosyns P, Demeulemeester H, Gybels J, Meyerson B. Electrical stimulation in anterior limbs of internal capsules in patients with obsessive-compulsive disorder. *Lancet*. 1999;354(9189):1526.

Nuttin B, Gybels J, Cosyns P, Gabriels L, Meyerson B, Andreewitch S, Rasmussen SA, Greenberg B, Friehs G, Rezai AR, Montgomery E, Malone D, Fins JJ. Deep brain stimulation for psychiatric disorders. *Neurosurg Clin N Am*. 2003;14(2):xv-xvi.

Ongur D, Ferry AT, Price JL. Architectonic subdivision of the human orbital and medial prefrontal cortex. *J Comp Neurol*. 2003;460(3):425-49.

Papiol S, Molina V, Desco M, Rosa A, Reig S, Gispert JD, Sanz J, Palomo T, Fañanás L. Ventricular enlargement in schizophrenia is associated with a genetic polymorphism at the interleukin-1 receptor antagonist gene. *Neuroimage*. 2005;27(4):1002-6.

Peterson BS, Leckman JF, Tucker D, Scahill L, Staib L, Zhang H, King R, Cohen DJ, Gore JC, Lombroso P. Preliminary findings of antistreptococcal antibody titers and basal ganglia volumes in tic, obsessive-compulsive, and attention deficit/hyperactivity disorders. *Arch Gen Psychiatry*. 2000;57(4):364-72.

Phillips ML, Marks IM, Senior C, Lythgoe D, O'Dwyer AM, Meehan O, Williams SC, Brammer MJ, Bullmore ET, McGuire PK. A differential neural response in obsessive-compulsive disorder patients with washing compared with checking symptoms to disgust. *Psychol Med*. 2000;30(5):1037-50.

Pujol J, Soriano-Mas C, Alonso P, Cardoner N, Menchon JM, Deus J, Vallejo J. Mapping structural brain alterations in obsessive-compulsive disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 2004;61(7):720-30.

Rauch SL, Jenike MA, Alpert NM, Baer L, Breiter HCR, Savage CR, Fischman AJ. Regional cerebral blood flow measured during symptom provocation in obsessive-compulsive disorder using oxygen 15-labeled carbon dioxide and positron emission tomography. *Arch Gen Psychiatry*. 1994;51(1):62-70.

Rauch SL, Whalen PJ, Dougherty DD, Jenike MA. Neurobiological models of obsessive compulsive disorders. In: Jenike MA, Baer L, Minichiello WE, editors. *Obsessive-Compulsive Disorder*. Practical Management. Boston: Mosby;1998.

Rauch SL, Shin LM, Wright CI. Neuroimaging studies of amygdala function in anxiety disorders. *Ann N Y Acad Sci.* 2003;985:389-410.

Rauch SL, Wedig MM, Wright CI, Martis B, McMullin KG, Shin LM, Cannistraro PA, Wilhelm S. Functional magnetic resonance imaging study of regional brain activation during implicit sequence learning in obsessive-compulsive disorder. *Biol Psychiatry.* 2007;61(3):330-6.

Riffkin J, Yücel M, Maruff P, Wood SJ, Soulsby B, Olver J, Kyrios M, Velakoulis D, Pantelis C. A manual and automated MRI study of anterior cingulate and orbito-frontal cortices, and caudate nucleus in obsessive-compulsive disorder: comparison with healthy controls and patients with schizophrenia. *Psychiatry Res.* 2005;138(2):99-113.

Robinson D, Wu H, Munne RA, Ashtari M, Alvir JM, Lerner G, Koreen A, Cole K, Bogerts B. Reduced caudate nucleus volume in obsessive-compulsive disorder. *Arch Gen Psychiatry.* 1995;52(5):393-8.

Rosenberg DR, Keshavan MS, O'hearn KM, Dick EL, Bagwell WW, Seymour AB, Montrose DM, Pierri JN, Birmaher B. Frontostriatal measurement in treatment-naive children with obsessive-compulsive disorder. *Arch Gen Psychiatry.* 1997;54(9):824-30.

Rosenberg DR, Keshavan MS. Toward a neurodevelopmental model of obsessive-compulsive disorder. *Biol Psychiatry.* 1998;43(9):623-40.

Sallet PC, Elkis H, Alves TM, Oliveira JR, Sassi E, Campi de Castro C, Busatto GF, Gattaz WF. Reduced cortical folding in schizophrenia: an MRI morphometric study. *Am J Psychiatry.* 2003;160(9):1606-13.

Saxena S, Brody AL, Schwartz JM, Baxter LR. Neuroimaging and frontal-subcortical circuitry in obsessive-compulsive disorder. *Br J Psychiatry Suppl.* 1998;35:26-37.

Saxena S, Brody AL, Ho ML, Alborzian S, Ho MK, Maidment KM, Huang SC, Wu HM, Au SC, Baxter LR Jr. et al. Cerebral metabolism in major depression and obsessive-compulsive disorder occurring separately and concurrently. *Biol Psychiatry.* 2001;50(3):159-70.

Scarone S, Colombo C, Livian S, Abbruzzese M, Ronchi P, Locatelli M, Scotti G, Smeraldi E. Increased right caudate nucleus size in obsessive-compulsive disorder: detection with magnetic resonance imaging. *Psychiatry Res.* 1992;45(2):115-21.

Schaufelberger MS, Duran FL, Lappin JM, Scazufca M, Amaro E Jr, Leite CC, de Castro CC, Murray RM, McGuire PK, Menezes PR, Busatto GF. Grey matter abnormalities in Brazilians with first-episode psychosis. *Br J Psychiatry Suppl.* 2007;51:117-22.

Schnack HG, Hulshoff HE, Baaré WF, Viergever MA, Kahn RS. Automatic segmentation of the ventricular system from MR images of the human brain. *Neuroimage*. 2001;14:95-104.

Schneider-Axmann T, Kamer T, Moroni M, Maric N, Tepest R, Dani I, Honer WG, Scherk H, Rietschel M, Schulze TG, Müller DJ, Cordes J, Schönell H, Steinmetz H, Gaebel W, Vogeley K, Kühn KU, Wagner M, Maier W, Träber F, Block W, Schild HH, Falkai P. Relation between cerebrospinal fluid, gray matter and white matter changes in families with schizophrenia. *J Psychiatr Res*. 2006;40(7):646-55.

Shenton ME, Dickey CC, Frumin M, McCarley RW. A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2001;49(1-2):1-52.

Silverman JM, Smith CJ, Guo SL, Mohs RC, Siever LJ, Davis KL. Lateral ventricular enlargement in schizophrenic probands and their siblings with schizophrenia-related disorders. *Biol Psychiatry*. 1998;43:97-106.

Soares JC, Mann JJ. The anatomy of mood disorders--review of structural neuroimaging studies. *Biol Psychiatry*. 1997;41(1):86-106 Review.

Stewart SE, Illmann C, Geller DA, Leckman JF, King R, Pauls DL. A controlled family study of attention-deficit/hyperactivity disorder and Tourette's disorder. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2006;45(11):1354-62.

Styner M, Lieberman JA, McClure RK, Weinberger DR, Jones DW, Gerig G. Morphometric analysis of lateral ventricles in schizophrenia and healthy controls regarding genetic and disease-specific factors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(13):4872-7.

Szeszko PR, Robinson D, Alvir JM, Bilder RM, Lencz T, Ashtari M, Wu H, Bogerts B. Orbital frontal and amygdala volume reductions in obsessive-compulsive disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 1999;56(10):913-9.

Szeszko PR, MacMillan S, McMeniman M, Chen S, Baribault K, Lim KO, Ivey J, Rose M, Banerjee SP, Bhandari R, Moore GJ, Rosenberg DR. Brain structural abnormalities in psychotropic drug-naive pediatric patients with obsessive-compulsive disorder. *Am J Psychiatry*. 2004;161(6):1049-56.

Szeszko PR, Christian C, Macmaster F, Lencs T, Mirza Y, Taormina SP, Easter P, Rose M, Michalopoulou GA, Rosenberg DR. Gray matter structural alterations in psychotropic drug-naive pediatric obsessive-compulsive disorder : an optimized voxel-based morphometry study. *Am J Psychiatry*. In press 2008.

Talairach J, Tournoux P. *Co-Planar Stereotaxic Atlas of the Human Brain*. New York: Thieme Medical Publishers Inc, 1998.

Valente JrAA, Busatto GF. Aspectos neuroradiológicos do transtorno obsessivo-compulsivo: o papel dos gânglios da base. *Rev Bras de Psiquiatria*. 2001;23(2):42-5.

Valente AAJr, Miguel EC, Castro CC, Amaro JrE, Duran FLS, Buchpiguel CA, Chitnis X, McGuire PK, Busatto GF. Regional gray matter abnormalities in obsessive-compulsive disorder: a voxel-base morphometry study. *Biol Psychiatry*. 2005;58(6):479-87.

van den Heuvel OA, Veltman DJ, Groenewegen HJ, Cath DC, van Balkom AJ, van Hartkamp J, Barkhof F, van Dyck R. Frontal-striatal dysfunction during planning in obsessive-compulsive disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 2005;62(3):301-9.

Yotsutsuji T, Saitoh O, Suzuki M, Hagino H, Mori K, Takahashi T, Kurokawa K, Matsui M, Seto H, Kurachi M. Quantification of lateral ventricular subdivisions in schizophrenia by high-resolution three-dimensional magnetic resonance imaging. *Psychiatry Res*. 2003;122(1):1-12.

Yu A, Li K, Li L, Shan B, Wang Y, Xue S. Whole-brain voxel-based morphometry of white matter in medial temporal lobe epilepsy. *Eur J Radiol*. 2008;65(1):86-90, 2008.

Worsley KJ, Marrett S, Neelin P, Vandal AC, Friston KJ, Evans AC. A unified statistical approach for determining significant signals in images of cerebral activation. *Hum Brain Mapp*. 1996;4(1):58-73.

Wright IC, McGuire PK, Poline JB, Traverso JM, Murray RM, Frackowiak RS, Friston KJ. A voxel-based method for the statistical analysis of gray and white matter density applied to schizophrenia. *Neuroimage*. 1995;2(4):244-52.

Wright IC, Ellison ZR, Sharma T, Friston KJ, Murray RM, McGuire PK. Mapping of grey matter changes in schizophrenia. *Shizophr Res*. 1999;35(1):1-14.

Wright IC, Rabe-Hesketh S, Woodruff PW, David AS, Murray RM, Bullmore ET. Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 2000;157(1):16-25.

Zald DH, Kim SW. Anatomy and function of the orbital frontal cortex, I: anatomy, neurocircuitry, and obsessive-compulsive disorder. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 1996;8(2):125-138.

Zhou SY, Suzuki M, Hagino H, Takahashi T, Kawasaki Y, Nohara S, Yamashita I, Seto H, Kurachi M. Decreased volume and increased asymmetry of the anterior limb of the internal capsule in patients with schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 2003;54(4):427-36.

Apêndice

Publicações relacionadas à tese:

1. Duran FL, Hoexter MQ, Valente AAJr., Miguel EC, Busatto GF. Association between symptom severity and internal capsule volume in obsessive-compulsive disorder. Submetido para publicação.
2. Uchida RR, Del-Ben CM, Busatto GF, Duran FL, Guimarães FS, Crippa JA, Araújo D, Santos AC, Graeff FG. Regional gray matter abnormalities in panic disorder: A voxel-based morphometry study. *Psychiatry Res.* 2008;163(1):21-9.
3. Schaufelberger MS, Duran FL, Lappin JM, Scazufca M, Amaro E Jr, Leite CC, de Castro CC, Murray RM, McGuire PK, Menezes PR, Busatto GF. Grey matter abnormalities in Brazilians with first-episode psychosis. *Br J Psychiatry Suppl.* 2007;51:117-22.
4. Duran FL, Zampieri FG, Bottino CC, Buchpiguel CA, Busatto GF.. Voxel-based investigations of regional cerebral blood flow abnormalities in Alzheimer's disease using a single-detector SPECT system. *Clinics.* 2007;62(4):377-84.
5. Chaim TM, Duran FL, Uchida RR, Périco CA, de Castro CC, Busatto GF.. Volumetric reduction of the corpus callosum in

Alzheimer's disease in vivo as assessed with voxel-based morphometry. *Psychiatry Res.* 2007;154(1):59-68.

6. Alves TC, Rays J, Fráguas R Jr, Wajngarten M, Telles RM, Duran FL, Meneghetti JC, Robilotta CC, Prando S, De Castro CC, Buchpiguel CA, Busatto GF.. Association between major depressive symptoms in heart failure and impaired regional cerebral blood flow in the medial temporal region: a study using 99m Tc-HMPAO single photon emission computerized tomography (SPECT). *Psychol Med.* 2006;36(5):597-608.
7. Valente AA Jr, Miguel EC, Castro CC, Amaro E Jr, Duran FL, Buchpiguel CA, Chitnis X, McGuire PK, Busatto GF.. Regional gray matter abnormalities in obsessive-compulsive disorder: a voxel-based morphometry study. *Biol Psychiatry.* 2005;58(6):479-87.
8. Périco CA, Skaf CR, Yamada A, Duran F, Buchpiguel CA, Castro CC, Soares JC, Busatto GF.. Relationship between regional cerebral blood flow and separate symptom clusters of major depression: a single photon emission computed tomography study using statistical parametric mapping. *Neurosci Lett.* 2005;384(3):265-70.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)